

316184

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA
DE MEXICO



FACULTAD DE CIENCIAS

Biología Reproductiva de *Opuntia bradtiana*
(Cactaceae) en Cuatro Ciénegas, Coahuila.

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:

B I O L O G A

P R E S E N T A :

LUCIA MARIA TERESA PLASENCIA LOPEZ

DIRECTORA DE TESIS:

DRA. MARIA DEL CARMEN MANDUJANO SANCHEZ



BIBLIOTECA
INSTITUTO DE ECOLOGIA
UNAM

MEXICO, D. F. 2003





Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.



DRA. MARÍA DE LOURDES ESTEVA PERALTA
Jefa de la División de Estudios Profesionales de la
Facultad de Ciencias
Presente

Comunicamos a usted que hemos revisado el trabajo escrito:
" Biología Reproductiva de *Opuntia bradtiana* (Cactaceae) en
Cuatro Ciénegas Coahuila "

realizado por Lucía María Teresa Plasencia López

con número de cuenta 9756117 - 6 , quien cubrió los créditos de la carrera de: Biología

Dicho trabajo cuenta con nuestro voto aprobatorio.

Atentamente

Director de Tesis	
Propietario	Dra. María del Carmen Mandujano Sánchez
Propietario	Dr. Luis Enrique Eguiarte Fruns
Propietario	Dr. Jordan Kyril Golubov Figueroa
Suplente	Dr. José Arturo Silva Montellano
Suplente	Biol. Mayra Adriana García Cerecedo

[Firmas manuscritas]
FACULTAD DE CIENCIAS
U. N. A. M.

Consejo Departamental de Biología

[Firma manuscrita]
M. en C. Juan Manuel Rodríguez Chávez



DEPARTAMENTO
DE BIOLOGIA

Agradecimientos

Agradezco a mis sinodales Doctores María del Carmen Mandujano S., Luis Eguiarte F., Jordan Golubov F., Arturo Silva M. y Biól. Adriana García C. por sus valiosos aportes en la revisión de esta tesis.

Quiero agradecer en primer lugar a la Dra. María del Carmen Mandujano (Meli), mil gracias por su incomparable ejemplo de gusto por la ciencia, por la entrega, por el esfuerzo, por la paciencia, por todo.

Al Dr. Jordan Golubov por su incansable y constante “¿Ya está la tesis....!Que pasó?” por el buen humor de sus atinados comentarios y su visión de organización.

Al Dr. Luis Eguiarte por sus excelentes comentarios y por preguntarse esas cosas importantes que no a todos se nos ocurren.

A la Dra. Sara Good por el apoyo en las observaciones de crecimiento de tubo polínico y al Dr. Cesar Domínguez por el préstamo del microscopio con luz ultravioleta para el mismo fin.

Quiero agradecer a mis padres María Teresa López Lara y José Octavio Plasencia Sagredo por su eterno apoyo. A mi hermano Octavio por su ejemplo y por mantener esa “biochispa” que le da sabor a la vida. A Daniel por el gran cariño y el constante apoyo en todos los aspectos durante la realización de la presente y siempre. A la familia López Luices y Nader López. A toda la familia en general.

A mis compañeros del Laboratorio de Dinámica de Poblaciones, en especial a Dolores Rosas, Manuel Rosas, Gisela Aguilar y Eduardo Rendón por su paciente y motivado apoyo en el campo, por su compañía y amistad. A Cesar, Angeles, Ruth, Rubick, Ale González, Ale García Naranjo (por sus ansias de verme titulada), Niko, Adriana, Andres, Isra, Gabriel, Vicky, Luis, a todos por permitirme momentos tan amenos durante la tesis.

A mis Amigos de la Fac. Adriana, Roberto, Erick, Diana, Carlos, Ethel y toda la banda por estar en el camino de la biología queriendo hacer ciencia. A Paco Garduño (te la debía).

A PRONATURA Coah. por darnos un rincón de paraíso en la arena junto a la poza “La Becerra” en Cuatro Ciénegas, a Don Beto por iluminarnos, al Monchis por su compañía, a Don Lencho por la plática y el cuidado. A las increíbles gorditas y carnes de Cuatro Ciénegas. A SEMARNAT, Area Natural de Protección de Flora y Fauna Cuatrociénegas por todo su valioso apoyo y préstamo de instalaciones para el trabajo de laboratorio. Agradezco también el apoyo del Programa de Becas para Tesis de Licenciatura (PROBETEL). Este trabajo fue financiado con el apoyo del proyecto CONACYT 34980-V de MC Mandujano y de PAPIIT IN205500 de M. C. Mandujano y M. Franco.

ÍNDICE

Resumen	i
Abstract	ii
I. Introducción	1
1.1 Reproducción en las plantas; sexual, asexual y clonal	1
1.2 Sistemas de cruza; entrecruza, autocruza y mixto	3
1.3 Sistemas de apareamiento; cómo se presenta la sexualidad en las plantas	5
1.4 Síndromes de polinización	8
1.5 Antecedentes en <i>Opuntia</i>	9
II. Especie y área de estudio	11
2.1 Descripción	12
2.2 Distribución	12
III. Objetivos	15
IV. Método	16
4.1 Ciclo floral	16
4.1.1 Periodo de floración y ciclo de apertura y cierre	16
4.1.2 Medidas florales y viabilidad de polen	16
4.1.3 Producción de flores en relación al tamaño de la planta.	17
4.2 Sistema de apareamiento	17
4.2.1 Separación espacial de sexos (hercogamia) y Sincronías reproductivas (dicogamia)	17
4.2.2 Relación polen/óvulo	17
4.3 Sistema de cruza	18
4.3.1 Polinizaciones controladas	18
4.4 Síndrome de polinización	19
4.4.1 Identificación de visitantes florales y su comportamiento	19
4.4.2 Frecuencia de visitantes florales	19
4.4.3 Importancia de los polinizadores en la producción de semillas	20
4.4.4 Cuantificación de néctar	20
4.5 Depresión endogámica y autoincompatibilidad	20
4.5.1 Depresión endogámica	20
4.5.2 Crecimiento de tubo polínico	21
V. Resultados	22
5.1 Ciclo floral	22
5.1.1 Periodo de floración y ciclo de apertura y cierre	22
5.1.2 Medidas florales y viabilidad de polen	22
5.1.3 Producción de flores en relación al tamaño de la planta.	24
5.2 Sistema de apareamiento	25
5.2.1 Separación espacial de sexos (hercogamia) y sincronías reproductivas (dicogamia)	25
5.2.2 Relación polen/óvulo	26
5.3 Sistema de cruza	27
5.3.1 Polinizaciones controladas	27
5.4 Síndrome de polinización	29

5.4.1	Identificación de visitantes florales y su comportamiento	29
5.4.2	Frecuencia de visitantes florales	31
5.4.3	Importancia de los polinizadores en la producción de semillas	32
5.4.4	Cuantificación de néctar	34
5.5	Autoincompatibilidad y depresión endogámica	34
5.5.1	Depresión endogámica	34
5.5.2	Crecimiento de tubo polínico	35
VI.	Discusión	36
VII.	Conclusiones	40
VIII.	Literatura citada	43
IX	Glosario	47
Anexos		48

RESUMEN

El objetivo de este trabajo fue estudiar la biología reproductiva de una cactácea clonal y endémica del Desierto Chihuahuense, *Opuntia bradtiana*, para determinar su sistema de cruce, su sistema de apareamiento mediante cocientes Polen / Ovulo e índice de entrecruza (OIC) y su síndrome de polinización. Se realizaron polinizaciones controladas, se estudiaron las conductas florales, grado de hercogamia, dicogamia, visitantes florales y su comportamiento, así como el sistema reproductivo, síndrome de polinización, atributos florales, viabilidad y germinación del polen y el grado de depresión endogámica. La biología reproductiva de la especie es similar a otras especies del género *Opuntia*, las flores son diurnas, duran un día abiertas, con un ciclo de 8hr de apertura, son hermafroditas y producen néctar ($2.3 \mu\text{l} \pm 0.5$) lo que no se ve sobrepasado por el consumo de visitantes en todo el día. Después de la antesis ($\pm 10:30\text{hr}$) el estigma de algunas flores comienza a ser aparentemente receptivo (60% de las flores) y las anteras dehiscen de 15 a 30 min después (40%), no se presenta hercogamia ni dicogamia. El 89% del polen es viable y las flores únicamente se autopolinizan cuando no ha ocurrido la entrecruza (a las 24 horas, ya con la flor cerrada). El pico de producción de néctar coincide aproximadamente con la hora de mayor actividad de los polinizadores. Los visitantes más importantes son abejas solitarias del género *Diadasia* y *Melissodes*, se presenta el síndrome de polinización de melitofilia. *Opuntia bradtiana* es xenógama facultativa ($P/O = 2490.33:1$), no requiere del polinizador para producir frutos y semillas, presenta un sistema de cruce mixto con tendencia a la entrecruza (proporción en producción de frutos por tratamiento: autocruza = 0.2, entrecruza = 0.27, control = 0.8, producción de semillas promedio por fruto formado: autocruza = 1, entrecruza = 12, control = 72) y presenta altos niveles de depresión endogámica (88% menos eficiente la autocruza que la entrecruza en producción de semillas). En especies clonales-hermafroditas, la autogamia y geitonogamia pueden ocurrir como un mecanismo que asegura la producción de algunas semillas cuando no se dio la entrecruza. Sin embargo, la depresión endogámica es un fenómeno para purgar genes deletéreos, limitando la producción de semillas homocigas y es frecuente en especies clonales-hermafroditas. Esta estrategia es un balance entre la restricción de la reproducción asexual (expansión del genet) y los beneficios de la reproducción sexual.

Abstract

The object of this research is to study the reproductive biology of a clonal endemic cactus of Mexico *Opuntia bradtiana* and to determine the mating system by means of controlled pollination experiments, its breeding system by means of pollen/ovule ratios and outcrossing index (OIC) and its pollination syndrome. In order to describe the floral biology of *O. bradtiana*, we performed controlled pollinations, identified floral visitors and their behavior, measured floral attributes, pollen viability, pollen germination and estimated inbreeding depression. The reproductive biology of *O. bradtiana* species is similar to other species of the genus *Opuntia*. The flowers are perfect, diurnal and only remain open eight hours during a single day. After anthesis ($\pm 10:30$ hr), stigmata of some flowers become receptive (60% of flowers) and anther dehiscence begins 15 to 30min later (40% of flowers). Neither herkogamy nor dichogamy were detected. Most of the pollen produced is viable (85%) and autogamy occurs only after outcrossing fails (24 hrs after anthesis). Flowers produce nectar ($2.3 \mu\text{l} \pm 0.5$) throughout the day, but the highest rate of nectar production matches the time of major pollinator activity. However nectar is not completely depleted from visited flowers. The most important visitors are solitary bees of the genus *Diadasia* and *Melissodes* suggesting a melittophilous pollination syndrome. Our results suggest that *Opuntia bradtiana* has a xenogamous facultative ($P/O = 2490.33:1$) breeding system, meaning that it does not need pollinators to set fruits and seeds. In addition a mixed mating system is present with an outcrossing tendency (seed set average: selfing = 5.12, outcrossing = 43.33, proportion of fruit set: selfing = 0.2, outcrossing = 0.27), as well as high levels of inbreeding depression (0.88 in seed set). In hermaphrodite-clonal species, the presence of autogamy (and geitonogamy) is a mechanism that ensures reproduction (fruit and seed set) when outcrossing is not possible. The high values of inbreeding depression frequently found in hermaphroditic-clonal species serve as a means of purging deleterious genes, limit homozygosity, and promote outcrossing. The balance between asexual reproduction (genet expansion) and sexual reproduction is expressed in the reproductive biology of the species as autogamy is maintained with relatively high values of inbreeding depression that promotes higher outcrossing rates.

I. Introducción

1.1 Reproducción en las plantas: sexual, asexual y clonal

La reproducción es una de las funciones más importantes para los seres vivos ya que les permite dejar descendencia que pueda sobrevivir en condiciones futuras. En general se reconocen tres tipos de reproducción; (1) Reproducción sexual, la cual se lleva a cabo por medio de la unión de gametos de distintos individuos; (2) Reproducción asexual, donde un individuo produce descendientes sin recombinarse con otros genotipos, sin fecundación, y en donde se repiten los procesos ontogenéticos desde el desarrollo embrionario y (3) Reproducción clonal, implica la producción de nuevos individuos (ramets), pero con el mismo genotipo de la planta madre (y forman un genet o clon en su conjunto); estos nuevos individuos vegetativos se forman mediante la fragmentación de la planta progenitora por diversos mecanismos: esquejes, bulbos, tallos, extensiones, rizomas, raíces o simplemente partes de la planta que se separan (Harda et al., 1997).

La reproducción sexual tiene ventajas evolutivas, ya que cumple con los principios de selección natural como es el producir variación y que ésta sea heredable con lo cual se produce un éxito diferencial en la progenie. Algunos de los procesos que mantienen estas ventajas son citados en Eguiarte et al. (1992): (1) el incremento en la velocidad para adaptarse propuesta por Müller en 1932, que dice que las especies que se reproducen sexualmente tienden a incorporar mutaciones favorables que surgen de manera independiente y a mayor velocidad que en las especies asexuales, con lo que pueden adaptarse más rápido a ambientes cambiantes; (2) el engranaje de Müller de 1964 que sostiene que en un ambiente uniforme, la reproducción sexual da ventajas porque permite eliminar las mutaciones desfavorables que se producen todo el tiempo. Los organismos con reproducción sexual pueden producir progenie recombinante todo el tiempo, libre de tales mutaciones, pero las especies con reproducción asexual con tamaño poblacional limitado (finito) van acumulando mutaciones desfavorables provocando que la adecuación de la especie vaya disminuyendo con el tiempo; (3) el sexo como mecanismo de reparación (Berstein et al., 1988), indica que el sexo es producto indirecto de mecanismos para reparar el ADN. Los organismos sin sexo presentarían más daño en su ADN que los sexuales; (4) ventajas en ambientes espacialmente heterogéneos (Bell, 1982), sugiere que la reproducción sexual incrementa la variación en la progenie y permite combinaciones que pueden funcionar en distintas condiciones ambientales; (5) ventajas en ambientes temporalmente heterogéneos

(Williams, 1975) donde el sexo da mayores ventajas entre más impredecibles sean las condiciones ambientales en la siguiente generación; y (6) la idea del huevo limpio de Richards (Richards, 1986), que explica que mediante la reproducción sexual se evita la transmisión de patógenos a la progenie nueva, lo que no sucedería si hubiera reproducción clonal (Eguiarte et al., 1992). Todas estas ventajas que alimentan la hipótesis de evolución del sexo son excelentes para ambientes cambiantes, pero la vía sexual puede tener desventajas en ambientes estables ya que implica que los gametos requieren de adaptaciones para la fertilización, la producción de estructuras accesorias como los pétalos y el néctar (Del Castillo, 1999), la producción de machos, el romper combinaciones óptimas de genes que pueden funcionar exitosamente en ciertas circunstancias ambientales, y que se requiera de vectores polinizadores para dejar descendencia (Eguiarte et al., 1992).

Por otro lado, la reproducción asexual (en general, incluyendo la reproducción vegetativa) es relativamente poco costosa, porque no se necesita de accesorios para atraer a los polinizadores como son: la producción de néctar, flores, aromas y polen para poder formar semillas, se puede mantener a los genotipos eficientes que han sido exitosos en el medio ambiente hasta el momento (Eguiarte et al., 1992), no hay gasto en la producción de machos, la depresión por endogamia afecta menos a la descendencia que en poblaciones que realizan reproducción sexual ya que asexualmente se presenta más eficientemente el fenómeno de purga de alelos recesivos deletéreos (Charlesworth y Charlesworth, 1987). Principalmente, la reproducción sexual tiene un costo energético que no presenta la asexual, sin embargo una de las desventajas de la reproducción asexual es que las plantas pueden tener una dispersión muy pobre, limitación que no ocurre con la producción de semillas asexuales. La apomixis es un proceso que no requiere de la fecundación, ya que se producen semillas $2n$ de tejido esporofítico de la planta madre. Este sistema facilita la dispersión de la planta madre pero no produce nuevos individuos genéticos en la población (Pimienta-Barrios y Del Castillo, 2002). Además, la reproducción clonal, puede llevarse a cabo por varios procesos como la producción de estructuras a partir de flores o frutos abortados por la planta madre (e.g., Bulbilos en *Agave macrocartha*, Arizaga y Ezcurra, 1995; Frutos vacíos en *Opuntia microdasys*, Palleiro, 2001) o por el crecimiento y posterior fragmentación de la planta progenitora produciendo arreglos lineales o distribuciones agrupadas de ramets (Silvertown y Lovett, 1993; Tiffney y Niklas, 1985; Mandujano et al., 2001).

