



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA  
DE MÉXICO

---

---

FACULTAD DE CIENCIAS

SISTEMAS DE APAREAMIENTO EN *Neobuxbaumia  
tetetzo x Cephalocereus columna-trajani*  
(CACTACEAE) DE LA RESERVA DE LA BIÓSFERA  
DE TEHUACÁN-CUICATLÁN, PUEBLA.

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

B I Ó L O G O

P R E S E N T A:

MANUEL ANTONIO OCHOA SÁNCHEZ

DIRECTOR DE TESIS:

DRA. GUADALUPE JUDITH MÁRQUEZ GUZMÁN

2012





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.



UNIVERSIDAD NACIONAL  
AUTÓNOMA DE  
MÉXICO

FACULTAD DE CIENCIAS  
Secretaría General  
División de Estudios Profesionales

Votos Aprobatorios

**DR. ISIDRO ÁVILA MARTÍNEZ**  
**Director General**  
**Dirección General de Administración Escolar**  
**Presente**

Por este medio hacemos de su conocimiento que hemos revisado el trabajo escrito titulado:

**Sistemas de apareamiento en Neobuxbaumia tetetzo x Cephalocereus columna-trajani (Cactaceae) de la Reserva de la Biósfera de Tehuacán- Cuicatlán, Puebla.**

realizado por **Ochoa Sánchez Manuel Antonio** con número de cuenta **304501292** quien ha decidido titularse mediante la opción de **tesis** en la licenciatura en **Biología**. Dicho trabajo cuenta con nuestro voto aprobatorio.

Propietario	Dr. Juan Servando Núñez Farfán	
Propietario	Dra. Alma Delfina Lucia Orozco Segovia	
Propietario Tutora	Dra. Guadalupe Judith Márquez Guzmán	
Suplente	Dra. Sonia Vázquez Santana	
Suplente	M. en C. Karina Jiménez Durán	

Atentamente,  
"POR MI RAZA HABLARÁ EL ESPÍRITU"  
Ciudad Universitaria, D. F., a 29 de marzo de 2012  
EL JEFE DE LA DIVISIÓN DE ESTUDIOS PROFESIONALES

ACT. MAURICIO AGUILAR GONZÁLEZ

Señor sinodal: antes de firmar este documento, solicite al estudiante que le muestre la versión digital de su trabajo y verifique que la misma incluya todas las observaciones y correcciones que usted hizo sobre el mismo.

MAG/CZS/mdm

*A Jacquelinne, que me sabe leer como a un libro que se aprende de memoria. A Manuel, ese cómplice del que se aprende tanto.*

*A ambos, por la admiración que les tengo y porque no hay nada como sentirse orgulloso sabiéndose querido.*

*A mis amigos, esa familia que se adopta y que comparte conmigo todo este espinoso trayecto del día a día.*

*Al fin y al cabo, somos  
lo que hacemos para  
cambiar lo que somos.*

*Eduardo Galeano*

## Agradecimientos

Esta investigación fue realizada en el Laboratorio de Desarrollo en Plantas.

Facultad de Ciencias, UNAM.

Especialmente a la Dra. Guadalupe Judith Márquez Guzmán por la dirección de esta tesis, que con su calidez y generosidad enormes contagia la pasión por esta profesión, fundamental como motor de cualquier proyecto.

A mis sinodales, Dr. Juan Servando Núñez Farfán, Dra. Alma Delfina Orozco Segovia, Dra. Sonia Vázquez Santana y M. en C. Karina Jiménez Durán, por su valiosa orientación.

A la Dra. Margarita Collazo, por el apoyo, cariño y la agradable convivencia desde que ingresé al Laboratorio de Desarrollo en Plantas.

Agradezco al M. en C. Ricardo Wong, a la gente de Zapotitlán y del Jardín Botánico Helia Bravo Hollis, especialmente a Maurino Reyes (promotor turístico y cultural) y Joaquín Pacheco (comerciante y artesano de ónix), nuestros ojos en el matorral, por el tiempo, dedicación y las valiosas experiencias transmitidas en campo.

A los colegas que me acompañaron y fueron parte directa o indirecta de este proyecto, porque nadie conoce el vértigo hasta que sube seis metros de noche en una escalera, sobre un cactus y sin quejarse de las espinas.

# Índice

<b>Resumen</b> .....	1
<b>1. Introducción</b> .....	2
<b>2. Antecedentes</b> .....	4
2.1. <i>Familia Cactaceae</i> .....	4
2.2. <i>Género Neobuxbaumia</i> .....	8
2.3. <i>Género Cephalocereus</i> .....	8
2.4. <i>Neobuxbaumia tetetzo x Cephalocereus columna-trajani</i> .....	9
2.5. <i>Barreras reproductivas</i> .....	11
2.6. <i>Hibridación</i> .....	13
2.7. <i>Sistemas de apareamiento</i> .....	19
2.8. <i>El papel de los polinizadores en la evolución y el intercambio genético</i> .....	24
<b>3. Justificación</b> .....	27
<b>4. Objetivos</b> .....	28
<b>5. Materiales y métodos</b> .....	28
<b>6. Resultados</b> .....	35
<b>7. Discusión</b> .....	42
<b>8. Conclusiones</b> .....	51
<b>9. Bibliografía</b> .....	52
<b>10. Apéndice</b> .....	59

## Resumen

*Neobuxbaumia tetetzo* (F.A.C. Weber et J.M. Coulter) Backeberg. y *Cephalocereus columna-trajani* (Karwinsky Ex Pfeiffer) K. Shuman., son especies simpátricas de cactáceas columnares que pertenecen a la tribu Pachycereeae y se distribuyen en la región de Zapotitlán de las Salinas, Puebla. *Neobuxbaumia tetetzo* x *Cephalocereus columna-trajani* es un híbrido natural intergenérico que posee caracteres morfológicos considerados intermedios entre las especies mencionadas y es fértil, pues produce flores con polen viable, frutos y semillas.

El presente estudio evalúa el mecanismo reproductivo de la población mediante la determinación de su sistema sexual y tratamientos de exclusión de polinizadores.

Los resultados obtenidos sugieren que el híbrido *Neobuxbaumia tetetzo* x *Cephalocereus columna-trajani* es autoincompatible y la polinización es fundamental para la reproducción de la población. Asimismo, el sistema de apareamiento se limita a la alogamia, pues no se registró formación de semillas en los tratamientos de reproducción asexual (agamospermia), geitonogamia ni autofecundación.

# 1. Introducción

La familia Cactaceae es endémica de América y comprende aproximadamente 2000 especies. Aunque estas plantas se pueden encontrar a lo largo de un gradiente latitudinal que va desde los 59°N en Canadá, hasta la Patagonia argentina, a 52° de latitud Sur, y desde el nivel del mar, en las dunas costeras, hasta los 5100 m de altitud en Perú (Anderson, 2001), aproximadamente el 70% se ha establecido en las regiones áridas y semiáridas del continente (Becerra, 2000).

Cactaceae es una familia cuyos miembros presentan pocas barreras reproductivas para la hibridación (Machado, 2008). De esta forma, los híbridos cultivados experimentalmente son muy comunes (Hentzschel y Hentzschel, 2001; Mihalte *et al.*, 2008; 2010) y también existen híbridos naturales (Grant y Grant, 1971; Vite *et al.*, 1996; Baker y Pinkava, 1999; Font y Picca, 2001; Hernández *et al.*, 2002;; Rowley, 2004; Mota-Lambert *et al.*, 2006).

La hibridación es una de las principales fuerzas que modifican la evolución en plantas (Arnold, 2004) y no se restringe a organismos de la misma especie (hibridación interespecífica) sino que puede presentarse entre distintos organismos correspondientes a otros niveles taxonómicos (Machado, 2008).

La nomenclatura correspondiente para estos organismos es determinada por la dinámica de su hibridación, de manera que un híbrido **interespecífico** es aquel cuyas especies parentales pertenecen al mismo género, mientras que un híbrido **intergenérico** se refiere al organismo producto del cruzamiento de dos especies de géneros distintos.

Machado (2008) presenta una revisión de algunos híbridos intergenéricos reportados de la subfamilia Cactoideae, sin embargo, como mencionan Arias y Terrazas (2008), en Cactoideae los reportes de híbridos naturales intergenéricos en la tribu Pachycereeae, son escasos y sólo cuatro géneros que han hibridizado han sido descritos. Pese a la importancia de la hibridación en la evolución de plantas, el papel de ésta en la evolución de las cactáceas no ha sido muy estudiado, en parte debido a que suele estar asociada con deficiencias que imposibilitan la reproducción sexual, haciendo estéril a la progenie híbrida. Así, se le ha restado importancia al estudio de los híbridos y subestimando sus implicaciones evolutivas, restringiendo las investigaciones a los análisis sobre su morfología (Machado, 2008).

Además, el tiempo tan largo de sus ciclos de vida dificulta el análisis de generaciones posteriores.

La población analizada en el presente estudio es un híbrido natural intergenérico distribuido en la zona de contacto entre *Neobuxbaumia tetetzo* y *Cephalocereus columna-trajani* dentro de la Reserva de la Biósfera de Teuhacán-Cuicatlán, Puebla. A diferencia de muchos otros reportes de híbridos, cuya esterilidad es común, así como la rareza del establecimiento de sus poblaciones en estado natural (Machado, 2008), el híbrido *Neobuxbaumia tetetzo* x *Cephalocereus columna-trajani* produce frutos y semillas que germinan exitosamente, así como polen viable, de manera que no existe esterilidad en cuanto a la función masculina se refiere (Merino, 2011).

Referente a este híbrido se han realizado únicamente dos estudios, el primero en 1996 por Vite *et al.*, que ofrece una descripción morfométrica así como la comparación morfológica con las especies parentales; y un análisis embriológico y palinológico realizado por Merino, (2011) que refuta la esterilidad masculina del híbrido, propuesta como hipótesis de trabajo por Vite *et al.* (1996), sin embargo no se conocía si la producción de semillas del híbrido es por vía asexual (agamosperma) o sexual.