Silvertown y Lovett (1993) han sugerido los siguientes beneficios del crecimiento clonal: a) rápido crecimiento en el tamaño poblacional aumentando después el potencial de supervivencia y reproducción; b) la posibilidad de movimiento, lo que significa que medios ambientes desfavorables pueden ser abandonados por otros mejores; c) el espacio puede ser ocupado y los recursos capturados;

d) los ramets presentan menor mortalidad que las plantas jóvenes de semilla; e) los competidores pueden ser invadidos y desplazados; y f) la reproducción clonal (vegetativa) no invierte en sexo. Aunque a corto plazo y si el medio ambiente se mantiene estable la clonación proporciona grandes beneficios, la creación de muchos individuos genéticamente iguales (ramets) que permanecen relativamente cerca de la planta progenitora puede tener efectos negativos sobre el sistema de cruce. En contraparte, un efecto negativo consiste en que las poblaciones clonales quedan vulnerables a la depresión por endogamia, la cual puede afectarlas en distintos grados según el tipo de sistema reproductivo que estén realizando los individuos. Se sugiere que si la población presenta autocruza se purgan (eliminan) los alelos deletéreos, es decir, que cuando hay autocruzas es más probable que dos alelos infuncionales queden juntos al combinarse y resulten en la eliminación de la función del gen que tenga efectos en el desarrollo del embrión y/o la semilla, entonces se esperan niveles más bajos de depresión por endogamia, es decir, que la depresión endogámica es menos severa en poblaciones autóгамas que en xenógamas (Charlesworth y Charlesworth, 1987; Barrett y Harder, 1996). Si las mutaciones son medianamente deletéreas son igualmente difíciles de purgar; así la depresión endogámica puede existir aún en poblaciones autóгамas, aunque es muy raro (Lande y Schemske, 1985). Si en la población se realizan cruza mixtas la depresión por endogamia se incrementa porque las mutaciones homocigas deletéreas no se purgan tan eficientemente como en las poblaciones autóгамas, ya que estas mutaciones se enmascaran en los heterocigos (Muirhead y Lande, 1997). Una forma de medir la depresión por endogamia es la disminución en la producción de semillas (Charlesworth y Charlesworth, 1987; Muirhead y Lande, 1997) y en la reducción de biomasa de la progenie. En otras palabras, el mantenimiento de la heterocigosis y la evasión de la depresión por endogamia puede ser una ventaja a corto plazo de la entrecruza en muchas plantas (Schemske, 1983). Es claro que las ventajas y desventajas de los distintos tipos de reproducción van a tener un efecto sobre la evolución de los individuos en el corto o largo plazo. La frecuencia y tipo de las distintas formas de reproducción que se estén llevando a cabo en una población pueden variar la calidad genética de la descendencia y así modificar los resultados en su éxito demográfico (Mandujano et al., 2001).

1.2 Sistemas de cruce: entrecruza, autocruza y mixto

Los sistemas de cruce determinan el modo de la transmisión de genes a la próxima generación. Para esto las plantas exhiben una gran variedad de sistemas de apareamiento (Brown, 1990), con los cuales

regulan la composición genética que pasa a la siguiente generación, la cual finalmente será importante para la futura sobrevivencia en ambientes estables o cambiantes en donde se establece la población.

Diversas investigaciones han intentado determinar si entre los sistemas de cruce existe un orden en el tiempo, es decir, si uno dio origen a otro, si hay una evolución en estos sistemas, y hacia dónde se dirige (Wyatt, 1983). Para entender esta secuencia se pone especial atención en las ventajas y desventajas a corto y a largo plazo de cada uno, principalmente en los efectos que pueda tener la depresión endogámica, la diversidad genética que cada sistema genera (Charlesworth y Charlesworth, 1987; Jain, 1976) y los mecanismos que existen de manera natural para evitar o facilitar a uno u a otro (Wyatt, 1983). Hay autores que predicen que una población puede permanecer estable si se reproduce predominantemente por autocruza o por entrecruza (Lande y Schemske, 1985), aunque esto solo se ha probado con algunas especies y no se puede tomar como una generalización (Barrett y Harder, 1996). En las angiospermas se pueden presentar 3 tipos en los sistemas de cruce dentro de la reproducción sexual: entrecruza, autocruza o ambos (mixto).

La entrecruza en muchas plantas, parece haber evolucionado a partir de la autocruza y para evitar sus desventajas, resultando en mayor variabilidad genética y sobrevivencia a largo plazo. Esto funciona porque el polen de distintas flores puede llegar a estigmas de otros individuos con la ayuda de vectores polinizadores, y no se presenta autocruza ya que existe autoincompatibilidad o una elevada depresión por endogamia. Mediante la autoincompatibilidad se puede promover la entrecruza (Wyatt, 1983), ya que este es un mecanismo de control genético que previene la autofertilización en las plantas hermafroditas cuando se autocruzan o cruzan con otra planta con un alelo de autoincompatibilidad "S" semejante al suyo (De Nettancourt, 1977; Hedrick, 1983; Richards, 1997). Al menos 16 familias de angiospermas presentan incompatibilidad gametofítica; 3 de ellas están controladas por más de 2 locus y 7 familias de angiospermas presentan incompatibilidad esporofítica (Charlesworth y Charlesworth, 1987).

La autocruza se presenta principalmente en plantas autocompatibles, además de ser la forma más rápida de fijar genes recesivos favorables, tiende a purgar de manera muy eficiente los genes deletéreos (Lloyd y Barrett, 1996; Schemske, 1983). Las plantas que ya han gastado energía en la producción de flores para cruzarse y que por alguna razón no pueden entrecruzarse, ya sea por escasez de otros genotipos o por falta o ineficiencia de polinizadores, mediante la autocruza garantizan un poco de su inversión, pero se sugiere que a largo plazo tienden a llevar a la población a la ausencia de diversidad genética y la futura estabilidad y sobrevivencia de la población en ambientes cambiantes será menor. En la autogamia, una forma de autocruza, el polen y el estigma de las flores hermafroditas tienen

contacto de manera natural o con ayuda de algún vector y dependiendo del grado de autocompatibilidad de la planta, los granos de polen logran o no fecundar los óvulos y producir semillas; la geitonogamia, que también es un tipo de autocruza, donde se cruzan gametos de flores genéticamente similares, éstas pueden ser flores de la misma planta o de distintas plantas, ya que se ha reportado (Snow et al., 1996) que plantas clonales pueden promover este tipo de cruza si los ramets de un mismo individuo ocupan gran parte del área de forrajeo de sus polinizadores; y la cleistogamia, donde no es necesario que se abra la flor para que haya autocruza (Snow et al., 1996).

El sistema de cruza mixto implica que en la población se presentan al mismo tiempo las dos estrategias, tanto entrecruza como autocruza, con lo que se asegura la producción de progenie por cualquiera de las dos vías. Este sistema puede implicar que la depresión por endogamia sea más severa, ya que en los individuos heterocigos se pueden enmascarar los alelos deletéreos recesivos que se purgarían fácilmente si se realizara autocruza o se expresarían con mucho menos frecuencia si solo se realizara entrecruza. El sistema de cruza mixto se encuentra en medio del continuo evolutivo que existe en los sistemas de cruza, donde las poblaciones que parten de la autocruza, pasan por el sistema de cruza mixto y finalmente terminan realizando solo entrecruza (Wyatt, 1983).

1.3 Sistemas de apareamiento: cómo se presenta la sexualidad de las plantas

Los sistemas de cruzamiento tienen mecanismos para facilitar ya sea a la entrecruza o a la autocruza. A estos mecanismos se les conoce como sistemas de apareamiento, los cuales incluyen todos los aspectos de la expresión sexual en las plantas, como son la distribución y funcionamiento espacial y temporal de estructuras reproductivas, las características florales, su índice de entrecruza (OIC), su relación polen/óvulo (Cruden, 1977), y sus variantes sexuales; si hay presencia de flores hermafroditas o no, si son femeninas o masculinas, y cómo se distribuyen en la población. Todos estos factores son importantes porque afectan la contribución genética relativa a la próxima generación de individuos (Wyatt, 1983).

Las variantes sexuales, según Wyatt (1983) se pueden clasificar en tres niveles cada uno con sus respectivas expresiones sexuales (Tabla 1): flores individuales, plantas individuales, y grupos de plantas. Para que el tipo de plantas con flores hermafroditas autocompatibles y con sistemas autógamos lleguen a ser dioicas autoincompatibles (esporofítica o gametofíticamente) y con sistemas xenógamos hay una gama de varios pasos de separación temporal y/o espacial de estructuras reproductivas y distintos niveles de depresión endogámica (Wyatt, 1983). En plantas hermafroditas, el paso por la

hercogamia y/o dicogamia son necesarios para llegar a la entrecruza obligada, que junto con el mantenimiento de genes de autoincompatibilidad llevan finalmente al dioicismo.

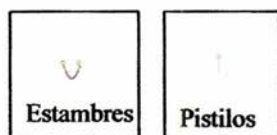
El índice de entrecruza de Cruden (OIC) y la relación polen/óvulo (P/O) surgen como una manera de aproximarse al estado de autocruza o de entrecruza que están realizando las poblaciones mediante tres características florales: 1) el diámetro de las flores, 2) la presencia de hercogamia y 3) la presencia de dicogamia en la población. Para el tamaño de las flores existen 4 parámetros; 1mm de diámetro floral = 0, 1-2mm de diámetro = 1, de 2-6mm de diámetro = 2, y más de 6mm de diámetro = 3. Para la dicogamia hay 2 parámetros; si hay homogamia o protoginia = 0, si hay protandria = 1. Para la hercogamia hay 2 parámetros; si no hay hercogamia = 0, si hay hercogamia = 1. Sumadas nos pueden dar varias combinaciones, además de la relación con el número de granos de polen que haya por cada óvulo (Tabla 2).

Cruden (1977) ha reportado que las plantas presentan una mayor cociente P/O con sistemas de cruza abiertos ($P/O = 5859.2$) que con cerrados ($P/O = 4.7$) teniendo una relación polen/óvulo para especies con sistemas mixtos de especies xenógamas ($P/O = 797$) y autógamias ($P/O = 169$).

La hercogamia consiste en la separación espacial de las estructuras femeninas y masculinas en una flor perfecta, esto se ha considerado como una manera de evitar la autopolinización. Se le llama heterostilia a la incompatibilidad esporofítica de las estructuras florales, donde existe la presencia de 2 morfos (distilia; aunque puede haber más, tristilia) de flores en la población, el "pin" que presenta el pistilo más largo que los estambres y el "thrum" que presenta los estambres más largos que el pistilo. Pérez-Nasser (1990) sugiere que en poblaciones de plantas con este sistema de apareamiento generalmente ambos morfos se presentan en proporciones iguales, lo que implica que la mitad de la población se apareó con la otra mitad, con lo que se forman gran cantidad de heterócigos. Se ha sugerido que este sistema es un posible origen del dioicismo (Ennos, 1981; Wyatt, 1983; Barrett y Shore, 1987; Pérez-Nasser, 1990; Domínguez, 1990). La dicogamia consiste en la separación temporal de las funciones masculinas y femeninas en la misma flor, si se presenta primero la maduración del polen se conoce como protandria y si madura primero el estigma se conoce como protoginia. Si esto no sucede de manera sincrónica, en algunas proporciones se puede generar fecundación cruzada (Eguiarte y Búrquez, 1987; Eguiarte, 1990).

Tabla 1. Expresión sexual en las plantas, modificado de Wyatt (1983) y Richards (1997).

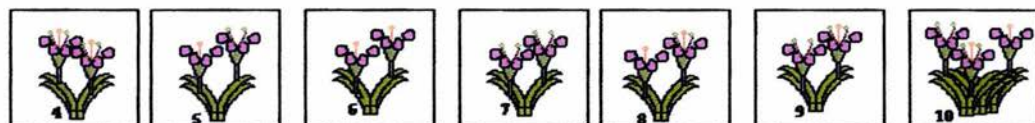
Flores individuales	Expresión sexual	% de especies
Hermafroditas	Flor con estambres y pistilo (1)	72
Estaminadas	Flor solo con estambres (2)	?
Pistiladas	Flor solo con pistilo (3)	?
Plantas individuales		?
Hermafroditas	Planta con flores hermafroditas (4)	?
Monoicas	Planta con flores estaminadas y pistiladas (5)	5
Ginoicas	Planta con flores pistiladas (6)	?
Androicas	Planta con flores estaminadas (7)	?
Ginomonocoicas	Planta con flores hermafroditas y pistiladas (8)	2.8
Andromonocoicas	Planta con flores hermafroditas y estaminadas (9)	1.7
Trimonocoicas	Planta con flores hermafroditas, pistiladas y estaminadas (10)	?
Grupos de plantas		?
Hermafroditas	Población con plantas hermafroditas (11)	?
Monoicas	Población con plantas monoicas (12)	?
Dioicas	Población con plantas ginoicas y androicas (13)	4
Ginodioicas	Población con plantas hermafroditas y ginoicas (14)	7
Androdioicas	Población con plantas hermafroditas y androicas (15)	<1



Flores individuales



Plantas individuales



Grupos de plantas

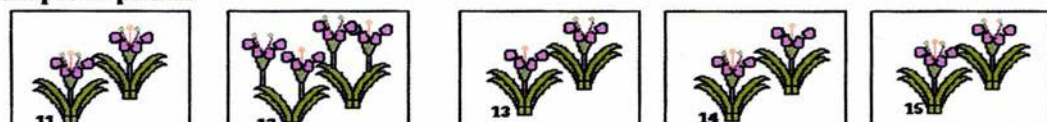


Tabla 2. Sistemas de apareamiento y relación polen/óvulo (Cruden, 1977).

OIC	Sistema de apareamiento	P/O (medias)
0	Cleistógamo	4.7 : 1
1	Autógamo obligado	27.7 : 1
2	Autógamo facultativo	168.5 : 1
3	Xenógamo facultativo	796.6 : 1
4	Xenógamo	5859.2 : 1

1.4 Síndromes de polinización

La biología reproductiva de algunas plantas está basada en el movimiento de polen llevado a cabo por distintos vectores, este movimiento depende del tipo de planta y de flor así como de sus distribuciones en una área, ligeros desplazamientos temporales en la floración o espaciales en distribución pueden producir cambios drásticos en la fauna de polinizadores acompañantes y en el flujo génico entre poblaciones (Ehrlich y Raven; 1969; Mosquin, 1971; Búrquez y Sarukhán, 1980). La polinización puede llevarse a cabo por la acción de aves, mamíferos, insectos o por el viento. Se ha presentado una gran variedad de relaciones planta-polinizador, es decir, modificaciones anatómicas en plantas las cuales se deben a adaptaciones florales que surgen como una forma de selección hacia un tipo de polinizador específico. A estas adaptaciones se les ha conocido con el nombre de síndromes de polinización (Linsley y MacSwain, 1957; Búrquez y Sarukhán, 1980; Wyatt, 1983; Tabla 3). Las plantas que son polinizadas por vectores bióticos se preparan para atraer a estos vectores polinizadores, ya que producen néctar y polen, recompensas que son muy eficientes en la atracción de polinizadores que permitan cruza muy exitosas en todas las angiospermas. Existen otras recompensas como los exudados estigmáticos, aceites, atrayentes sexuales, resinas y gomas, tejidos alimenticios y lugares de anidamiento que solo son utilizadas por algunos visitantes (Simpson y Neff, 1983).

Por ejemplo la melitofilia es un síndrome en el que las abejas son los principales polinizadores: Las abejas se pueden diferenciar a grandes rasgos como generalistas u oligoléticas, las especies oligoléticas tiene una relación planta-insecto mutuamente dependiente, donde ambas partes ganan, y mientras se mantenga esta relación, ambas auto-aseguran su futuro (Lloyd y Barrett, 1996). Las características de las flores que presentan melitofilia incluyen la anthesis diurna, coloración amarilla, flores productoras de néctar, polen y aroma (Tabla 3). Se ha encontrado que este es el síndrome de polinización más común en la familia Cactaceae (Anderson, 2001; Pimienta-Barrios y Del Castillo, 2002; Clark-Tapia, manuscrito). En particular, las abejas son los principales visitantes de *Opuntia* (Grant y Grant, 1979; Grant et al., 1979; Del Castillo y González-Espinosa, 1988; McFarland et al., 1989; Mandujano et al., 1996; Del Castillo, 1999) y este grupo se presenta con mayor abundancia,

diversidad de especies y probablemente de géneros, no en los trópicos como la mayoría de los animales sino en temperaturas elevadas y zonas xéricas del mundo, especialmente en la cuenca del Mediterráneo, la región de California y áreas desérticas contiguas, presentando éstas últimas altos niveles de especies de abejas oligolécticas (Linsley, 1958; Michener, 1974; Michener, 1979).

1.5 Antecedentes en *Opuntia*

Ciclo floral

En el género *Opuntia* se ha descrito que las flores son diurnas, la mayoría de las flores abren tarde en la mañana, aunque algunas abren en la tarde y al siguiente día (Pimienta-Barrios, 1990; Pimienta-Barrios y del Castillo, 2002). También está reportado que especies silvestres abren por la mañana y duran solo un día, excepcionalmente dos (Trujillo-Argueta y González-Espinosa, 1991; Mandujano et al., 1996; Obs. Pers. en *Opuntia tomentosa* en el pedregal de San Angel) y su periodo de floración es generalmente en primavera-verano (Grant y Grant, 1979; Grant et al., 1979; McFarland et al., 1989; Mandujano et al., 1996; Del Castillo, 1999).

Sistema de cruce

La presencia de ambos sexos funcionales en una sola flor y la autocompatibilidad, que no parece ser rara, sugieren que la morfología floral típica de las plantas del género *Opuntia* permite tanto la autofecundación como la fecundación cruzada, a lo que se le conoce con el nombre de sistema de cruce mixto. Este sistema de cruce parece ser la condición ancestral y más común en el presente, aunque algunas especies evolucionarán hacia sistemas predominantemente exogámicos y otras hacia la autogamia (Del Castillo, 1999).

El sistema de cruce puede ser afectado por la clonación, esta relación entre el tipo de reproducción y el sistema de cruce se ha investigado poco pero se ha demostrado el efecto de la geitonogamia sobre las poblaciones (ej. *Myosotis colensoi*; Snow et al., 1996). La geitonogamia es un tipo de autocruce entre flores dentro de un mismo genotipo, ya sea dentro del mismo individuo u otros clones. En plantas clonales la geitonogamia se genera cuando los polinizadores hacen visitas consecutivas a diferentes individuos pero del mismo genet. La geitonogamia esto generalmente produce un decremento en la generación de flores y frutos, escasa o nula producción de semillas viables, formación de embriones a partir de nucela (apomixis) y tallos y raíces adventicias a partir de areolas (Del Castillo, 1999), además de que especialmente en plantas clonales se presentan altos niveles de depresión endogámica que podría representar una disminución en la producción y calidad de la progenie (Mandujano et al., 1996; Muirhead y Lande, 1997).