Una vez que fue comprobada la viabilidad del polen los individuos de la población (Merino, 2011) es posible ahondar en otro tipo de estudios sobre la biología reproductora de *Neobuxbaumia tetetzo* x *Cephalocereus columna-trajani* como especie independiente.

Insertado en este contexto, el presente estudio evalúa el sistema de apareamiento en la población de *Neobuxbaumia tetetzo* x *Cephalocereus columna-trajani* mediante tratamientos de exclusión de polinizadores y remarca la relevancia de su interacción con éstos.

Como mencionan Fleming *et al.* (2001), los cactus columnares de la tribu Pachycereeae resultan excelentes sistemas para analizar las condiciones de los sistemas sexuales basados en especialización de polinizadores, en función de la morfología floral y los periodos de antesis nocturna propio de estos organismos.

El eje central de este trabajo se fundamenta en la siguiente pregunta de investigación: ¿Cuál es el sistema de apareamiento de *Neobuxbaumia tetetzo* x *Cephalocereus columna-trajani*?

## 2. Antecedentes

### **2.1. Familia Cactaceae**

La familia Cactaceae se distribuye principalmente en regiones áridas y semiáridas de Norte y Sudamérica. Algunos géneros como *Opuntia* se localizan en gran parte del continente, sin embargo otras como los de las tribus Trichocereae y Notocactae tienen áreas de distribución limitadas a Sudamérica, mientras que Cactae y Pachycereae en Norteamérica principalmente (Gibson y Nobel, 1986; Barthlott y Hunt, 1993). La mayoría de las cactáceas tienen ciclos de vida muy largos, se desarrollan en una gran variedad de ambientes y presentan formas muy variadas: se ramifican o no, van desde lo globoso a lo columnar, arborescente y candelabriforme en términos de tipo de crecimiento de tallo, mientras que sus hábitos de crecimiento abarcan formas globosas solitarias, coloniales (cespitosas), trepadoras, epífitas o epilíticas (Anderson, 2001).

Hunt (1989) identificó 13 formas de crecimiento en cactáceas, sin embargo es complicado realizar una clasificación con base en estos caracteres porque se presentan en un rango de variación y diversidad muy amplio.

Las areolas son un carácter único en cactáceas. Anatómicamente son yemas axilares o laterales altamente modificadas, con respecto al resto de angiospermas, a partir de las cuales pueden brotar hojas laminares (subfamilia Pereskioideae), acúleos: hojas modificadas presentes en la mayoría de las cactáceas; lana o pelo, que brindan una superficie de absorción de humedad para muchas especies; o incluso flores, sin embargo no todas las areolas producen flores. La estructura floral de las cactáceas es única. Anatómicamente deriva del tallo, pues crece a partir del meristemo superior de la areola. Presenta sépalos y pétalos (perianto), androceo y gineceo, además de un pericarpelo que rodea el tejido del ovario. Las flores suelen ser hermafroditas con numerosos estambres y frecuentemente presentar cámara nectarial. Existen cuatro formas básicas que se pueden encontrar en las flores: campanular, tubular, hipocrateriforme e infundibuliforme.

El fruto en cactáceas corresponde no sólo al ovario maduro sino también al tejido medular del eje y el pericarpelo. Los frutos son muy variados en forma y tamaño. Algunos desarrollan lana o escamas y en ocasiones incluso areolas. El pericarpelo se compone de las paredes del ovario (desarrolladas) y lo que se encuentra en su interior: funículos desarrollados y semillas.

La familia Cactaceae agrupa 4 subfamilias: Pereskioideae (cactáceas con hojas laminares, es el grupo con el mayor número de caracteres primitivos), Opuntioideae (cactáceas con glóquidas y frecuentemente tallos aplanados o cladodios), Maihuenioideae (plantas con pequeñas hojas laminares y flores terminales) y Cactoideae.

### 2.1.1. *Cactáceas columnares de la subfamilia Cactoideae*

Cactoideae es un grupo monofilético (Terrazas y Arias, 2003) muy diverso en término de número de especies (cerca de 1600 en 105 géneros), así como en hábito y distribución. La primera clasificación de esta subfamilia fue propuesta por Buxbaum en 1958, e incluía 8 tribus: Cereae, Echinocactaeae, Echinocereae, Hylocereae, Leptocereae, Notocactaeae, Pachycereae y Trichocereae. Una de las clasificaciones más recientes es la de Anderson (2001), que agrupa las especies de Cactoideae en 9 tribus: Browningieae, Calymmantheae, Cereae, Cactaeae, Hylocereaeae, Notocactaeae, Pachycereaeae, Rhipsalideae y Trichocereaeae.

Los cactus columnares son plantas dominantes en zonas áridas y semiáridas que forman en ocasiones bosques con densidades mayores a 1200 individuos/ha. (Valiente-Banuet y Ezcurra, 1991). Según la clasificación de Anderson (2001), las cactáceas columnares se ubican en las tribus Browningieae, Cereae, Pachycereaeae y Trichocereaeae; comprenden cerca de 25 géneros y aproximadamente 170 especies (Fleming y Valiente-Banuet, 2002).

Ecológicamente las cactáceas columnares se asocian con animales para la polinización. Existen especies polinizadas por *Drosophila* y otros insectos o hasta aves. Estudios recientes han indicado que el mayor número de géneros de cactáceas columnares son polinizadas por murciélagos, en especial aquellas distribuidas en México y Venezuela.

La clasificación de la tribu Pachycereaeae ha sido una de las que han presentado menos modificaciones desde la propuesta de Buxbaum pese a que han sido reubicadas varias especies en las tribus propuestas. Desde 1958 los géneros *Neobuxbaumia* y *Cephalocereus* se encuentran agrupados en la tribu Pachycereaeae.

### 2.1.2. Tribu Pachycereeae

La tribu Pachycereeae es una de las nueve que conforman la subfamilia Cactoideae y comprende 175 especies agrupadas en 19 géneros (Anderson, 2001), de las cuales 119 se encuentran en México. La importancia de este grupo radica en que su radiación ocurrió primordialmente en México, y específicamente en el valle de Tehuacán-Cuicatlán, sitio donde habitan las especies con mayor número de caracteres plesiomórficos (Bravo-Hollis, 1978; Gibson y Nobel 1986).

Las especies de la tribu Pachycereeae se distribuyen desde el suroeste de los Estados Unidos, hasta México, Costa Rica y Venezuela, con poblaciones que llegan a los hábitats más secos, incluso de algunas islas y parte de la franja del mar Caribe (Bravo-Hollis, 1978; Gibson y Nobel, 1986) (Figs. 1 y 2).