Tabla 3. Síndromes de polinización en plantas. (Modificado de Wyatt 1983 ; Pimienta-Barrios y Del Castillo 2002; Cruden et al., 1983; Clark-Tapia, manuscrito).

Síndrome	Polinizador	Antesis	Color de flor	Aromas	Forma de las flores	Profundidad floral	Guías al néctar	Recompensas (concentración de néctar)	% de polinización en Cactác
Melittophilia	Abejas	Día y noche o diurna	Variable pero no rojo puro	Presente, usualmente dulce	Actinomórfica o zigomórfica	Ninguna a moderada	Presentes	Néctar y polen; expuesto u oculto [34.9 ± 2.8%] 2.51 µl.	46% Subfa Pereskioideae y Opuntioideae 41% subfa Cactoideae
Sphingophilia	Esfingidos	Nocturna o crepuscular	Blanco o de plateado verde	Fuerte, usualmente dulce	Actinomórfica horizontal o pendiente	Profunda, tubo angosto	Ausentes	Néctar oculto [21.3 ± 1.1%].	18% en Cactoideae
Ornitophilia	Aves	Diurna	Rojo brillante	Ninguno	Actinomórfica o zigomórfica	Profunda, tubo angosto	Ausentes	Néctar oculto [23.8 ± 2.2%] 9.7 µl.	11% en Cactoideae
Chiropterophilia	Murciélagos	Nocturna	Blanco opaco o verde	Fuerte, fermentado	Actinomórfica o zigomórfica	Tazón piloso	Ausentes	Néctar expuesto	30% en Cactoideae

Síndrome de polinización

Las abejas nativas de tamaño mediano son consideradas los polinizadores más constantes y eficaces en plantas del género *Opuntia* con base en sus hábitos de vuelo y presencia de estructuras que facilitan la adherencia de polen al cuerpo, como ejemplo están abejas del género *Diadasia* (Grant y Grant, 1979; Grant et al., 1979; Del Castillo y González-Espinosa, 1988; McFarland et al., 1989; Mandujano et al., 1996; Del Castillo, 1999) que resultan importantes mediadores de su éxito reproductivo (Simpson, 1977). Las opuntias, por la conformación de sus flores, su perianto en forma de tazón y un estigma central, forman una ruta ideal para que estas abejas de tamaño mediano y grande siempre tengan contacto con el estigma, ya que en él aterrizan cargadas de polen de otras flores para después sumergirse en las anteras (Grant et al., 1979). Especies como *Opuntia rastrera* y *Opuntia imbricata* son polinizadas principalmente por abejas solitarias de los géneros *Diadasia* y *Lithurge* (McFarland et al., 1989; Mandujano et al., 1996). Dentro del Orden Hymenóptera, la subfamilia Apoidea agrupa a las abejas dentro de 11 familias y el 95% de las 20,000 especies conocidas puede considerarse como solitarias, el resto son sociales (Michener, 1974). Al menos 13 especies del género *Diadasia* de las presentes en Norte América son oligoléticas y 3 de ellas lo son al género *Opuntia*. Para las *Opuntia* se ha reportado al género *Diadasia* como principal polinizador (en especial *Diadasia rinconis*), junto con *Perdita texana* y *Lithurge gibbosus* (Linsley y MacSwain, 1957; Grant et al., 1979), es decir, que las opuntias presentan un síndrome de polinización de melitofilia. A las especies del género *Opuntia* también llegan otros tipos de visitantes como escarabajos, hormigas, avispas y colibríes (Beutelspacher, 1971; obs. pers. en *O. tomentosa* en el Pedregal de San Angel), pero frecuentemente no polinizan a la planta, sólo roban recompensas (Grant et al. 1979; Mandujano et al., 1996).

En este estudio se abordan aspectos de la biología reproductiva de una cactácea clonal y endémica de México, *Opuntia bradtiana*, para determinar su sistema de cruce, su sistema de apareamiento mediante cocientes Polen / Ovulo e índice de entrecruza (OIC) y su síndrome de polinización.

II. Especie y área de estudio

Opuntia bradtiana pertenece al género *Opuntia*, Tribu Opuntieae de la subfamilia Opuntioideae, familia Cactaceae (Bravo-Hollis, 1978). Existe controversia sobre la posición taxonómica de *O. bradtiana*; recientemente se ha propuesto reconocer el subgénero *Grusonia* (Anderson, 2001). Hay aproximadamente 160 especies de *Opuntia* las cuales se distribuyen principalmente en los desiertos de

Norte América y en México dominan a lo largo del desierto Chihuahuense (Britton y Rose, 1919-1923, Bravo-Hollis, 1978; Gibson y Nobel, 1986, Mandujano et al. 1996), aunque varias especies se pueden encontrar en toda la República (Bravo-Hollis 1978; Mandujano Revisión MEXU datos no publicados).

2.1 Descripción de la especie

Opuntia bradtiana .- Plantas bajas ramosas que forman matorrales densos e impenetrables (Fig. 1a). Tallos de cerca de 1 metro de altura, de color verde claro, de 4 a 7 cm de diámetro, con 8 a 10 costillas longitudinales, bajas y tuberculadas. Areolas distantes entre sí 1 a 2 cm, de 3 a 5 mm de diámetro, al principio con fieltro blanco. Hojas, lineares, carnosas, verdes, de 8 mm de largo, pronto caducas. Espinas 15 a 25, de color café amarillento cuando jóvenes, después blancas, aciculares, redondeadas o ligeramente aplanadas, de 1 a 3 cm de largo, sin vaina, algunas de las más largas dirigidas hacia abajo. Flores con corola rotada, de 3 a 4 cm de largo; segmentos exteriores del perianto ovados, agudos y carnosos; segmentos interiores del perianto de color amarillo claro, espatulados; filamentos de color amarillo castaño; lóbulos del estigma 8 (Fig.1b); areolas del pericarpelo con espinas suaves y amarillas, con lana blanca y con glóquidas amarillas. Fruto elipsoidal, profundamente umbilicado. Semillas con el funículo levemente marcado, de color entre blanco y gris cuando están maduras de aproximadamente 4mm de diámetro (Bravo-Hollis ,1978).

2.2 Distribución de la especie

La especie se encuentra localizada en la región de Cuatrociénegas Coahuila y es endémica de esta zona y de la calcárea del Bolsón de Mapimí, Coah. (Bravo-Hollis 1978, Pinkava, 1984; Mandujano y Golubov, 2000), aunque también se ha reportado para el Estado de Durango y Chihuahua sin precisar su localidad (Gold, 1966, 1967). En los matorrales desérticos es donde alcanzan su mayor abundancia, en particular, en el Desierto Chihuahuense y regiones adyacentes (Anthony, 1954; Rzedowski, 1991). El poblado de Cuatro Ciénegas de Carranza se localiza en el SO de Coahuila a 26°59'N, 102°02'O (Pinkava, 1984), con una precipitación media anual aproximadamente de 200 mm y una temperatura que va desde los 0°C en el invierno hasta los 44°C en el verano (Marsh, 1983). El área de estudio se localiza a los 26°45'47.8''N y a los 102°9'10.3''O, a una elevación de 861msnm (Fig.2). El valle de Cuatrociénegas tiene ambientes muy variados, ya que se presentan sierras muy altas, un valle ancho desértico, presenta playas, arroyos, túneles subterráneos, pozos artesianos y ciénegas (Pinkava, 1984). En Cuatrociénegas la vegetación se encuentra repartida en zacatón en el piso alcalino de la cuenca,

hábitats acuáticos y semi-acuáticos, dunas de yeso, zonas de transición, matorral desértico de las bajadas, chaparral, bosques de encino, bosques de pino-encino y bosques de montaña. La especie *Opuntia bradtiana* se establece particularmente en bajadas que tienen una vegetación de matorral desértico dominada por *Larrea tridentata* (DC.) Cov, *Prosopis glandulosa* var. *torreyana* (Benson) M. C. Johnson, *Acacia greggii* Gray, *Fouquieria splendens* Engelm. In Wisliz. ssp. *splendens*, *Suaeda mexicana* Standl, *S. palmeri* Standl, *S. suffruticosa* S. Wats, *Opuntia imbricata* (Haw.) DC. var. *imbricata*, *Opuntia leptocaulis* (DC), y *Jatropha dioica* Cerv. var. *graminea* McVaugh, (Pinkava, 1984; Mandujano y Golubov, 2000; Rosas y Mandujano en preparación) y compartiendo en el área de estudio con *Opuntia rufida* Engelm, *Dasylirion* sp., *O. schottii* Engelm, *Echinocereus engelmannii* (Parry) Ruempler, *Agave lechuguilla* Torr., *Ferocactus hamatacanthus* (Muehlenpfordt) Britton y Rose, *Opuntia kleiniae* (DC), *Epithelanta micromeris* Engelm, *Mammillaria gigantea* (Hildm.) Britton y Rose, *Euphorbia antisiphilitica* Zucc, y *Mammillaria pottsii* Scheer (Pinkava, 1984).

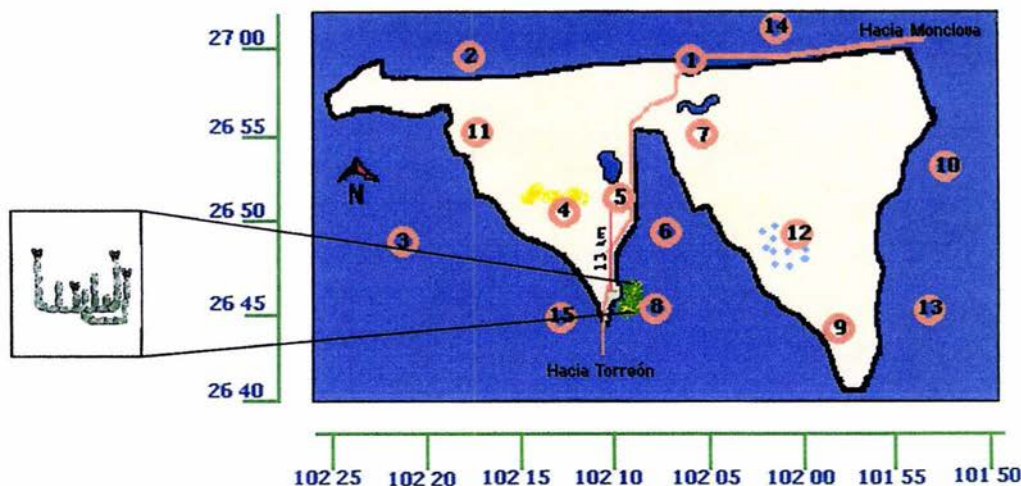
Fig. 1. a) Individuo de *Opuntia bradtiana* en floración y; b) flor de *Opuntia bradtiana* en el Área de Protección de Flora y Fauna Cuatrociénegas Coahuila, México.



a



b



Poblado de Cuatro Ciénegas (1)	Ejido Antiguos Mineros (9)
Sierra La Madera (2)	San Vicente (10)
Sierra La Fragua (3)	Ejido San Lorenzo (11)
Dunas de Yeso (4)	Pozas Azules (rancho PRONATURA) (12)
Poza La Becerra (5)	Sierra La Purísima (13)
Sierra de San Marcos y Pinos (6)	Sierra La Menchaca (14)
Poza Azul (7)	Ejido San Marcos (15)
Área de estudio (8)	

Fig. 2. Area Natural de Protección de Flora y Fauna de Cuatrociénegas Coahuila, México.

III. Objetivos

3.1 Objetivo General:

Determinar el ciclo floral, sistema de apareamiento, sistema de cruce y síndrome de polinización de *Opuntia bradtiana*.

3.2 Objetivos Particulares:

1) Ciclo floral.

Identificar el periodo de floración y describir el ciclo floral mediante la información de apertura y cierre de las flores, la producción de flores con relación al tamaño de la planta, medidas florales y viabilidad de polen.

2) Sistema de apareamiento de *Opuntia bradtiana*.

Determinar el sistema de apareamiento utilizando la relación polen óvulos; Identificar si se presenta hercogamia y si se presentan sincronías reproductivas (dicogamia).

3) Sistema de cruce de *O. bradtiana*.

Realizar polinizaciones controladas para determinar el sistema de cruce.

4) Síndrome de polinización.

Identificar los visitantes florales y su comportamiento, medir la frecuencia de visitas a las flores; cuantificar la importancia de los polinizadores en la producción de semillas y realizar la cuantificación de la presencia y producción de néctar.

5) Autoincompatibilidad y depresión por endogamia.

Estimar la depresión endogámica y si hay autoincompatibilidad mediante el análisis del crecimiento de tubo polínico.

IV. Método

4.1 Ciclo floral

4.1.1 Periodo de floración y ciclo de apertura y cierre

El periodo de floración se identificó con la revisión de ejemplares de *Opuntia bradtiana* del Herbario Nacional de México (MEXU), Instituto de Biología, UNAM y con 4 salidas de campo al Área de Protección de Flora y Fauna Cuatrociénegas, de las cuales la primera fue a finales de marzo y principios de abril del 2000, la segunda durante el mes de octubre del 2000, la tercera en el mes de junio del 2001 y la última se realizó en octubre del 2001.

Se tomó una muestra al azar de 40 plantas distintas de la población de las cuales se seleccionó una flor de cada una de manera aleatoria y con un vernier se midió el diámetro de la corola de cada flor a 6 diferentes horas del día, desde las 8:30hr cuando los botones aún no abren hasta las 20:30hr cuando los botones ya están cerrados, las mediciones se hicieron a intervalos de 2 horas, se calculó la media, el error estándar, máximo y mínimo de los datos.

4.1.2 Medidas florales y viabilidad de polen (Anexo 1).

A partir de una muestra al azar de 38 plantas distintas de la población de *O. bradtiana* se seleccionó de manera aleatoria una flor de cada planta, a cada flor con un vernier se le midió en el momento de la apertura total de la flor (entre 12:30 y 14:30hr) el ancho y el alto del pericarpelo, el ancho y el alto del perianto, la longitud de estambres y la longitud de pistilo. Se calculó la media, el error estándar, máximo y mínimo de los datos.

La viabilidad de polen se estimó en una muestra tomada al azar de 15 plantas distintas de la población focal de *O. bradtiana*. De manera aleatoria se seleccionó una flor de cada planta y en el momento de la anthesis se tomó una muestra de una antera de cada una de las flores. Las 15 anteras que se colectaron antes de que abrieran y liberaran el polen, se colocaron en microtubos (1.5 µl) cada una por separado y posteriormente en el laboratorio, durante el mismo día de colecta, se le extrajo el polen a cada una. De cada antera se separó ¼ de antera, el cual se colocó en una caja petri y se le agregó una gota de agua y otra de colorante de lactofenol con azul de anilina (Kearns y Inouye, 1993, Anexo1), se dejó teñir durante un minuto, posteriormente se observó con un microscopio estereoscópico la muestra de polen, el protoplasma del polen viable se tiñe de azul oscuro y el polen no viable se tiñe de azul claro. Con los datos se obtuvo la cantidad de granos de polen viables respecto los no viables de cada antera (planta). Los datos se analizaron con un ANOVA comparando la cantidad de granos de polen

viales contra los no viables, transformando los conteos a su raíz cuadrada (Zar, 1996); para el análisis se uso JMP ver. 3.2.1. (SAS Institute, 1995).

4.1.3 Producción de flores con relación al tamaño de la planta

Para determinar si existe una relación entre el tamaño de las plantas y su esfuerzo reproductivo se tomó una muestra al azar de 40 plantas distintas y se le contó a cada una la cantidad de artículos verdes, artículos lignificados, frutos, botones y flores en ese momento. Con los datos se hizo un análisis de regresión lineal con el paquete estadístico JMP versión 3.2.1 (SAS Institute, 1995).

4.2 Sistema de apareamiento

Para conocer el estado de autocruza o de entrecruza que está realizando la población se utilizó el índice de Cruden (1977) que consiste en la cuantificación de polen y óvulos y en la medición del estado de hercogamia y de dicogamia.

4.2.1 Separación espacial de sexos (hercogamia) y sincronías reproductivas (dicogamia)

Para determinar si existe hercogamia en la población con los datos de longitud de estigma y longitud de estambres obtenidos en el apartado de medidas florales se hizo un análisis de dispersión que compara pares de valores y obtuvimos el estado de separación de los sexos en la población. Para el análisis se utilizó el programa JMP ver. 3.2.1. (SAS Institute, 1995).

La estimación de dicogamia se realizó a partir de una muestra tomada al azar de 40 plantas distintas de las cuales se seleccionó de manera aleatoria una flor de cada una. A cada flor se le midió desde las 8:30hr hasta las 20:30hr a intervalos de 2hr la aparente receptividad del estigma (textura húmeda y viscosa sin polen en el estigma) y la dehiscencia de las anteras (sutura de sacos de las anteras reventadas). Se obtuvieron porcentajes de los datos.