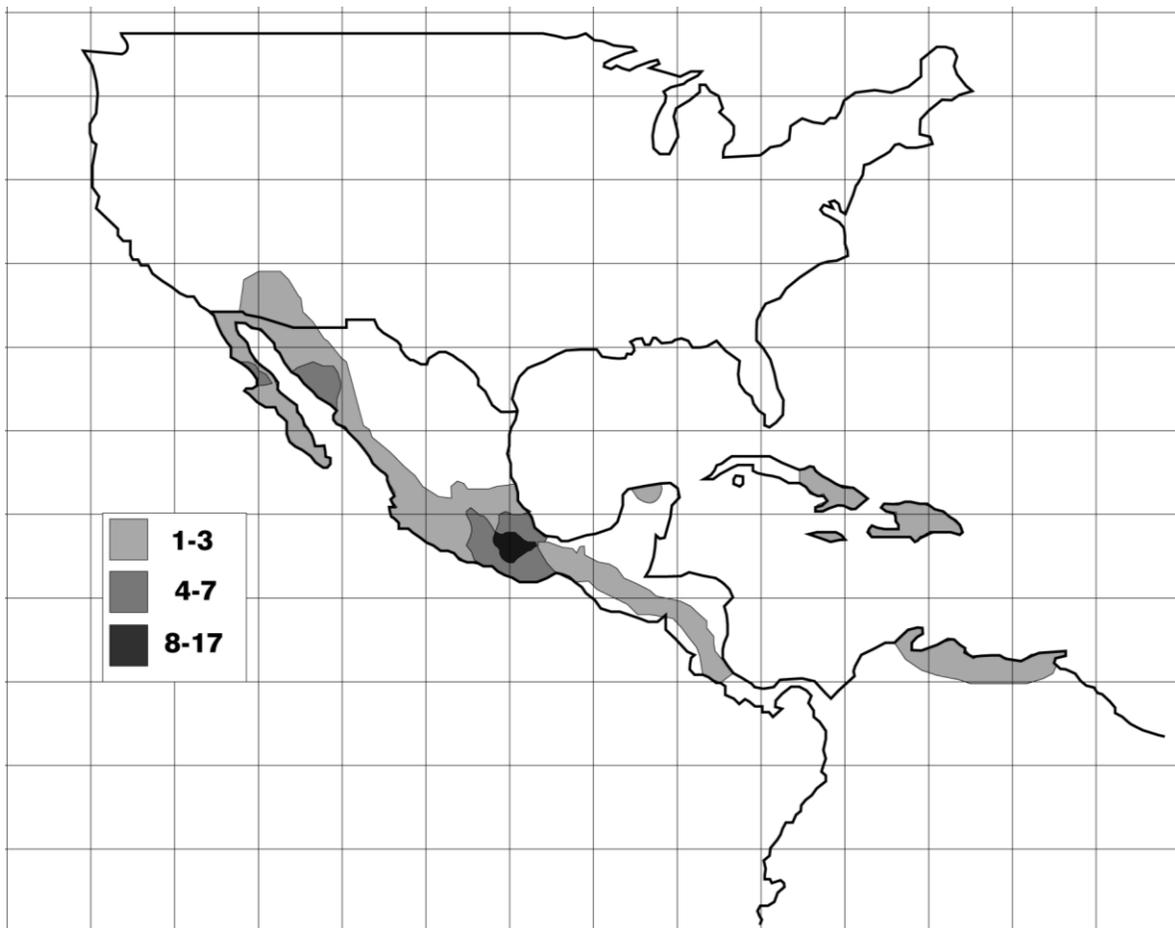
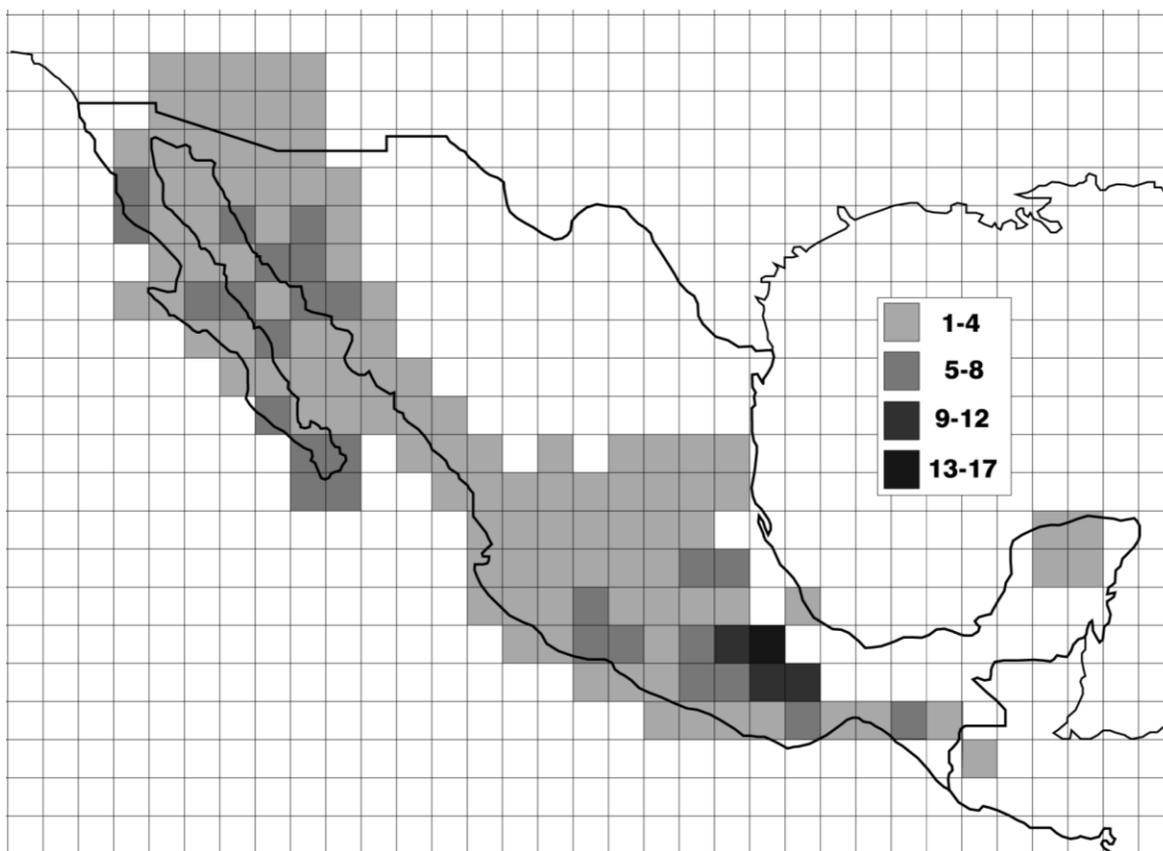


Figura 1. Distribución geográfica y número de especies de la tribu Pachycereeae. (Tomado de Dávila-Aranda *et al.*, 2002).

Aunque la distribución de los géneros de Pachycereeae alcanza un rango geográfico amplio, la mayor cantidad de especies se localiza en México. La riqueza florística de esta tribu se encuentra bien representada por el género *Neobuxbaumia*, con nueve especies, todas endémicas de México y *Cephalocereus*, con cinco especies, todas endémicas de México (Dávila-Aranda *et al.*, 2002).



**Figura 2. Distribución y número de especies de Pachycereeae en México. (Tomado de Dávila-Aranda *et al.*, 2002).**

Los tipos de vegetación asociados a las especies de esta tribu, según Bravo-Hollis (1978) incluyen al matorral xerófilo, el bosque tropical deciduo, matorral y bosque espinoso.

Las plantas de esta tribu son por lo general grandes, arbóreas o arbustivas, sus flores crecen en las regiones laterales, subapicales o a partir de cefalios y suelen ser nocturnas (Anderson, 2001). Los géneros que constituyen a la tribu Pachycereeae sensu Anderson (2001) son: *Acanthocereus*, *Bergerocactus*, *Carnegiea*, *Cephalocereus*, *Corryocactus*, *Dendrocereus*, *Echinocereus*, *Escontria*, *Isolatocereus*, *Leptocereus*, *xMyrtgerocactus*, *Myrtillocactus*, *Neobuxbaumia*, *xPacherocactus*, *Pachycereus*, *Peniocereus*, *Polaskia*, *Pseudoacanthocereus* y *Stenocereus*.

## **2.2. Género *Neobuxbaumia***

*Neobuxbaumia* Backeb. es un género que incluye 9 especies de plantas columnares solitarias o ramificadas, de entre 7 y 15 m de altura. Con costillas numerosas, de 14 a 30. Areolas distantes 1 a 2.5 cm entre sí. Algunas especies forman un pseudocefalio (*N. scoparia* y *N. euphorbioides*). Flores cilíndrico-campanuladas, de 5 cm de longitud, dispuestas a lo largo de toda la costilla o apicales y subapicales, nocturnas o nocturnomatutinas, polinizadas por murciélagos principalmente. El pericarpelo tiene podarios prominentes, pequeños, provistos de nectarios extraflorales. Cámara nectarial amplia, semicerrada por la base de los estambres primarios o por una membrana. Fruto verdoso a rojo, recubierto con podarios, con dehiscencia irregular, pulpa blanca, carnosa, pero no jugosa. Semillas brillantes y negras (Scheinvar, 2004). La distribución de las 9 especies es desde el sur de Tamaulipas hasta la mitad norte de Veracruz y en la vertiente del Pacífico, desde el sur de Jalisco, Colima, Guerrero, Puebla y hasta Oaxaca (Scheinvar, 2004). El género *Neobuxbaumia* es utilizado como alimento (flores y frutos) y los tallos como madera para techar casas (Luna y Aguirre, 2001).

### **2.2.1. *Neobuxbaumia tetetzo* (F. A. C. Weber et J. M. Coulter) Backeberg**

Plantas columnares, frecuentemente ramificadas hasta con 16 ramas. Pueden alcanzar los 15 m de altura. El color del tallo es verde grisáceo, presenta entre 15 y 20 costillas. Comúnmente con espina central, oscura de hasta 5 cm de longitud. Las flores, campanulares blancas, de antesis nocturna, crecen apicalmente. Los frutos son ovoides de aproximadamente 4 cm, alargados, verdes y espinosos. Su distribución está restringida a los estados de Puebla y Oaxaca (Anderson, 2001).

## **2.3. Género *Cephalocereus***

*Cephalocereus* Pfeiff. es un género de cactáceas columnares, erectas, ramificadas o no, de entre 10 y 12 m de alto. Los tallos tienen un diámetro hasta de 40 cm, de color verde claro. Entre 12 y 30 costillas, areolas dimórficas. Las flores se producen en un pseudocefalio y presentan antesis nocturna, pueden ser tubulares o campanulares, con areolas que producen lana. Frutos ovoides ligeramente cubiertos de lana, perianto persistente. Semillas negras. Se distribuyen en el centro, sur y sureste de México en los estados de Puebla, Oaxaca, Hidalgo, Chiapas y Guanajuato (Anderson, 2001).

### 2.3.1. *Cephalocereus columna-trajani* (Karwinsky Ex Pfeiffer) K. Shumann

Plantas columnares sin ramificación de entre 6 y 10 m de alto. Tallos verdes de 40 cm de diámetro. Presentan entre 16 y 26 costillas. Areolas blancas con lana en la región apical del tallo. Espinas radiales entre 14 y 18, blancas de hasta 1 cm de largo. Pseudocefalio lateral inclinado al norte de color amarillento. Las flores tubulares o campanulares blancas o amarillo pálido, aromáticas. Se distribuye en Puebla (Anderson, 2001).

### **2.4. *Neobuxbaumia tetetzo* x *Cephalocereus columna-trajani***

Como mencionan Vite *et al.* (1996) desde 1988 se habían realizado observaciones a partir de las cuales se halló que en la zona de contacto de *Neobuxbaumia tetetzo* y *Cephalocereus columna-trajani* se encontraban individuos “anómalos” que presentaban caracteres morfológicos intermedios entre estas dos especies. Uno de los caracteres clave para dicha identificación fue el cefalio apical que cubría a los individuos observados, mismo que morfológicamente resultaba similar al pseudocefalio lateral de *C. columna-trajani* pero en menor densidad.

Anatómicamente los híbridos son plantas columnares que ramifican ocasionalmente en un patrón similar al de *C. columna-trajani*, y como se mencionó anteriormente, presenta un cefalio apical similar en forma al de *C. columna-trajani*, pero no en función, es decir, a diferencia de esta especie parental, las flores no se desarrollan insertas en el cefalio, sino que éstas se crecen en la región apical del tallo de forma superficial, como ocurre en *N. tetetzo*. Por lo tanto no existen estructuras especializadas para la reproducción (Vite *et al.*, 1996).

El cuadro 1 compara los principales caracteres morfológicos de ambas especies parentales así como los del híbrido. Se puede observar que en términos de ramificación, el híbrido presenta mayor similitud a *C. columna-trajani* por la poca ramificación del tallo principal, así como el color (carácter que no fue determinado en el cuadro por Vite y sus colaboradores (1996), sin embargo, a partir de observaciones posteriores, se puede concluir que la tonalidad del tallo es pálida y se asemeja más al color que presenta *C. columna-trajani*). A partir de esta comparación se observa claramente que, en los caracteres morfológicos considerados, el híbrido resulta un estado morfológico intermedio: En promedio tiene más costillas que *N. tetetzo*, pero menos que *C. columna-trajani* y más areolas/cm que *N. tetetzo*, pero menos que *C. columna-trajani*.