4.2.2 Relación polen / óvulo (P/O)

Para esimar la relación polen/óvulo se tomó una muestra al azar de 32 plantas distintas, de las cuales se seleccionó de manera aleatoria una flor de cada una. Las flores fueron divididas a la mitad con una navaja a la altura del ovario y se contó el número de óvulos de una mitad y se multiplico por dos. El número de anteras por flor se calculó cortando cada flor en 4 partes iguales y contando las anteras de $\frac{1}{4}$ de flor y multiplicándolo por cuatro. Se cuantificaron los granos de polen formados por estas 32 flores tomando una antera aún cerrada de cada flor. Los granos de polen de la antera se colocaron todos en 1ml de alcohol, se homogeneizaron con agitación manual y se tomó una alícuota de 10 μ l de solución la cual se colocó en una cámara de Neubauer para la cuantificación, después se hizo la relación de polen en 10 μ l y de polen en 1000 μ l y se multiplicó por el número de anteras correspondiente a cada flor. De

esta manera se obtuvo la relación P/O de cada flor, es decir, cuántos granos de polen corresponden a un óvulo en cada flor. Finalmente, para conocer el índice de entrecruza se promedió la relación polen/óvulos, el diámetro floral, el grado de hercogamia y el grado de dicogamia.

4.3 Sistema de cruza

4.3.1 Polinizaciones controladas

Los experimentos de polinización controlada para determinar el sistema de cruza de *O. bradtiana* se hicieron en una muestra seleccionada al azar de 40 plantas distintas. En cada planta se seleccionaron de manera aleatoria 7 flores, una para cada uno de los 7 tratamientos: apomixis, autogamia automática, autogamia manual, geitonogamia, entrecruza, polen extra y control (Tabla 4). Al terminar el tratamiento, cada flor se etiquetó identificando el tratamiento al cual fue sujeta. Los frutos se colectaron 4 meses después y se contabilizó la presencia de fruto así como el número de semillas que se encontraba en cada uno. Para determinar el éxito en la fructificación (fruit set) se ajustó un modelo log-lineal para proporciones con distribución del error tipo binomial. Las diferencias entre tratamientos se analizaron con pruebas de *t* - contrastes. Los datos del número de semillas por fruto se analizaron ajustando un modelo log-lineal con una distribución del error de tipo Poisson. Para encontrar diferencias entre tratamientos se realizaron pruebas de *t* - contrastes. Todos los análisis se realizaron con el paquete estadístico GLIM (Crawley, 1993).



Tabla 4. Tratamientos aplicados a flores recién abiertas de *Opuntia bradtiana* en Cuatro Ciénegas Coahuila. Se muestra el nombre del tratamiento así como el método empleado. (Anexo 2).

Símbolo	Tratamiento	Flor
T	Geitonogamia	Emasculación y aplicación de polen de otra flor de la misma planta, finalmente se embolsó y etiquetó la flor.
G	Autocruza natural	Se embolsó y etiquetó el botón floral y se dejó que de manera automática pueda ser autopolinizado.
A	Autocruza manual	Se embolsó el botón en preantesis. Cuando la flor abrió, con un pincel se aplicó polen de la misma flor a su propio estigma. Se embolsó y etiquetó la flor.
X	Entrecruza	Se preparó una mezcla de polen de por lo menos 10 flores de plantas distintas que no pertenecieran a las plantas muestreadas. Cuando la flor abrió se emasculó con tijeras y se le colocó etanol al 50% aplicadondolo con un pincel en la región de los segmentos internos de perianto para esterilizar el polen adherido, después con otro pincel se agregó la mezcla de polen colectado. Se embolsó y etiquetó la flor.
P	Apomixis	En el momento en que estaba abriendo la flor se colocó un popote en el pistilo para aislarlo y se emasculó. Se embolsó y etiquetó la flor.
C	Control	Se dejó una flor de manera natural al contacto con los visitantes. Se embolsó y etiquetó la flor al final del día ya que había cerrado.
E	Polen Extra	En el momento de la antesis se aplicó un extra de la mezcla de polen, la flor se quedó descubierta de manera natural al contacto de visitantes florales. Se embolsó y etiquetó la flor.

4.4 Síndrome de polinización

4.4.1 Identificación de visitantes florales y su comportamiento

En tubos de vidrio con sales de cianuro se colectaron a los ejemplares de abejas que visitaban las flores de *O. bradtiana*, en el área de estudio, anotando la fecha, hora y posición geográfica donde fueron colectados. Al finalizar el día los ejemplares fueron montados y acomodados en caja con alfileres (No. 1 y 2) para posteriormente ser identificados en el laboratorio (Michener, 1974; Manual de recolección, 1990). Los Hymenoptera fueron determinados con las claves de Michener, et al., 1994, con la cooperación del M. en C. Ismael Hinojosa y la M. en C. Olivia Yañez Ordoñez del Museo de Zoología de la Facultad de Ciencias, UNAM.

4.4.2 Frecuencia de visitantes florales

Para determinar la frecuencia y tipo de los visitantes florales de *Opuntia bradtiana* se tomó una muestra al azar distribuida en 4 zonas distintas de plantas cercanas entre sí, de los cuales se seleccionaron de manera aleatoria 10 flores de cada zona de plantas y se observó durante un solo día de las 10:30hrs a las 18:30hrs en intervalos de 2 horas de 20min de duración cada intervalo a los visitantes

que llegaban a cada una de las flores, el número de visitas a cada flor y el comportamiento del visitante durante su estancia en la flor, en total se realizó un periodo total de observación de 6 horas y media. Se calcularon proporciones de visita y también se hizo una tabla de contingencia (χ^2) y residuales ajustados para determinar si existen diferencias entre visitantes y horas a las que éstos visitan (Everitt, 1977).

4.4.3 Importancia de los polinizadores en la producción de semillas

Para estimar la eficiencia de los polinizadores en la producción de semillas en la población se tomaron las 40 flores utilizadas para frecuencia y actividad de visitantes florales y se les colocó una bolsa de tul al final del día, para posteriormente coleccionar los frutos y conocer la relación de producción de semillas respecto a número de visitas. Los datos se analizaron con regresión no paramétrica (Zar, 1996) con el paquete estadístico JMP versión 3.2.1. (SAS Institute, 1995).

4.4.4 Cuantificación de néctar

La cuantificación de néctar acumulado se realizó en un solo día, utilizando 70 flores tomadas al azar. El néctar se midió utilizando tubos capilares con capacidad de 5 microlitros, los cuales se insertaron en la cámara nectarial. Para poder evaluar el efecto de los visitantes florales sobre el néctar, la mitad de las flores fueron cubiertas con tela de tul para evitar visitantes florales y las otras 35 flores se mantuvieron descubiertas. Para evitar medidas repetidas y la posible no-dependencia de cada muestra, cada flor fue utilizada una sola vez (Mandujano, 1996). La cantidad de néctar por flor se cuantificó en 7 flores de cada grupo desde las 10:30hrs a intervalos de 2 horas hasta las 20:30hrs. Se calcularon la media, error estándar, máximo y mínimo por cada intervalo de tiempo; para flores embolsadas y para flores descubiertas.

4.5 Depresión endogámica y autoincompatibilidad

4.5.1 Depresión endogámica

La estimación de la depresión endogámica se realizó calculando la adecuación relativa de la progenie, utilizando para ello los resultados de producción de frutos y producción de semillas por fruto formado de los tratamientos de entrecruza y autocruza manual del experimento de polinizaciones controladas. La adecuación relativa es un cociente entre el promedio del éxito de la progenie de autocruza (A) y el promedio del éxito de la progenie de entrecruza (X) (Charlesworth y Charlesworth, 1987; Mandujano et al., 1996):

$$\text{Adecuación relativa} = A/X$$

La depresión endogámica se estimó de la siguiente manera (Charlesworth y Charlesworth, 1987; Muirhead y Lande, 1997).

$$\delta = 1 - [\hat{\omega}_s / \hat{\omega}_o]$$

Donde δ es la depresión endogámica, $\hat{\omega}_s = A$, $\hat{\omega}_o = X$.

Interpretando el resultado de la depresión endogámica tenemos una escala que va de 0 a 1, donde los valores más cercanos a 0 indican menor depresión por endogamia, ya que explican que se está produciendo la misma o muy parecida cantidad de frutos y semillas por autocruza que por entrecruza y los valores de 1 ó cercanos a 1 indican una elevada depresión por endogamia ya que se están produciendo mucha menos cantidad de semillas o frutos por autocruza que por entrecruza.

4.5.2 Crecimiento de tubo polínico

Para determinar el crecimiento del tubo polínico se identificaron 8 flores recién abiertas. Las flores se seleccionaron al azar en 4 grupos (dos flores por grupo) y cada grupo fue sometido a uno de cuatro tratamientos: (1) Flores abiertas sin emascular con exposición a visitantes florales, de 12 horas de edad después de la antesis; (2) Flores abiertas sin emascular con exposición a visitantes de 24 horas; (3) Flores embolsadas con exclusión de polinizadores de 12 horas y (4) Flores embolsadas con exclusión de polinizadores de 24 horas. Las flores de cada grupo se colectaron al final del experimento (las horas indicadas en cada caso) y se guardaron en frascos con alcohol etílico al 70%. En el laboratorio, se limpió cada flor quedando solamente el estilo y los estigmas y se enjuagaron en agua destilada. El tejido se ablandó con solución NaOH 5X durante 24 horas como mínimo. Para teñir los tubos polínicos, a cada muestra se añadió 0.1% (p/v) de azul de anilina en 0.1 M $K_3 PO_4$ durante un mínimo de 4 horas. El colorante se eliminó y se hizo un lavado con agua destilada. Cada pistilo se montó y aplanó para su observación en microscopio. Se cuantificó la presencia o ausencia de tubos polínicos sobre el estigma o dentro del estilo bajo luz ultravioleta (Boyle, 1997; Negrón-Ortiz, 1998).

V. Resultados

5.1 Ciclo floral

5.1.1 Periodo de floración y apertura y cierre

En el Herbario Nacional de México (MEXU) en el Instituto de Biología de la UNAM encontramos únicamente 6 ejemplares de *Opuntia bradtiana*, de los cuales cinco fueron colectados del 23 al 26 de marzo del 2001 en el Área de protección de Cuatrociénegas y sus alrededores, en uno de ellos encontraron frutos verde-amarillos, en otro, frutos negros y secos y nada en los restantes. Solo hay un ejemplar colectado el 4 de mayo del 2001 con flor. La floración de *O. bradtiana* en el valle de Cuatro Ciénegas, de acuerdo a los datos de herbario y a las observaciones realizadas durante las salidas de campo en los meses de marzo, abril, junio y octubre inicia a principios del mes de mayo y dura hasta finales del mes de junio, encontrándose frutos con semillas maduras en el mes de octubre.

La especie *Opuntia bradtiana* presenta flores de color amarillo brillante, su ciclo floral es diurno, iniciándose la anthesis a las 10:00-10:30 ($1.6 \text{ cm} \pm 0.1$ apertura de la corola) y concluyendo a las 18:00-18:30hr. ($1.1 \text{ cm} \pm 0.1$ apertura de la corola). Las flores abren solo un día teniendo una duración de apertura de entre 7 a 8hr en total durante el día, con un máximo de apertura de la corola a las 14:30hr (3.5 ± 0.1 , Fig. 3).

5.1.2 Medidas florales y viabilidad de polen

Las medidas de las 38 flores seleccionadas muestran que las flores de *Opuntia bradtiana* tienen forma de tazón, similar al de otras flores de especies del mismo género (Tabla 5). La flor tiene un largo total de entre 4 y 5 cm. La corola es de 2.02 cm de altura y 3.5 cm de ancho (Tabla 5).

En general todas las anteras muestreadas presentan mayor cantidad de granos de polen viables que inviables, es decir, más del 85% del polen presente en cada planta es viable. Además se encontraron diferencias significativas en la proporción de polen viable e inviable en la muestra ($F = 47.4$, g.l. 1, 29, $P > 0.000$; Fig. 4).

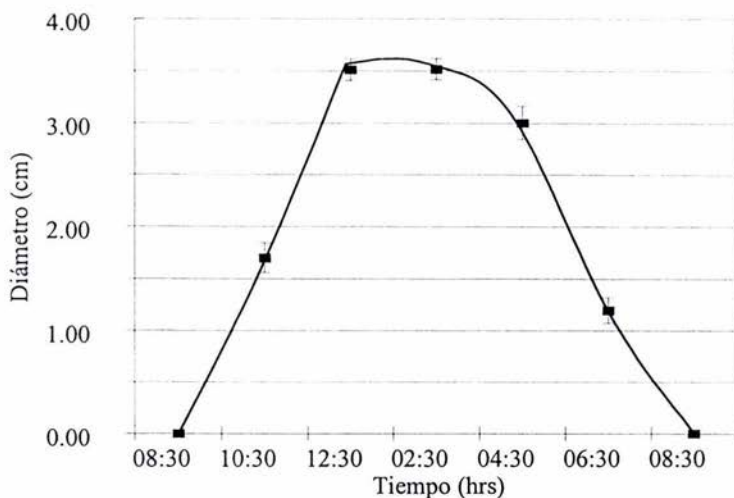


Fig. 3. Comportamiento floral de *Opuntia bradtiana* en Junio de 2001, $N = 40$ flores. La apertura floral representa el diámetro de la corola (cm) durante todo un día, media \pm e.e.

Tabla 5. Medidas florales de *Opuntia bradtiana* en Cuatro Ciénegas ($N = 38$ flores, media y e.e.).

Atributo	Tamaño
Ancho del pericarpelo	2.4cm \pm 0.06
Alto del pericarpelo	2.6 cm \pm 0.07
Ancho de la corola	3.5cm \pm 0.10
Alto de la corola	2.02cm \pm 0.8
Longitud de estambres	1.15 cm \pm 0.10
Longitud de pistilos	1.56 cm \pm 0.04

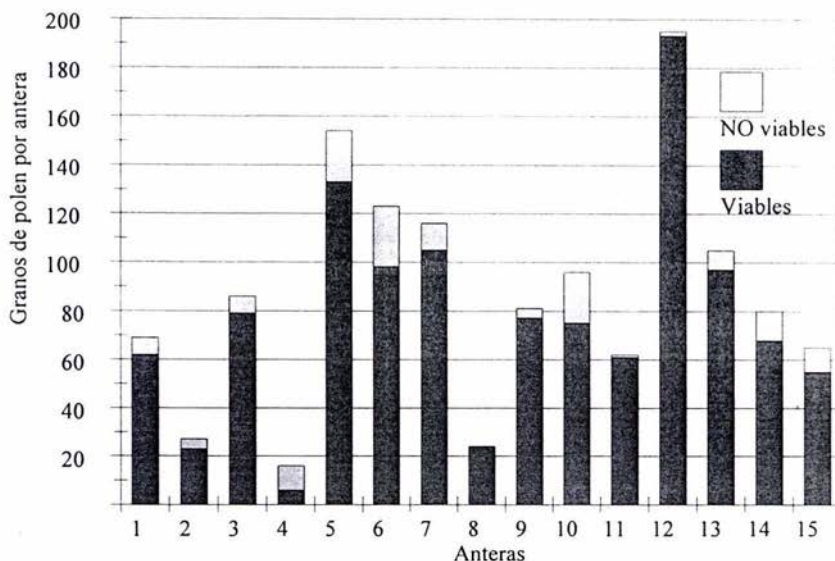


Fig. 4. Viabilidad de los granos de polen en *Opuntia bradtiana*, $N = 15$ anteras cada una de distintas plantas.

5.1.3 Producción de flores con relación al tamaño de la planta

La regresión lineal entre el número de artículos verdes por planta y la cantidad de frutos, flores y botones por planta muestra que entre mayor cantidad de artículos verdes tenga la planta mayor producción de flores presenta (Fig. 5). Existe un caso en especial donde hay una planta que parece ser relativamente pequeña de alrededor de 250 artículos y que produce gran cantidad de frutos (aprox. 450) esto puede deberse a que es una planta que presenta un virus (Zimmermann y Granata, 2002) (Fig. 5 marcado por una flecha).

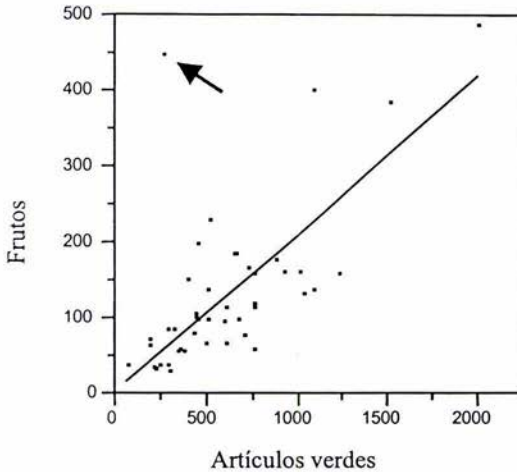


Fig. 5. Relación de la producción de botones, flores y frutos respecto a la cantidad de artículos verdes que tiene la planta, $N=40$ ($r^2 = 0.43$, $P<0.0001$).

5.2 Sistema de apareamiento

5.2.1 Separación espacial de sexos (hercogamia) y sincronías reproductivas (dicogamia)

En la muestra de las 38 flores utilizadas para medidas florales encontramos que en promedio, el estigma de las flores queda a una altura superior a las anteras (las medias y errores estándar de las alturas de pistilos y estambres se muestran en la Tabla 5, Fig. 6B). Sin embargo, el análisis de dispersión que compara pares de valores de la longitud de pistilos y estambres de esa misma muestra indica que no existe una clara separación espacial de ambos sexos, lo cual indica que *O. bradtiana* no presenta hercogamia en la población (Fig. 6).

El estigma en las flores empieza a ser aparentemente receptivo (de consistencia pegajosa) 30min después de que la flor comienza a abrir, el 60% del total de las flores muestreadas, a las 10:30hr ya se encuentra con estigmas aparentemente receptivos (Fig. 7). Las anteras comienzan la dehiscencia a la misma hora, el 47.5% de las anteras están liberando el polen a las 10:30hr, después de 2hr el total de las flores tiene el estigmas receptivo y las anteras dehiscentes, esto es a partir de las 12:30 hr (Fig. 7). Durante todo el día con las visitas de los polinizadores y otros visitantes las anteras se van quedando vacías y la superficie del estigma se va cubriendo totalmente de polen.

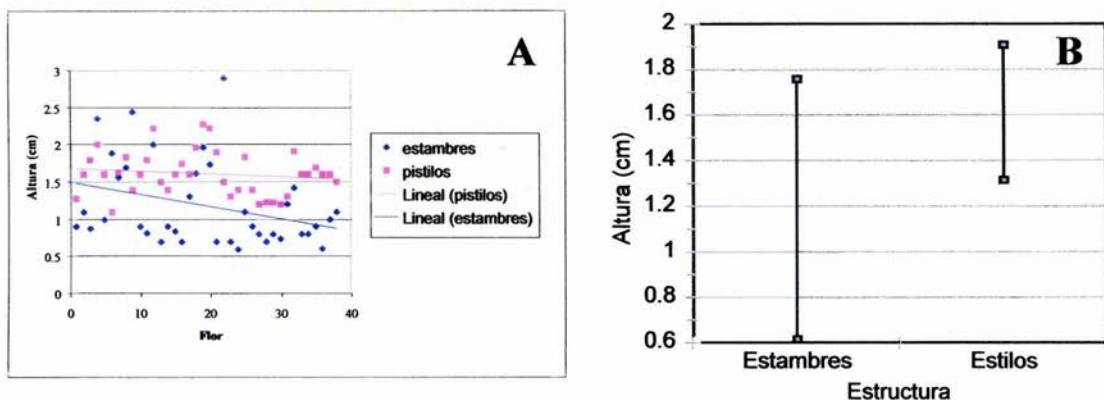


Fig. 6. Análisis de dispersión de la altura de estambres y pistilos. A) El análisis indica que no hay separación de los grupos de puntos (azules-rombo y rosas-cuadro); B) Muestra la desviación estandar de ambos grupos, como los grupos se traslapan no hay hercogamia en la muestra. $N= 38$ flores ($t = 11.1, 37g.l., P>0.8$).

5.2.2 Relación polen:óvulo

El conteo de granos de polen por antera nos mostró que existe una gran cantidad de granos de polen por óvulo en cada flor, que junto con los valores obtenidos del índice de entrecruza de Cruden (OIC) nos indica que *O. bradtiana* presenta un sistema de apareamiento correspondiente a una planta xenógama facultativa. Los valores del OIC se basan en 3 características florales; para *O. bradtiana* obtuvimos un valor final de 3 con las siguientes características; (i) debido a que el diámetro de las flores es mayor a 6mm tenemos un valor de 3 que sumado a (ii) la ausencia de hercogamia, es decir, a que no se presenta una clara separación espacial entre anteras y estigma entonces se indica un valor de cero y a que (iii) no existe separación temporal de sexos, ni protandria, ni protoginia que equivale igualmente a cero, la suma resulta finalmente en el valor total de 3 puntos en el OIC (Tabla 6).

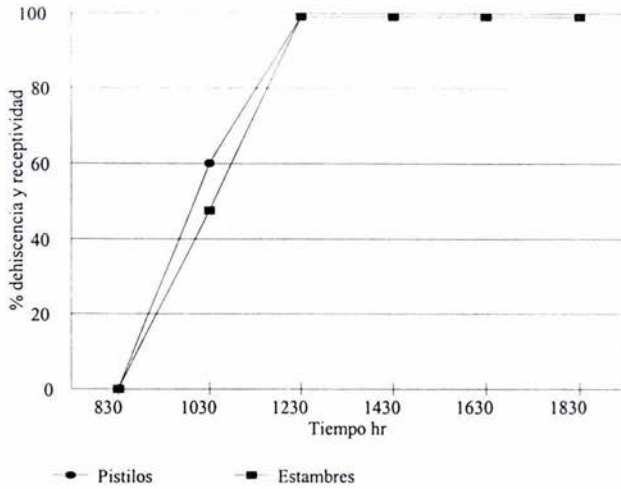


Fig. 7. Se muestra el porcentaje de anteras dehiscentes y de estigmas receptivos a lo largo del día, $N=40$ flores de plantas distintas. Se observa la ausencia de dicogamia (separación temporal de funciones sexuales).

Tabla 6. Caracterización del sistema de apareamiento mediante la relación P/O y el índice de entrecruza a partir de medidas florales.

Características del sistema de apareamiento	Media $\pm e.e$
No. de óvulos por flor	156 \pm 12
No. de anteras por flor	620 \pm 34
Promedio total de granos de polen por flor	287,023 \pm 48,760
Relación polen:óvulo	2,490 : 1 \pm 601
Índice de entrecruza (OIC)	3

5.3 Sistema de cruza

5.3.1 Polinizaciones controladas

Encontramos mediante los análisis log-lineales que existen diferencias significativas en la producción tanto de frutos como de semillas entre los diferentes tratamientos ($\chi^2 = 92.58$, 5 g. l., $P < 0.0001$; $\chi^2 = 9371$, 5g. l., $P < 0.0001$; respectivamente, Fig. 8).

La producción de frutos y semillas es mayor en las polinizaciones cruzadas (X, C, y E) que en la autofertilización (P, A, G, y T). Es decir, que por la vía de entrecruza se produce significativamente más progenie que por la vía de autocruza (Fig. 8, Tabla 7). Por ejemplo, las pruebas de t - de los contrastes mostraron en el caso de semillas por fruto formado que hay diferencias significativas entre los tratamientos de autocruza ($\bar{x} = 1.07 \pm 0.4$) y entrecruza ($\bar{x} = 12.55 \pm 4.7$, $t = 15.0830$, 78 g. l.,

$P < 0.0001$, Fig. 8, Tabla 7). Los frutos que se producen por la vía de autocruza producen en proporción mucho menos cantidad de semillas, es decir, se producen menos semillas por fruto formado. Para el caso de frutos formados por tratamiento las pruebas de t -contrastes mostraron que hay diferencias significativas entre los tratamientos de autocruza y control ($t = 4.3$, 78 g. l., $P = 0.001$, Tabla 7) al igual que entre autocruza y extrapolen ($P < 0.0003$; Fig. 8, Tabla 7). La existencia de progenie por vías de autocruza (A) también nos indica que la planta es autocompatible. Encontramos de igual manera que mediante la autocruza natural (G) existe producción de semillas, lo que muestra que las plantas no necesitan de vectores polinizadores para poder formar algunas semillas. El tratamiento de apomixis muestra que no hay producción de frutos ni semillas por esta vía. No existen diferencias significativas entre el tratamiento de extrapolen (E) y el de control (C) en la producción de frutos, y si existen diferencias significativas en la producción de semillas entre los dos tratamientos ($t = 0.51$, 78 g. l., $P = 0.6080$; $t = 3.14$, 78 g. l., $P < 0.002$ respectivamente, Fig. 8), pero la mayor producción se da en el tratamiento control, lo que sugiere que las polinizaciones que están realizando los vectores son eficientes, ya que aunque se coloque polen extra (E) en los estigmas de las flores la producción de frutos y semillas no se incrementa significativamente respecto a las flores control. Los polinizadores están transportando la cantidad de polen que las flores necesitan para la cantidad de óvulos que producen.

Tabla 7. Muestra los valores de las pruebas de t -contrastes entre los tratamientos de cruza controladas en *Opuntia bradtiana* en Cuatrociénegas Coahuila. $N = 40$ flores por tratamiento en 40 plantas distintas. Las iniciales corresponden a: G= autocruza natural, A= autocruza manual, T= geitonogamia, X = entrecruza, E= extrapolen y C = control. En el tratamiento de apomixis (P) no se obtuvieron frutos ni semillas por lo cual fue excluido del análisis.

Tratamientos	T		g.l.		P	
	Frutos	Semillas	Frutos	Semillas	Frutos	Semillas
A vs X	-0.7858	-15.0830	78	78	0.4375	<.00001
A vs G	1.5676	4.2277	78	78	0.1281	0.0001
A vs T	1.5676	-4.8138	78	78	0.1281	0.0001
A vs E	-4.4394	-26.4422	78	78	0.0003	<.00001
A vs C	-4.3040	-26.4590	78	78	0.0001	<.00001
C vs X	4.2554	36.2662	78	78	0.0001	<.00001
C vs G	5.2855	16.6130	78	78	<.00001	<.00001
C vs T	5.2855	33.0868	78	78	<.00001	<.00001
C vs E	0.5150	3.1481	78	78	0.6080	0.0020
X vs G	2.2154	11.4670	78	78	0.0300	<.00001
X vs T	2.2154	14.2388	78	78	0.0300	<.00001
X vs E	-3.8718	-34.3317	78	78	0.0002	<.00001
E vs G	4.9993	16.3683	78	78	<.00001	<.00001
E vs T	4.9993	32.1850	78	78	<.00001	<.00001
G vs T	3.76E-15	6.8772	78	78	>0.5	<.00001

5.4 Síndrome de polinización

5.4.1 Identificación de visitantes florales y su comportamiento

Mediante la identificación de los visitantes colectados en *O. bradtiana* durante junio del año 2001 encontramos 3 diferentes órdenes y 6 familias. En el orden Hymenoptera se presentan los géneros *Diadasia*, *Melissodes*, *Diantidium*, *Perdita*, y *Ashmeadiella*, en el orden Coleóptera encontramos a la familia *Nitidulidae* con representantes muy similares entre sí, muy probablemente pertenecientes a un mismo grupo. En el orden Ortóptera se observaron grillos que no fueron identificados. En total hay 6 familias, 6 géneros conocidos, 2 desconocidos, y algunas especies probables (Tabla 8). Para una correcta identificación hasta el nivel de especie de los Hymenópteros es necesario hacer una colecta mucho más grande con mayor número de ejemplares macho y que estos se encuentren lo mejor preparados posible.

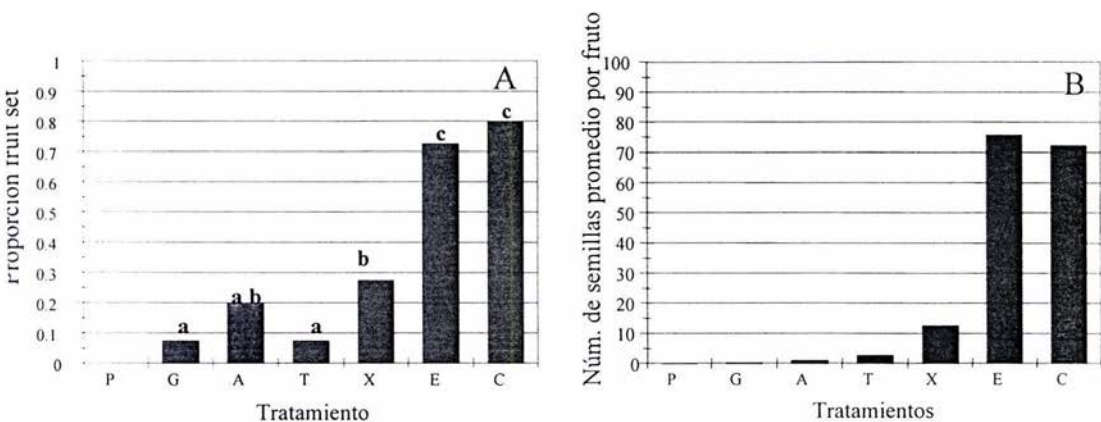


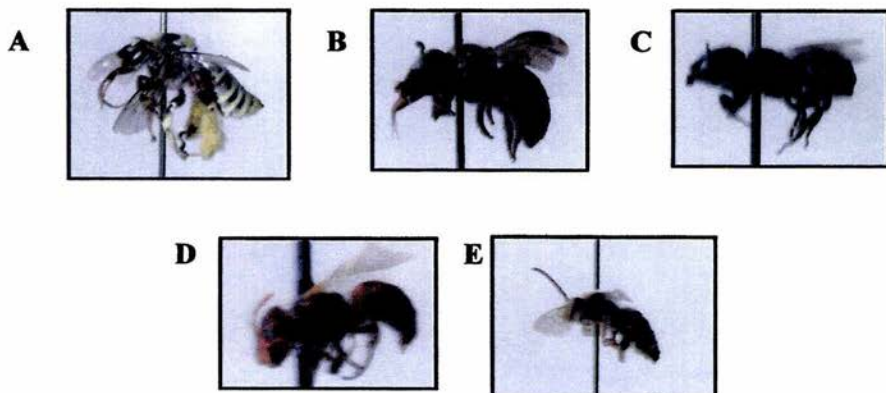
Fig.8. Frutos (A) y semillas (B) producidos a través de los tratamientos de cruza controladas en *Opuntia bradtiana* en Cuatro Ciénegas, Coahuila. $N = 40$ flores por tratamiento en 40 plantas distintas. Las iniciales corresponden a: P= apomixis, G= autocruza automática, A= autocruza manual, T= geitonogamia, X = entrecruza, E= polen extra y C = control. Las letras arriba de las barras cuando son iguales indican los grupos que no difieren entre sí con una $P > 0.05$ (ver Tabla 7), todas las barras en la Fig. B difieren entre ellas.

Las abejas de los géneros *Diadasia* y *Melissodes* (aprox. 1.5 cm) son las únicas abejas junto con *Diantidium* que mostraron un evidente papel polinizador (Tabla 8) porque tenían un claro contacto con las anteras y el estigma de la flor. Las abejas visitantes de los otros géneros no mostraron tener un claro contacto con el estigma, ya que aunque llegaban directamente a él y bajaban a la cámara nectarial no tocaban las anteras, lo que sí producían en pequeña medida eran movimientos tigmotácticos de los estambres que provocaban que las anteras tocaran el estigma, por lo que posiblemente promueven la autopolinización. Los escarabajos se encontraron durante todo el día dentro de las flores, pero con mayor abundancia después de las 16:00hr aprox.; los visitantes de este grupo permanecen en la parte baja del perianto, se alojan en la zona de la cámara nectarial y base de los estambres y no parecen producir suficiente movimiento en los estambres como para que las anteras toquen el estigma. Como no tienen en ningún momento contacto directo con el polen ni lo trasladan entre las flores y solo se aparean y alimentan de néctar sin dar ningún servicio a la flor

Tabla 8. Los visitantes florales de *Opuntia bradleana* así como la actividad que realizan en la flor.

*Según la colección de Hymenópteros del Museo de Zoología "Alfonso L. Herrera" de la Facultad de Ciencias, UNAM.

Orden	Familia	Género	Ejemplares	Especie	Actividad
Hymenoptera	Anthophoridae	<i>Diadasia</i>	3♂ y 4♀	<i>rinconis</i>	Polinizador (A)
Hymenoptera	Anthophoridae	<i>Melissodes</i>	1♂	Especie 2 *	Polinizador
Hymenoptera	Anthophoridae	<i>Melissodes</i>	1♂ y 2♀	<i>tristis</i>	Polinizador (C)
Hymenoptera	Megachilidae	<i>Diantidium</i>	1♀	Especie 2 *	Polinizador (B)
Hymenoptera	Andrenidae	<i>Perdita</i>	1♂ y 1♀	Especie 4 *	Autopolinizador (E)
Hymenoptera	Megachilidae	<i>Ashmeadiella</i>	1♀	sp.	Polinizador (D)
Coleoptera	Nitidulidae	Especie 1	0	?	Robador
Orthoptera	Grilidae	Especie 1	0	?	Robador de polen



se consideran a los nitidúlidos como robadores de néctar. Los grillos, al igual que los escarabajos no ofrecen un servicio claro a la flor, al llegar a la flor, por la tarde se alojan en la parte de las anteras y probablemente solo actúen como consumidores de polen (Tabla 8).

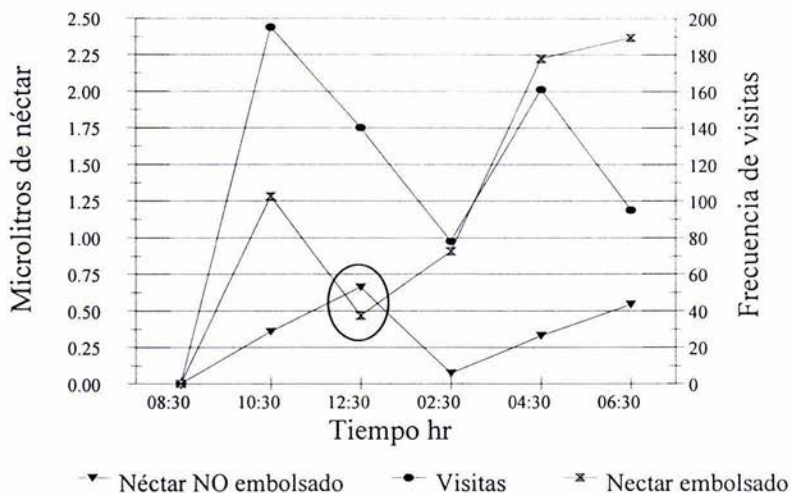


Fig. 9. Frecuencia de visitas de abejas a flores de *Opuntia bradtiana* a lo largo del día ($N = 40$), junto con producción de néctar (en microlitros) de dos tratamientos distintos, flores embolsadas ($N = 35$) y flores no embolsadas ($N = 35$). Marcado con el círculo se aprecia una baja producción de néctar en esa muestra en lo que hiba del día ($0.4\mu\text{l} \pm 0.1$).