**Cuadro 1. Comparación morfológica de *Neobuxbaumia tetetzo* x *Cephalocereus columna-trajani* y sus especies parentales (Tomado de Vite *et al.*, 1996).**

<b>Característica</b>	<b><i>Neobuxbaumia tetetzo</i> (n=60)</b>	<b>Híbridos (n=30)</b>	<b><i>Cephalocereus columna-trajani</i> (n=60)</b>
<b>Morfología general</b>	Columnar en individuos jóvenes.  Forma candelabroforme conforme crece la planta por la ramificación del tallo principal.	Columnar en individuos juveniles y maduros. En algunas ocasiones presenta ramificaciones de estructura y origen similares a <i>C. columna-trajani</i> .	Típicamente columnar con ramificaciones ocasionales, principalmente en casos de daño mecánico.
<b>Número de ramas mayores a 50 cm por individuo (Rango; media; D.E.)</b>	0-21; 3.38 ± 4.13.	0-10; 1.8 ± 2.9.	0-4; 0.32 ± 0.87.
<b>Número de costillas a 1.5 m de alto (Rango; media; D.E.)</b>	12-18; 14.8 ± 1.11.	17-23; 19.47 ± 1.57.	22-31; 25.75 ± 2.26.
<b>Areolas/cm a 1.5 m. (Media; D.E.)</b>	0.487 ± 0.056.	0.674 ± 0.07.	0.859 ± 0.085.
<b>Estructuras especializadas para la reproducción</b>	No.	No, sin embargo existe una capucha de pelo gris en la parte superior del tallo similar a un pseudocefalio.	Pseudocefalio, <i>i.e.</i> areolas con marcada pubescencia en la región lateral-apical del tallo a partir de las cuales se desarrollan las flores.
<b>Inclinación del tallo</b>	No.	No.	Sí.
<b>Color</b>	Verde olivo claro.	Indefinido.	Verde azulado pálido.

## **2.5. Barreras reproductivas**

La transferencia de polen entre especies suele ser uno de los primeros requisitos para la hibridación (Wesselingh y Arnold, 2000), sin embargo este evento no es suficiente para la formación de organismos híbridos. La incidencia de este evento ecológico en una población y la subsecuente hibridación no sólo depende de la transferencia de polen. Existen mecanismos desarrollados por las poblaciones que limitan la reproducción solamente a organismos estrechamente relacionados genéticamente, haciendo inviables muchas cruzas con organismos de diferente especie o género, lo que evita la formación de híbridos que alcancen un aislamiento con respecto a los parentales.

Tales mecanismos se denominan barreras reproductivas, y se clasifican en función del momento en el que actúan con respecto a la fecundación. Los mecanismos que evitan el cruzamiento o la fecundación, reduciendo la probabilidad de que se forme un cigoto viable, se denominan precigóticos, mientras que los que actúan a partir de la reducción de viabilidad o fertilidad del cigoto híbrido son postcigóticos (Rieseberg y Carney, 1998). En plantas, los mecanismos de aislamiento suelen dividirse en las categorías de pre y post-polinización. Las barreras reproductivas que operan para prevenir la transferencia de polen tienden a reducir en mayor medida el flujo genético en comparación con aquellas que operan después de la fecundación (Rieseberg y Willis, 2007; Tiffin *et al.*, 2001; Turelli *et al.*, 2001).

### *2.5.1. Barreras precigóticas*

Los mecanismos de aislamiento precigóticos comprenden: a) barreras geográficas (organismos cuyo cruzamiento es impedido por diferencias en su localización), b) temporales (como los que derivan de diferencias en la fenología) y etológicas (asociadas frecuentemente con polinizadores cuyas preferencias y comportamiento no favorece el intercambio de polen entre plantas de especies distintas). Los ejemplos anteriores han sido denominados *barreras previas a la polinización* (Rieseberg y Willis, 2007) debido a que dificultan el contacto entre el polen y el estigma; sin embargo, existe otro grupo de barreras reproductivas precigóticas que ocurren después de que la polinización se ha efectuado, como son las barreras gaméticas frente a la hibridación. El estudio de este tipo de barreras se ha realizado mediante análisis de competencia polínica y crecimiento de tubo polínico (Carney *et al.*, 1994). Los resultados de estos experimentos sugieren que, cuando en la naturaleza la polinización y otros factores provocan que exista una mezcla de polen de

diferentes especies, existirá una competencia en términos de velocidad de crecimiento y longitud de tubo polínico, favoreciendo al polen más cercano genéticamente a la planta cuyo estigma recibe ese polen. Una de las principales barreras precigóticas es la separación por hábitat, pues limita el flujo genético entre plantas, sin embargo, en ocasiones algunas especies relacionadas cuyos hábitats se encuentran separados, son capaces de presentar eventos de hibridación si entran en contacto. Otras barreras precigóticas incluyen aquellas debidas a diferencias en la fenología o servicios de polinizador: Especies con patrones de floración distintos (es decir, separación temporal de la floración) ya sea por temporada (estación o mes del año), o por antesis, limitarán su cruzamiento. En términos del polinizador, otra barrera precigótica es aquella que, debido a diferencias en estructura y morfología floral, se limita el cruzamiento (Grant, 1981). El mecanismo más común de aislamiento en plantas es la incompatibilidad gametofítica: un mecanismo precigótico que evita la fecundación de óvulos por el polen de especies diferentes.