5.4.2 Frecuencia y actividad de visitantes florales

Las flores comienzan a ser visitadas desde que empiezan a abrir a las 10:30hr, o incluso aún sin que estén abiertas las abejas pueden abrir los segmentos del perianto, siempre y cuando éstos ya se encuentren suficientemente blandos como para poderlos separar (10:00hr obs. pers.). La frecuencia de las visitas es elevada en la mañana (195 a las 10:30hr, Tabla 9), disminuye considerablemente entre las 12:30 y las 14:30hr (hasta 78 visitas), probablemente porque son las horas del día en que la temperatura es más elevada, pero a partir de las 16:30hr se presenta un aumento en la frecuencia de las visitas (161 visitas, Fig. 9, Tabla 9). Las abejas de los géneros *Diadasia* y *Melissodes* son los visitantes más frecuentes durante todo el día, seguidas por abejas de los géneros *Ashmeadiella* y *Perdita* (Tabla 8). Al analizar la tabla de contingencia encontramos diferencias significativas ($\chi^2 = 39.8$ y 8g.l., $P < 0.00001$) entre las frecuencias de los diferentes visitantes, aunque generalmente la frecuencia de visitas es más elevada en la mañana (10:00 y 12:00hr.) cuando el pico de producción de néctar es bastante elevado

(1.2 μl en flores embolsadas a las 10:30hr) y por la tarde aunque la producción de néctar es muy elevada (hasta 2.3 μl en flores embolsadas a las 18:30hr) la frecuencia de las visitas disminuye (Fig. 9) probablemente por la cantidad de viento en las tardes que es característica de la zona.

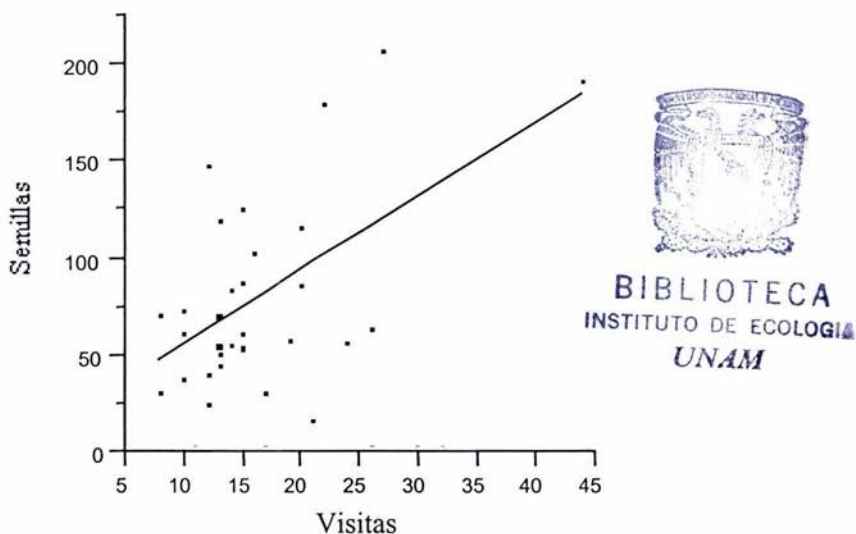


Fig. 10. Producción de semillas en 40 frutos con relación a la frecuencia de visitas que tuvo cada uno de ellos durante el tiempo que permanecieron como flores abiertas ($r^2 = 0.28$, $P < 0.0012$).

5.4.3 Importancia de los polinizadores en la producción de semillas

Para conocer el impacto que tiene la cantidad de visitas recibidas por cada flor en la posterior producción de semillas, se realizó un análisis de correlación no paramétrico entre las dos variables, el cual mostró una relación positiva entre el número de visitas a lo largo del día y el número de semillas producidas por fruto, es decir, que entre menos visitas recibe una flor menor es su producción de semillas (Spearman $Rho = 0.3528$, $P < 0.05$ y Kendall $Tau = 0.2760$, $P < 0.03$, Fig. 10).

Tabla 9. Número total de visitas de abejas a flores de *Opuntia bradtiana* según su tamaño y la hora del día ($N = 40$ flores) en Cuatro Ciénegas Coahuila. 100 minutos de observación total, Junio de 2001.

Tiempo (hrs.)	Especie		
	<i>Diadasia y Melissodes</i> (abejas grandes)	<i>Ashmeadiella</i> (abejas medianas)	<i>Caliopsis y Perdita</i> (abejas chicas)
1030	142	53	0
1230	116	18	6
1430	69	5	4
1630	141	10	10
1830	84	6	5
Total	552	92	25

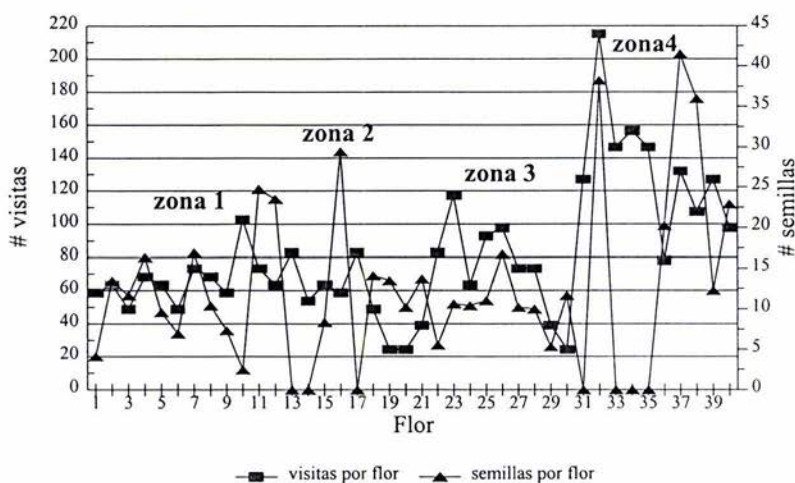


Fig. 11. Relación entre la frecuencia de visitas y la producción de semillas por fruto en las diferentes zonas observadas. $N = 40$ flores. Las flores de la 1-10 se localizaron en la zona 1, de la 11-20 en la zona 2, de la 21-30 en la zona 3 y de la 31-40 en la zona 4.

Graficando estos resultados en términos de cada flor encontramos que de las 4 zonas donde se encontraban repartidas las 40 flores muestreadas una de ellas presenta mayor cantidad de visitas por flor y mayor cantidad de semillas formadas por fruto (Zona 4, Fig. 11), es decir, existen 4 zonas separadas entre sí (método en Frecuencia y actividad de polinizadores), las flores de la 1 a la 10 se

encuentran repartidas en un área cercana (alrededor de 24m^2), de la 11 a la 20 (zona 2) en otra área cercana pero alejadas de la 1 a la 10 (zona 1) y así las siguientes dos zonas (de la flor 21 a la 30 y de la 31 a la 40, respectivamente, Fig. 11). Las últimas 10 flores (de la 31 a la 40, zona 4) recibieron visitas y produjeron más semillas (Fig. 11) que las de otros parches, esto puede deberse a factores relacionados con la proximidad entre flores o con la ubicación de los sitios de anidamiento de los visitantes.

5.4.4 Cuantificación de néctar

Las flores desde la hora en que abren contienen néctar ($1.2\mu\text{l} \pm 0.4$ a las 10:30hr, flores embolsadas) y también desde esa hora el néctar comienza a ser consumido por los visitantes ($0.35 \mu\text{l} \pm 0.1$ a las 10:30hr, flores no embolsadas; Fig. 9). En la cosecha de néctar en pie que realizamos en el tratamiento de flores no embolsadas encontramos néctar durante todo el tiempo de apertura floral, lo que sugiere que las flores producen más cantidad de néctar que la que los visitantes pueden consumir. En flores embolsadas encontramos una disminución en la producción de néctar entre las 12:30 y las 14:30hr ($0.4\mu\text{l} \pm 0.1$, 0.9 ± 0.3 , respectivamente, marcado con un círculo, Fig. 9), esto puede deberse a tres posibles factores: 1) que el néctar se evapore, 2) que el néctar se reabsorba o 3) que la muestra elegida para ser medida a esas horas sea azarosamente deficiente. Si se trata de evaporación es difícil saberlo sin la concentración de néctar, variable que no se cuantificó. Sería necesario hacer más cuantificaciones de néctar y su concentración para aclarar si esta disminución en la producción se debe a la muestra, a evaporación o a un comportamiento floral natural. Finalmente se muestra que la producción de néctar aumenta nuevamente en la tarde entre las 16:30 y las 18:30hr ($2.2\mu\text{l} \pm 0.2$, 2.3 ± 0.5 , Fig. 9).

5.5 Autoincompatibilidad y depresión endogámica

5.5.1 Depresión endogámica

La depresión por endogamia es elevada con diferencias significativas tanto en la producción de frutos por tratamiento como en producción de semillas por frutos formados comparando los tratamientos de autocruza manual y entrecruza (Fig. 8). *Opuntia bradtiana* produce más frutos (0.27) y semillas (43%) en promedio por vía entrecruza que por autocruza (0.2) y (7.5%), principalmente la depresión endogámica es más fuerte a nivel de la producción de semillas donde por vía de autocruza la cantidad de éstas disminuye en gran medida. En el cociente entre éxito reproductivo de la progenie producida

por autocruza y el éxito de la progenie de entrecruza se encontró una elevada depresión por endogamia con valores muy cercanos a 1 (Tabla 10).

Tabla 10. Depresión endogámica de *Opuntia bradtiana* ($\delta = 1 - A/X$), en donde A = éxito relativo de la progenie derivada y X = éxito de la progenie derivada de entrecruza. Si δ es mayor que 0.5 existe una muy alta depresión por endogamia (Mandujano et al., 1996; Muirhead y Lande, 1997).

Atributo	Cociente entre éxitos relativos de las progenies de A/X	Depresión por endogamia 1 - A/X
Producción de frutos	0.7272	0.2728
Producción de semillas	0.0118	0.8818

5.5.2 Crecimiento de tubo polínico

Al revisar las muestras de estigma y estilo de las flores abiertas y cerradas de 12hr y 24hr de edad observamos que los granos de polen en los pistilos provenientes del tratamiento con flores embolsadas de 12 hr no presentaron granos de polen en el estigma, por el contrario en el tratamiento de flores embolsadas con los pistilos colectados a las 24hr de la antesis si encontramos gran cantidad de granos de polen en el estigma y algunos germinando. Los pistilos de flores abiertas colectadas a las 12 y 24 horas presentaron gran cantidad de granos de polen y germinación de tubos polínicos en el estigma y estilo, incluso varios que llegaban a la base del estilo. Esto sugiere que es aproximadamente a las 24 horas después de la recepción del polen en el estigma que se da la fertilización de los óvulos y que las flores embolsadas que no reciben polen foráneo “esperan” hasta el final del día para autofertilizarse (Tabla 11).

Tabla. 11. Crecimiento de tubo polínico en flores de *Opuntia bradtiana* en dos tratamientos distintos de polinización y edad de la flor después de la antesis ($N= 8$; flores embolsadas ($N= 4$) y flores no embolsadas ($N= 4$).

Hora / Tratamiento	NO embolsada	Embolsada
Colecta a las 12 horas después de la apertura floral	Presencia de polen en estigma y crecimiento de tubo polínico hasta la base del estilo.	Ausencia de polen en el estigma.
Colecta a las 24 horas después de la apertura floral	Presencia de polen en estigma y crecimiento de tubo polínico hasta la base del estilo.	Presencia de polen en el estigma con pocos granos de polen germinando.

VI. Discusión

Fenología y atributos de historia natural

El periodo de floración en general para cactáceas es antes de la época de lluvias. En la mayoría de las especies la floración es marcadamente estacional, aunque algunos géneros (especies) florecen o producen yemas todo el año, aunque presentan un máximo de floración en alguna época del año como en *Ferocactus histrix* (del Castillo, 1988), *Echinocactus plathyacanthus* (C. Jiménez obs. pers.) y en *F. robustus* (Piña, 2000). Las flores de las cactáceas generalmente viven unos pocos días; las más longevas 2 ó 3 días (J. Reyes obs. pers., Leuck y Miller, 1982, Del Castillo, 1994) y las más efímeras de 1 ó 2 días como en *Opuntia*, siendo muy frecuentes las flores de un día (Tabla 12; Pimienta-Barrios y del Castillo, 2002). El periodo de floración de *Opuntia bradtiana* dura relativamente poco tiempo, alrededor de un mes iniciando a mediados de mayo, semejante a lo que sucede con otras *Opuntias* como *O. lindheimeri* (Grant et al., 1979). Las flores tienen forma de tazón con segmentos del perianto amarillo de color brillante, con un diámetro de 3.6 cm en promedio, gran cantidad de estambres sensibles al tacto con abundante polen de color amarillo, las flores son diurnas, abren un solo día durante un periodo de 8hr y presentan semillas maduras a partir de finales de agosto al igual que *Opuntia basilaris*, *O. imbricata*, *O. lindheimeri*, *O. rastrera*, *O. robusta*, *O. spinosissima*, entre otras (Grant et al., 1979; Grant y Grant, 1979; Bravo-Hollis, 1978; Del Castillo y González Espinosa, 1988; McFarland et al., 1989; Mandujano et al. 1996, Negrón-Ortiz, 1998, Tabla 12). En contraste con la mayoría de las *Opuntias*, los frutos son secos o semisecos y no son dehiscentes (Tabla 12).

Síndrome de polinización

Un aspecto importante en las cactáceas es la presencia de diferentes síndromes o características que facilitan la polinización por murciélagos, aves o insectos (Rowley, 1980; Anderson, 2001). En algunos géneros (por ejemplo: *Rebutia*) se presenta la polinización por mariposas, la polinización por colibríes ocurre en diversos géneros en especies que presentan simetría bilateral como *Cochemiea* y también en algunas especies con éste tipo de simetría se presenta polinización por aves (e.g., *Schlumbergra* y *Cleistocactus*; Rowley, 1980; Anderson, 2001). La polinización por murciélagos predomina en *Pilisocereus*, *Stenocereus* y *Neobuxbaumia* (Nassar et al., 1997; Valiente-Banuet et al., 1997; Casas, A. et al., 1999; Anderson, 2001). El síndrome de polinización por abejas es el más común dentro de las cactáceas, presente en el 46% de los géneros y está considerado como una condición primitiva de la familia (Anderson, 2001; Pimienta-Barrios y Del Castillo, 2002; Clark-Tapia, manuscrito), ya que se encuentra presente en las Portulacaceae, taxa cercanamente emparentado a las cactáceas (Wallace y

Gibson, 2002). El síndrome de polinización por abejas es característico principalmente en las subfamilias Pereskioideae y Opuntioideae, pero presente e importante en Cactoideae con un 41% del total de los síndromes presentes en la subfamilia (Clark-Tapia, manuscrito).

O. bradtiana es visitada por Himenópteros, Coleópteros y Ortópteros. Las abejas “grandes” como *Diadasia* y *Melissodes* siempre viajan de flor en flor, visitando las flores de plantas cercanas (aprox. un radio de 10 m), y visitando con mayor frecuencia y durante más tiempo algunas flores específicas del grupo (posiblemente con más néctar o polen). Las abejas “grandes” son los visitantes más frecuentes y el análisis de importancia de polinizadores en la producción de semillas indica que entre mayor número de visitas reciba la flor mayor es la producción de semillas. *Diadasia* y *Melissodes* aterrizan directamente en el estigma al ir a tomar néctar, se sostienen en el estigma para bajar hacia la cámara nectarial, y su cuerpo siempre toca las anteras de la flor, lo que asegura la toma y deposición de los granos de polen en el siguiente estigma con que tengan contacto. Por ello, los polinizadores más efectivos de *O. bradtiana* son de los géneros *Diadasia* y *Melissodes*. En otras *Opuntia* y en el complejo *Echinocereus viridiflorus* y en *F. histrix* se han encontrado estos mismos géneros con conductas similares a las descritas anteriormente y se han reportado a otros visitantes grandes como *Lithurge*, *Megachile*, *Xilocopa* y *Bombus* (Grant y Grant, 1979; Grant et al., 1979; Leuck y Miller, 1982; Simpson y Neff, 1983; Del Castillo y González Espinosa, 1988; McFarland et al., 1989; del Castillo, 1994; Mandujano et al., 1996; Tabla 12) los cuales están ausentes en *O. bradtiana*. La frecuencia de los visitantes florales aumenta en la mañana y está claramente ligada a la producción de néctar. Una característica importante de los estambres de *O. bradtiana* es que, al igual que en *Opuntia brunneogemmia* y *O. viridirubra*, y otras (Schlindwein y Wittmann, 1997, Tabla 12), son sensibles al contacto, es decir, son tigmotácticos con lo que se puede promover la autopolinización. Los visitantes “medianos y pequeños” de los géneros *Perdita*, y *Ashmeadiella* estimulan la tigmotaxis durante todo el día, pero primordialmente en la tarde y posiblemente favorecen la autocruza en *O. bradtiana* como lo observado para *O. littoralis* y *O. rastrera* (Grant y Grant, 1979; Mandujano et al. 1996, Tabla 12). En contraste en *O. robusta* las abejas pequeñas como *Ashmeadiella* y *Dialictus* son consideradas como probables robadores de néctar o polen (Del Castillo y González-Espinosa, 1988; Tabla 12). Los coleópteros, en específico los nitidúlidos, fueron muy abundantes, en *O. bradtiana* estos últimos son robadores de recompensas (polen y néctar) y no autopolinizan. La presencia de coleópteros sin una actividad clara como polinizadores, sino como robadores se ha descrito para *O. basilaris*, *O. lindheimeri*, *O. robusta* y *F. histrix* (Grant y Grant, 1979; Grant et al., 1979; Rowley, 1980; Del Castillo y González Espinosa, 1988; Del Castillo, 1994). Posiblemente los coleópteros sean parásitos

de las flores de *Opuntia*, como lo han encontrado en *O. compressa* y en *O. imbricata* (McFarland et al., 1989). Los grillos, al igual que los nitidúlidos están considerados como robadores de polen, ya que en las tardes se dedican a comerse las anteras de la flor, fenómeno que también se presenta en *Echinocactus platyacanthus* (Cecilia Jiménez, datos no publicados).

Sistema de apareamiento y cruza

La mayoría de las cactáceas realizan entrecruza obligada, lo que significa que la mayor parte del polen viene de diferentes individuos para que se dé la fertilización, aunque la autocruza ocurre en algunos grupos. Algunas flores de cactáceas presentan cleistogamia como en el caso del género *Frailea* (Anderson, 2001).

Al igual que la mayoría de las especies del género *Opuntia* (Grant et al., 1979; Grant y Grant, 1979; Bravo-Hollis, 1978; McFarland et al., 1989; Mandujano et al. 1996, Negrón-Ortiz, 1998, Tabla 12) y otras cactáceas como *Ferocactus robustus* (Piña, 2000), en las flores de *O. bradtiana* se presenta homogamia, es decir, no hay separación espacial de sexo (hercogamia) ni separación temporal de sexos (dicogamia). La homogamia permite la autocruza (Wyatt, 1983) y en este caso observamos que en algunas flores (ca. 10%) no se requiere de un vector que mueva el polen. En las cactáceas se ha reportado la hercogamia únicamente en *O. robusta* (Del Castillo y González Espinosa, 1988), trioicismo en *Pachycereus pringlei* (Cervantes, 2001), dioicismo funcional en *Mammillaria dioica* (Bravo-Hollis y Sánchez-Mejorada, 1991), ginodioicismo en *M. blossfeldiana* var. *shurliana* (Rebman, 2001), y dioicismo en *Preskia zinniflora* (Rodríguez Fuentes, aceptado). La mayoría de las flores de las cactáceas presentan órganos sexuales femeninos y masculinos, esto es que son estructuralmente monoicas pero en algunas especies se presenta la dioecia funcional (Anderson, 2001). Por lo que se ha sugerido que la condición ancestral en *Opuntia* (Del Castillo, 1999), y posiblemente en toda la familia Cactaceae, es el hermafroditismo con sistemas reproductivos mixtos.

El sistema de apareamiento de *Opuntia bradtiana* es mixto con tendencia a la entrecruza, es decir, es una xenógama facultativa ($P/O \bar{x} = 2490.3$) según la relación polen:óvulos indicada por Cruden (1977) y de acuerdo a los resultados de polinizaciones controladas. Por lo tanto *O. bradtiana* no presenta insuficiencia en la producción de granos de polen que limite la producción de semillas en la población. Sin embargo, para lograr una buena producción de semillas (>10 semillas) requiere de vectores polinizadores. Algunas plantas de *O. bradtiana* son autocompatibles, ya que pueden producir frutos y semillas mediante autogamia, aunque de manera muy deficiente en comparación con la producción de entrecruza (3 veces y 18 veces menos, respectivamente), lo que representa que hay altos niveles de depresión endogámica (0.273 para frutos y 0.88 para semillas). Estos niveles de depresión

endogámica en la producción de frutos son menores a lo encontrado en *O. rastrera*, y son similares a los reportados para *F. robustus* y otras especies clonales (Mandujano et al., 1996; Muirhead, 1997; Piña, 2000, Tabla 12). En cuanto a las semillas, los niveles de depresión endogámica son 20% mayores que en otras cactáceas y similares a otras especies clonales (Mandujano et al., 1996; Muirhead, 1997; Piña, 2000). Al parecer el sistema de *O. bradtiana* se comporta como lo predice la teoría, como en la población se realiza cruce mixta la depresión por endogamia se incrementa porque las mutaciones homocigas deletéreas no se purgan tan eficientemente como en las poblaciones autógamas ya que estas mutaciones se enmascaran en los heterocigos (Muirhead y Lande, 1997).

Nuestras observaciones predicen que en la población de *Opuntia bradtiana* se realizan primordialmente entrecruzas. Asimismo, algunas flores tienen la capacidad de autocruzarse, sin embargo, los datos de la germinación de granos de polen en los estigmas colectados a las 24 horas de la anthesis en flores embolsadas sugieren que las flores “esperan” hasta el final del día para autopolinizarse. Posiblemente en *Opuntia bradtiana* se presente un sistema muy especializado de selección de polen, ya que como se encontró, la autocruza es una alternativa última y quizá en presencia de polen de entrecruza la autocruza se vea limitada. Esto se ha observado en el género *Schlumbergera*, en donde la germinación de tubos polínicos se ve limitada en presencia de polen de autocruza o de parientes cercanos debido a la existencia de un locus ‘S’ de autoincompatibilidad de varios alelos (Boyle, 1997). Quizá, la autocruza puede verse como un seguro para la reproducción sexual que permite que no se “desperdicien” flores, éste podría ser un mecanismo muy eficiente que ayuda a entender el por qué no se separan las funciones sexuales. Posiblemente, similar a lo reportado para *Astrocaryum mexicanum* (Araceae) y *Prosopis glandulosa* (Leguminosae) el que un fruto tenga más semillas y que éstas sean de entrecruza o autocruza depende del tipo de polen que recibió la flor, es decir, de la eficiencia del polinizador, de su patrón de forrajeo o de la frecuencia de visitas (Búrquez et al., 1987; Golubov, 2002). Además, la frecuencia de visitas y la cantidad de polen pueden estar influidos por la distribución de las plantas y la cantidad de flores cercanas como se ha reportado para *Begonias* (Jiménez, 2000).

Ambos, tanto los sistemas de apareamiento como los sistemas de cruce parecen tener una tendencia hacia la entrecruza (Wyatt, 1983; Eguiarte et al., 1992). En el sistema de cruce parece haber más ventajas a largo plazo si la población realiza entrecruza ya que mantiene mayor variabilidad genética (Wyatt, 1983; Charlesworth y Charlesworth, 1987; Eguiarte et al., 1992), sólo que la reproducción y dispersión se restringe a la necesidad de vectores polinizadores y dispersores, y por lo general en este sistema se esperan poblaciones muy diversas genéticamente pero tal vez limitadas

espacialmente. Ahora, aunque el sistema de autocruza puede limitar la diversidad genética, las poblaciones pueden asegurar la producción de semillas además de reducir los efectos de depresión endogámica porque ésta puede ser menos severa en poblaciones autóгамas que en xenógamas (Charlesworth y Charlesworth, 1987; Barrett y Harder, 1996; Muirhead y Lande, 1997). Las poblaciones que realizan autocruza se aseguran la existencia mientras no haya algún cambio ambiental, una plaga o algo que disminuya la reproducción y la sobrevivencia de la población. El sistema mixto al parecer mantendría la diversidad genética y la población no estaría cien por ciento dependiente de sus vectores polinizadores, aunque este sistema también cuenta con la desventaja de que está expuesto a una gran depresión por endogamia (Charlesworth y Charlesworth, 1987; Barrett y Harder, 1996). Esto es lo que sucede con el sistema de *O. bradtiana*, ya que en él se realizan autocruzas y también entrecruzas, y como sistema mixto con tendencia a la entrecruza la depresión por endogamia se presenta muy alta, además de que en el sistema también se añade que la planta es clonal y esto interfiere en los sistemas de apareamiento. En este sentido la clonalidad tiene una gran influencia en el sistema de apareamiento por que mantiene “inestable” a la población en cuanto a qué tipo de cruza se está realizando. Esto se debe a que si la planta clona en exceso promueve la geitonogamia, la población a futuro se puede ir tendiendo más hacia un sistema de autocruza (Snow et al. 1996). Aunque esto no esté sucediendo en este momento existe una disyuntiva entre la expansión del clon y su eficiencia en el sistema de entrecruza ya que nuestros resultados indican que el sistema en esta población es entre xenógamo y xenógamo facultativo y que se presenta una alta depresión por endogamia.

VII. Conclusiones

En general, los estudios de biología floral en cactáceas son muy limitados considerando que hay 1810 especies reconocidas (Anderson, 2001), ya que ni siquiera un 5% de ellas ha sido estudiado. La mayor concentración de trabajos en esta rama de la ecología evolutiva se han realizado en especies del género *Opuntia*, posiblemente por su amplia distribución geográfica y su importancia económica.

Opuntia bradtiana es similar a otras especies del género *Opuntia*. Presenta flores diurnas, duran un día, son polinizadas por insectos (principalmente abejas solitarias de tamaño mediano), y su periodo de floración es en la primavera-verano. El sistema de apareamiento es xenógamo facultativo, el sistema de cruza es mixto con tendencia a ser predominantemente de entrecruza y son autocompatibles, aunque presentan altos niveles de depresión endogámica.

Una diferencia notable es que en *Opuntia bradtiana* no se requiere del polinizador para formar frutos y semillas, aunque existen diferencias muy marcadas con los frutos y semillas formados en los

tratamientos de entrecruza y control. Las características florales, la producción de néctar y los visitantes florales que presenta la especie indican un síndrome de polinización por melitofilia. En cuanto a la clonalidad, se ha sugerido que las especies clonales-hermafroditas despliegan niveles de depresión endogámica altos como una consecuencia de la autocruza. Además, en éstas especies, la autogamia y geitonogamia pueden ocurrir como un mecanismo que asegura la producción de algunas semillas cuando no se dio la entrecruza. Sin embargo, la depresión endogámica es un fenómeno para purgar genes deletéreos, limitando la producción de semillas homócigas y es frecuente en estas especies. Esta estrategia es un balance entre la restricción de la reproducción asexual (expansión del genet) y los beneficios de la reproducción sexual.

Tabla 12. Biología floral, ecología reproductiva y polinizadores de *Opuntia*

Especie	<i>Opuntia bradtiana</i>	<i>Opuntia lindheimeri</i> (Grant et al. 1979).	<i>Opuntia discata</i> , <i>O. pheacantha</i> var. <i>Major</i> y <i>O. compressa</i> (Grant et al. 1979).	<i>Opuntia basilaris</i> (Grant y Grant, 1979).	<i>Opuntia littoralis</i> (Grant y Grant, 1979).	<i>Opuntia robusta</i> (Del Castillo y González Espinosa, 1988).	<i>Opuntia imbricata</i> (Mc Farland et al. 1989).	<i>Opuntia rastrera</i> Mandujano et al. 1996).	<i>Opuntia macrocentra</i> Mandujano et al. manuscrito).
Flor	Hermafrodita, un día, grande amarilla, en forma de copa	Hermafrodita, un día, grande amarilla, en forma de copa	Hermafrodita, un día, grande amarilla, en forma de copa.	Hermafrodita, un día, grande Magenta, en forma de copa	Hermafrodita, un día, grande amarilla, en forma de copa	Hermafrodita, un día, grande amarilla, en forma de copa	Hermafrodita, dos días, grande Rosas, en forma de copa	Hermafrodita, un día, grande amarilla o Rosas, en forma de copa	Hermafrodita, un día, grande amarilla con base roja, en forma de copa
Fruto	Amarillo y seco	Rojo, carnoso	Rojo, carnoso	Seco	Carnoso	?	?	Verde-púrpura, carnoso	Verde-púrpura, carnoso
Néctar	Presente	Ausente	Ausente	?	Presente	Día	Presente	Presente	Presente
Hercogamia	NO	NO	NO	?	?	♀♂	SI. Pistilo más alto que estambres.	NO	NO
Visitantes florales	<i>Nitidulidae</i> , Grillos (robadores), <i>Perdita</i> , <i>Ashmeadiella</i> * <i>Melissodes</i> , * <i>Diadasi</i> a, <i>Diantidium</i> , etc.	<i>Perdita</i> , <i>Dialictus</i> , Escarabajos (robadores), <i>Carpophilus</i> , (<i>Nitidulidae</i>), * <i>Melissodes</i> , * <i>Diadasi</i> a, * <i>Lithurge</i> , * <i>Megachile</i> , etc.	<i>Perdita</i> , <i>Dialictus</i> (robadores), <i>Carpophilus</i> (<i>Nitidulidae</i>), <i>Melissodes</i> , * <i>Diadasi</i> a, * <i>Lithurge</i> , <i>Megachile</i> , etc.	<i>Carpophilus</i> , <i>Trichochrous</i> , * <i>Diadasi</i> a <i>rinconis</i> , * <i>Diadasi</i> a <i>australis</i> , <i>Ceratina</i> , <i>Lithurge</i>	<i>Carpophilus</i> , <i>Trichochrous</i> , <i>Ashmeadiella opuntiae</i> , * <i>Diadasi</i> a <i>rinconis</i> , * <i>Diadasi</i> a <i>australis</i> , <i>Ceratina</i> , <i>Lithurge</i> , <i>Agamospermon</i>	<i>Perdita</i> , <i>Ashmeadiella</i> , <i>Lasioglossum</i> (Robadores) * <i>Trichochrous</i> , * <i>Diadasi</i> a, * <i>Bombus</i>	<i>Carpophilus</i> (ciclo de vida), * <i>Melissodes</i> , * <i>Diadasi</i> a, * <i>Lithurge</i> , * <i>Agamospermon</i>	Hormigas <i>Nitidulidae</i> (Robadores) * <i>Diadasi</i> a, * <i>Lithurge</i>	* <i>Melissodes</i> , * <i>Diadasi</i> a
Síndrome de polinización	Melitofilia	Melitofilia	Melitofilia	Melitofilia	Melitofilia	Melitofilia	Melitofilia	Melitofilia	Melitofilia
Auto-comp	Si	Si	Si	?	?	Si	No	Si	Si
Depresión Endogámica+	Si ($\delta=0.27$ F), ($\delta=0.88$ S).	?	?	?	?	No		Si ($\delta=0.87$ F), ($\delta=0.4$ S).	Si ($\delta=0.07$ F) ($\delta=0.49$ S)
Sistema de apareamiento	Xenógamo facultativo	Xenógamo Facultativo	Xenógamo facultativo	Autogamia; ?	Autogamia; ?	Xenógamo facultativo	Xenógamo facultativo	Xenógamo facultativo	Xenógamo facultativo
Sistema de cruza	Mixto.	Entrecruza	Entrecruza	?	?	Mixto	Xenógamo	Mixto	Mixto

* Polinizadores eficientes; + δ = depresión endogámica en S=semillas y F= frutos; ♀ ♂ = se presenta distilia.

VIII. Literatura Citada

- Anderson, E. F. 2001. *The Cactus Family*. Timber Press, Inc. Portland Oregon, U.S.A.
- Anthony, S. 1954. Ecology of the Opuntiae in the big bend region of Texas. *Ecology* **35**: 334-347.
- Arizaga, S. y E. Ezcurra. 1995. Insurance against reproductive failure in a semelparous plant: bulbil formation in *Agave macroacantha* flowering stalks. *Oecologia* **101**: 329-334.
- Barrett, S. C. H. y J. S. Shore. 1987. Variation and evolution of breeding systems in the *Turnera Ulmifolia* L. complex (Turneraceae). *Evolution* **41**: 340-354.
- Barrett, S. C. H. y L. D. Harder. 1996. Ecology and evolution of plant mating. *TREE* **11**: 73-79.
- Beutelspacher R. C. 1971. Polinización de *Opuntia tomentosa* Salm-Dyck y *O. robusta* Wendland en el Pedregal de San Angel. *Cactáceas y Suculentas Mexicanas* **16**:84-86.
- Boyle T. H. 1997. The genetics of self-incompatibility in the genus *Schlumbergera* (Cactaceae). *Journal of Heredity* **88**: 209-214.
- Bravo-Hollis H. 1978. *Las Cactáceas de México*. Vol. 1. Universidad Nacional Autónoma de México. D. F., México.
- Bravo-Hollis H. y Sánchez-Mejorada, H. 1991. *Las Cactáceas de México*. Vol. 3. Universidad Nacional Autónoma de México. D. F., México.
- Britton N. L., y J. N. Rose. 1919-1923. *The Cactaceae*, 4 vols. Carnegie Institute Washington Publication 248, Washington, D. C.
- Brown A. H. D. 1990. Genetic characterization of plant mating systems. En: *Plant population genetics, breeding and genetic resources*. Brown, A. H. D., M. T. Clegg., A. L. Kalher., y B. S. Weir (eds.). Sinauer Associates Inc. Massachusetts.
- Búrquez, A. y J. Sarukhán. 1980. Biología de poblaciones silvestres y cultivadas de *Phaseolus coccineus* L.: I. Relaciones Planta-Polinizador. *Boletín de la Sociedad Botánica de México*. Núm. **39** :5-24.
- Búrquez A. J., K. Sarukhán, y A. L. Pedroza. 1987. Floral biology of a primary rain forest palm, *Astrocaryum mexicanum* Liebm. *Botanical Journal of the Linnean Society* **94**: 407-419.
- Cervantes S. M. 2001. *Variación geográfica en el sistema reproductivo de Pachycereus pringlei*. Tesis de Licenciatura. Facultad de Ciencias UNAM, México.
- Clark-Tapia. Síndromes de polinización y sistemática de la Familia Cactaceae. Manuscrito.
- Crawley, M. J. 1993. *GLIM for ecologists*. Blackwell, Oxford.
- Cruden R.W. 1977. Pollen-ovule ratios: a conservative indicator of breeding systems in flowering plants. *Evolution* **31**: 32-46.
- Cruden R. W., S. M. Hermann y S. Peterson. 1983. Patterns of nectar production and plant-pollinator coevolution. En : *The biology of nectaries*. Bentley B. y T. Elias (eds.). Columbia University Press. New York.
- Charlesworth, D. y B: Charlesworth. 1987. Inbreeding depression and its evolutionary consequences. *Annual Review of Ecology and Systematic* **18**: 237-268.
- De Nettancourt, D. 1997. Incompatibility in angiosperms. En: *The genetics of self-incompatibility in the genus Schlumbergera* (Cactaceae). Boyle T. H. *Journal of Heredity* **88**: 209-214.
- Del Castillo R. F. 1988. Fenología y remoción de semillas en *Ferocactus histrix*. *Cactáceas y Suculentas Mexicanas* **33**:5-14.
- Del Castillo R. F. 1994. Polinización y otros aspectos de la biología floral de *Ferocactus histrix*. *Cactáceas y Suculentas Mexicanas* **39**:36-43.
- Del Castillo R. F. 1999. *Memoria VIII Congreso Nacional y VI Internacional Sobre el Conocimiento y Aprovechamiento del Nopal*. Juan Rogelio Aguirre Rivera y Juan Antonio Reyes Agüero (eds.). S.L.P., México.

- Del Castillo R. F. y M. González-Espinosa. 1988. Una interpretación evolutiva del polimorfismo sexual de *Opuntia robusta* (Cactaceae). *Agrociencia* 71: 185-196.
- Domínguez C. A. 1990. *Consecuencias ecológicas y evolutivas del patrón de floración sincrónico y masiva de Erythroxylum havanense Jacq. (Erythroxylaceae)*. Tesis de Doctorado. Centro de Ecología /UACP y CCH, Universidad Nacional Autónoma de México. México.
- Eguiarte L. E., F. J. Nuñez, C. A. Domínguez y C. Cordero. 1992. Biología evolutiva de la reproducción de las plantas. *Revista Ciencias núm. especial* 6: 87-97.
- Eguiarte, L. E. y A. Búrquez. 1987. Reproductive ecology of *Manfreda brachystachya* (cav.) Rose una agavácea polinizada por murciélagos: Los riesgos de la especialización en la polinización. *Boletín de la Sociedad Botánica de México* 48: 147-147.
- Eguiarte, L.E. 1990. *Genética de poblaciones de Astrocaryum mexicanum Liebm. en Los Tuxtlas, Veracruz*. Tesis de Doctorado. Centro de Ecología /UACP y CCH, Universidad Nacional Autónoma de México. México.
- Ehrlich, P. R. y P. H. Raven. 1969. Differentiation of Populations. En: Biología de poblaciones silvestres y cultivadas de *Phaseolus coccineus* L: I. Relaciones Planta-Polinizador. Búrquez, A. y J. Sarukhán, 1980. *Boletín de la Sociedad Botánica de México*. Núm. 39 : 5-24.
- Ennos R. A. 1981. Quantitative studies of the mating system in two sympatric species of *Ipomoea* (Convolvulaceae). *Genetica* 57: 93-98.
- Everitt B. S. 1977. *The analysis of contingency tables. Monographs on Statistics and applied probability*. Chapman and Hall.
- Gibson, A. C., y P. S. Nobel. 1986. *The cactus primer*. Harvard University Press, Cambridge, MA.
- Gold, D. B. 1966. Las Cactáceas del Estado de Chihuahua. *Cactáceas y Suculentas Mexicanas* 11: 65-67.
- Gold, D. B. 1967. Las Cactáceas del Estado de Durango. *Cactáceas y Suculentas Mexicanas* 12: 17-20.
- Golubov, F. J. K. 2002. *El dimorfismo en la producción del néctar: Un acercamiento al proceso evolutivo de caracteres florales*. Tesis de Doctorado. Facultad de Ciencias, Universidad Nacional Autónoma de México. México.
- Grant, V., K. A. Grant., y P. D. Hurd, Jr. 1979. Pollination of *Opuntia lindheimeri* and related species. *Plant Systematics and Evolution* 132: 313-320.
- Grant, V., y K. A. Grant. 1979. Pollination of *Opuntia basilaris* and *O. littoralis*. *Plant Systematics and Evolution* 132: 321-325.
- Harda Y., S. Kawano y Y. Iwasa. 1997. Probability of clonal identity: inferring the relative success of sexual versus clonal reproduction from spatial genetic patterns. *Journal of Ecology* 85: 591-600.
- Hedrick, P.W. 1983. *Genetics of Populations*. Science Book Interbational. Boston.
- Jain. S. K. 1976. The evolution of inbreeding in plants. *Annual Review of Ecology and Systematic* 7: 469-495.
- Jiménez A. G. 2000. *Biología reproductiva de una especie polinizada por engaño*. Tesis de Maestría. Facultad de ciencias. División de Estudios de Posgrado. Universidad Nacional Autónoma de México. México.
- Kearns, C. A. y D. W. Inouye. 1993. *Techniques for pollination biologists*. University Press of Colorado. U.S.A.
- Lande, R. y D. R. Schemske. 1985. The evolution of self-fertilization and inbreeding depression in plants. I. Genetic model. *Evolution* 39: 24-40.
- Leuck, E. E. y J. M. Miller. 1982. Pollination biology and chemotaxonomy of the *Echinocereus viridiflorus* complex (Cactaceae). *American Journal of Botany* 69: 1669-1672.
- Linsley, E. G. 1958. The ecology of solitary bees. *Hilgardia* 48 : 543-599.

- Linsley, E. G. y J. W. MacSwain. 1957. The significance of floral constancy among bees of the genus *Diadasia* (Hymenoptera, Anthophoridae). *Evolution* **12**: 219-223.
- Lloyd, D. G. y S.C.H. Barrett. 1996. *Floral biology : Studies on floral evolution in animal-pollinated plants*. International Thomson Editores. D. F. México.
- Mandujano M. C. y J. Golubov. 2000. *Opuntia bradtiana* en la zona calcárea del Bolsón de Mapimí, México. *Cactáceas y Suculentas Mexicanas* **45** : 66-68.
- Mandujano M. C., C. Montaña, L. E. Eguiarte. 1996. Reproductive ecology and inbreeding depression in *Opuntia rastrera* (Cactaceae) in Chihuahuan Desert: Why are sexually derived recruitments so rare?. *American Journal of Botany* **83**: 63-70.
- Mandujano M. C., C. Montaña, M. Franco, J. Golubov, y A. Flores-Martínez. 2001. Integration of demographic annual variability in a clonal desert cactus. *Ecology* **82**: 344-359.
- Mandujano M. C., J. Golubov y L. Huenneke. Enviado. Reproductive ecology of *Opuntia macrocentra* (Cactaceae) in the northern Chihuahuan Desert: causes of low fruit set. *American Midland Naturalist*.
- Manual de recolección y preparación de animales*. 1990. Facultad de Ciencias, UNAM, D.F. México.
- Marsh, P. C. 1984. Biota of Cuatro Ciénegas, Coahuila, México: Preface. *Journal of the Arizona Nevada Academy of Sciences* **19**: 1-2
- McFarland, J. D., P. G. Kevan y M. A. Lane. 1989. Pollination biology of *Opuntia imbricata* (Cactaceae) in southern Colorado. *Canadian Journal of Botany* **67**: 24-28.
- Michener C. D. 1979. Biogeography of Bees. *Annals of the Missouri Botanical Garden* **66**: 227-347.
- Michener, C. D. 1974. *The social behavior of the bees*. The Belknap Press of Harvard University Press, Cambridge, Massachusetts.
- Michener, C. D. 1994. R. J. McGinely y B. N. Danforth. 1994. *The bee genera of North and Central America (Hymenoptera: Apoidea)*. Smithsonian Institution Press, Washington and London.
- Mosquin, T. 1971. Competition for pollinators as a stimulus for the evolution of flowering time. En: Biología de poblaciones silvestres y cultivadas de *Phaseolus coccineus* L: I. Relaciones Planta-Polinizador. Búrquez, A. y J. Sarukhán, 1980. *Boletín de la Sociedad Botánica de México*. Núm. **39** : 5-24.
- Muirhead, C. A. y R. Lande. 1997. Inbreeding depression under joint selfing, outcrossing, and asexuality. *Evolution* **51**: 1409-1415.
- 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.
- Palleiro, D. N. 2001. *Propagación vegetativa a través de frutos abortados de Opuntia microdasys (Lehmann) Pfeiffer, en el desierto Chihuahuense*. Tesis de Licenciatura. Facultad de Ciencias, UNAM. México.
- Pérez-Nasser, N. 1990. *Biología reproductiva y estructura genética de Psychotria faxlucens (Rubiaceae) en Los Tuxtlas, Veracruz*. Tesis de Maestría. Facultad de Ciencias, Universidad Nacional Autónoma de México. México.
- Pimienta-Barrios, 1990. El nopal tunero. Universidad de Guadalajara, Zapopan, México.
- Pimienta-Barrios, E. y Del Castillo, R. F. 2002. Reproductive Biology. En: *Cacti: biology and uses*. pp 75-90. Park S. Nobel (ed.). University of California Press. Berkeley, California. U.S.A. pp : 75-90.
- Pinkava, D. 1984. Vegetation and floral of the Bolson of Cuatro Ciénegas region, Coahuila, México : IV. Summary, endemism and corrected catalogue. *Journal of the Arizona Nevada Academy of Science* **19**: 23-47.
- Piña Ruíz, H. H. 2000. *Ecología reproductiva de Ferocactus robustus en el Valle de Zapotitlan Salinas, Puebla*. Tesis de Maestría. ENCB. Instituto Politécnico Nacional. México.

- Rebman, J. P. 2001. Las suculentas del Isote Toro, Baja California, México. *Cactáceas y Suculentas Mexicanas* 46 : 52-55.
- Richards, A. J. 1997. *Plant Breeding Systems*. 2nd edition. Chapman y Hall. Great Britain. 529 pp.
- Rosas Barrera, D. y M. C. Mandujano. La vegetación de las Bajadas en el Bolsón de Cuatro Ciénegas, Coahuila, México. XV Congreso Mexicano de Botánica. Querétaro, Querétaro, 14 al 19 de Octubre del 2001.
- Rowley, G. D. 1980. Pollination syndromes and cactus taxonomy. *Cactus and Succulent Journal of Great Britain* 42: 95-98.
- Rzedowski, J. 1991. Diversidad y orígenes de la flora fanerogámica de México. *Acta Botánica Mexicana* 14:3-21.
- SAS Institute. 1995. *JMP statistics and graphics guide*. SAS Institute, Cary, North Carolina, USA.
- Schemske, D. W. 1983. Breeding system and habitat effects on fitness components in three neotropical *Costus* (Zingiberaceae). *Evolution* 37: 523-539.
- Schindwein, C. y Wittmann, D. 1997. Stamen movements in flowers of *Opuntia* (Cactaceae) favour oligolectic pollinators. *Plant Systematics and Evolution* 204: 179-193.
- Silvertown J. W. y D. Lovett. 1993. *Introduction to plant population biology*. Blackwell Scientific Publication, Inc. E.U.A. Cambridge.
- Simpson, B. B. 1977. *MESQUITE. Its biology in two deserts scrubs ecosystems*. Dowden, Hutchinson y Ross, Inc. E.U.A.
- Simpson, B.B., y Neff, J.L. 1983. Pollination ecology in the Arid Southwest. *ALISO* 11 : 417-440.
- Snow, A. A., T. P. Spira, R. Simpson, R. A. Klips, 1996. The ecology of geitonogamous pollination. En: *Floral biology. Studies on floral evolution in animal – pollinated plants*. Lloyd , D. G. y S.C.H. Barrett (eds.). Chapman y Hall. Universidad de Toronto, Canada. pp: 191-216.
- Southwick, E. E. 1984. Photosynthetic allocation to floral nectar: a neglected energy investment. *Ecology* 65: 1775-1779.
- Tiffney, B. H. y K. J. Niklas. 1985. Clonal growth in land plants: a paleobotanical perspective. En: *Population biology and evolution of clonal organisms*. Jackson, J. B. C., Buss, L. W. y Robert E. Cook (eds.). Yale University Press. pp. 35-66.
- Trujillo-Argueta, S., y M. González-Espinosa. 1991. Hibridización, aislamiento reproductivo y formas de reproducción en *Opuntia* spp. Serie Recursos Naturales Renovables *Agrociencia* 1: 39-58.
- Nassar J. M., N. Ramirez y O. Linares. 1997. Comparative pollination biology of Venezuelan columnar cacti and the role of nectar/feeding bats in their sexual reproduction. *American Journal of Botany* 84: 918-927.
- Casas, A., A. Valiente-Banuet, A. Rojas-Martínez y P. Dávila. 1999. Reproductive biology and the process of domestication of the columnar cactus *Stenocereus stellatus* in Central Mexico. *American Journal of Botany* 86: 534-542.
- Valiente-Banuet, A., Rojas-Martínez, A., Casas, A., del Coro-Arizmendi, M. y P. Dávila. 1997. Pollination biology of two winter-blooming giant columnar cacti in the Tehuacan valley, central Mexico. *Journal of Arid Environments* 37: 331-341.
- Wallace, R. S. y A. C. Gibson. 2002. Evolution and systematics. En: *Cacti: biology and uses*. Park S. Nobel (ed.). University of California Press. Berkeley, California. U.S.A. pp 1-21.
- Wyatt, R. 1983. Pollinator-Plant interactions and the evolution of breeding systems. En: *Pollination Biology*. Lesly Real (ed.). Academic Press. New York. pp. 51-95.
- Zar J.H. 1996. *Biostatistical Analysis*. Prentice-Hall Inc, Englewood Cliffs, New Jersey, USA.
- Zimmerman G. H. y G. Granata. 2002. Insect pests and diseases. En: *Cacti: biology and uses*. Park S. Nobel (ed.). University of California Press. Berkeley, California. U.S.A. pp : 235-254.

IX. GLOSARIO

Alelo .- Una o mas formas que un gen puede tomar.

Deletereo .- Pérdida de un gen o parte de un cromosoma.

Cleistonogamia .- Reproducción asexual donde las flores se autopolinizan sin que la flor abra.

Clon .- Número de ramets que pertenecen al mismo genet.

Dicogamia .- Separación temporal de sexos.

Dioico .- Separación estricta de flores hembra y flores macho en plantas distintas que tienen entrecruza obligada.

Genet .- Individuo genético, resultado de la entrecruza de dos individuos genéticamente distintos.

Hercogamia .- Separación espacial de sexos.

Heterostilia .- Presencia de dos o más formas en la distribución en la altura en estambres y pistilos.

Pericarpelo .- Estructura de las cactáceas en las que el ovario se encuentra incluído en una prolongación del tallo con areolas.

Perianto .- Pétalos y sépalos, o tépalos de una flor. En cactáceas se denominan segmentos del perianto internos y externos.

Ramet .- Individuo fisiológicamente independiente de la planta madre pero con igual contenido genético.

Síndrome .- Un grupo de atributos coadaptados, o atributos que ocurren juntos en una condición particular.

Anexo 1. Metodología empleada para la cuantificación de viabilidad y conteo de polen.

Conteo de polen

1. Colecta de flores.
2. A cada flor se le cuenta la cantidad de anteras en un cuarto de la flor y se multiplica por 4 para tener el total de anteras en la flor.
3. Se coloca en 1ml alcohol al 70% (de farmacia) una antera nueva (cerrada pero madura) de preferencia en el momento de la antesis. Se pueden tomar varias anteras (5 por ejemplo) y revisarlas en el microscopio estereoscópico, y finalmente seleccionar la que este más intacta.
4. Romper la antera dentro del tubo y agitar el microtubos que contiene la antera en alcohol para homogeneizar los granos de polen que estén flotando.
5. Tomar con una micropipeta 100µl de alcohol con polen y depositarlo en un portaobjetos cuadrículado.
6. Contar en el microscopio estereoscópico todos los granos de polen con ayuda de un contador y multiplicar el resultado por 10 para conocer el número total de granos de polen por antera.

Material

1 litro de alcohol al 70% (farmacia), Micropipeta de 200µl y puntas, microtubos de 1.5ml, Portaobjetos cuadrículado, 2 agujas de disección, Vaso de precipitado de plástico de 250ml.

Viabilidad de polen (realizar el día de la colecta)

1. Se toma una antera de cada flor (de acuerdo a tus objetivos decides cuántas de cada flor) en flores que no estén visitadas (embolsar). Se pueden tomar varias anteras (5 por ejemplo) y revisarlas en el microscopio estereoscópico, y finalmente seleccionar la que este más intacta.
2. Se toma la antera y se decide si tomar una porción de la misma o utilizarla toda, se le agrega una gota de agua, se disgrega el contenido de la antera o porción de la misma en la caja petri y se le agrega una gota del colorante y esperar 1 minuto. (Colorante: Lactofenol - azul de anilina: Lactofenol: 20ml de fenol, 40ml glicerina, 20ml agua y 20 ml de ácido láctico. Para 100 ml lactofenol, agregar 1-5 ml de 1% de solución acuosa de azul de anilina, guardar en frasco ambar, preparar 1 semana antes).
3. El polen viable se tiñe de azul oscuro y el polen no viable de azul claro (es obvia la diferencia). Si el polen es rico en aceites el colorante no es muy eficiente, no tiñe adecuadamente. Creemos que en general el polen de *Opuntia* es rico en carbohidratos pero hacemos la aclaración.
4. Contar el número de granos viables y no viables y sacar la proporción. Ya que sacas proporciones lo importante es que seas sistemático en la porción de antera que usas.
5. Enjuagar la caja petri cada vez que se cuenta una antera.

Material

Caja petri de plástico, Guantes de látex, 2 medianos y 2 grandes (colorante cancerígeno), Colorante, 2 agujas de disección, Micropipeta, Puntas micropipeta, Contador, Tubos eppendorf.

Detalles importantes: Agitar el colorante hasta que se mezclen las 2 fases antes de usarlo y cuidado de no tener contacto con el colorante porque es cancerígeno, siempre usar guantes.

Bibliografía

- ♣ Kearns, C.A. y Inouye, D.W. 1993. *Techniques for Pollination Biologists*. University Press of Colorado.

Anexo 2. Los 7 tratamientos de polinización realizados en *Opuntia bradtiana*.