#### 2.5.2. *Barreras postcigóticas*

Aquellos mecanismos que operan después de la fecundación se denominan postcigóticos. Éstos pueden actuar reduciendo la viabilidad del híbrido formado, provocando esterilidad o incluso afectando a la población híbrida en sucesivas generaciones, con la formación de primeras generaciones ( $F_1$ ) fértiles y vigorosas, pero descendencia ( $F_2$  y sucesivas) con individuos frágiles ecológicamente o inviables (Rieseberg y Carney, 1998).

Aunque las barreras reproductivas individuales pueden surgir en tiempos cortos, la mayor cantidad de especies permanecen separadas por un gran número de barreras, lo que implica que una completa especiación requiere, por lo general, miles de generaciones. Una de las más notables excepciones a esto son los casos de especiación mediante hibridación, a partir de la cual las especies pueden aislarse de las parentales en menos de 60 generaciones (Rieseberg y Willis, 2007). Los resultados de los mecanismos de aislamiento postcigóticos se manifiestan de distinta forma. Las semillas formadas pueden detener su desarrollo, en ocasiones debido a que el endospermo del híbrido degenera y no es capaz de nutrir de forma suficiente al embrión en crecimiento (Grant, 1981). Otra barrera, quizás una de las más comunes en híbridos, es la esterilidad, la cual puede manifestarse en distintas etapas, ya sea mediante la imposibilidad de producir polen u óvulos viables, o el aborto de embriones y la formación de semillas inviables (Stace, 1980).

## **2.6. Hibridación**

Un híbrido es aquel organismo originado a partir de eventos de fecundación cruzada entre individuos de diferentes linajes (Machado, 2008). Harrison (1990), menciona que un híbrido es la descendencia entre individuos de poblaciones *que son distinguibles con base en uno o más caracteres heredables*.

Aunque la hibridación no se restringe a cierto nivel taxonómico, es importante considerar que mientras más alejados filogenéticamente se encuentren los organismos que se entrecruzan, es menos probable que la cruce sea exitosa.

Los híbridos naturales se forman si dos individuos de diferentes linajes: 1) coexisten en la naturaleza y 2) son viables en términos reproductivos (Machado, 2008), o dicho de otra manera, un híbrido se forma cuando no existen barreras reproductivas tan rígidas que impidan el cruzamiento. Aunado a lo anterior, el polen de un individuo debe ser capaz de germinar en el estigma heteroespecífico, crecer a través del estilo y fecundar el óvulo; el embrión se debe desarrollar completamente y producir semilla viable que pueda germinar (Ellstrand *et al.*, 1999).

Las barreras reproductivas se presentan en una amplia gama de variantes que van desde ecológicos como la diferencia de polinizadores, hasta aspectos de la biología de los linajes, como la morfología floral, hábito y la fenología. Estos factores pueden combinarse de distintas maneras y dar como resultado organismos híbridos (en el caso de que las especies coexistentes compartan polinizador y su estructura floral y fenología coincidan), o bien, fortalecer las barreras reproductivas.

Arnold (2004) y Crawford (2010) han mencionado que en prácticamente todos los casos, el análisis morfológico resulta un primer paso en la identificación de una población híbrida. Aunque la progenie resultante de la cruce de dos linajes distintos suele presentar caracteres morfológicos intermedios entre las especies parentales, se ha observado que los híbridos pueden tener una gama de caracteres de ambos parentales, incluso caracteres únicos.

Es importante, por lo tanto, que este primer acercamiento a la identificación de poblaciones híbridas (el morfológico) se sustente con estudios de otro tipo (filogenéticos, moleculares o citogenéticos), pues en ocasiones es engañoso asumir eventos de hibridación basándose únicamente en caracteres morfológicos (Rieseberg, 1992).

La primera descripción de *Neobuxbaumia tetetzo* x *Cephalocereus columna-trajani* es un ejemplo de lo anterior: se hallaron caracteres morfológicos intermedios de ambos parentales en individuos que inicialmente fueron identificados como *anómalos*, para los cuales se supuso su esterilidad y posteriormente estudios embriológicos permitieron refutar dicha hipótesis (Merino, 2011). Además del análisis morfológico, existen otros métodos para suponer la existencia de híbridos. Uno de ellos es el análisis cariotípico. Según estudios realizados por Baker y Pinkava (1987) y Powell *et al.* (1991) en Cactaceae, si las especies parentales presentan diferencias en el número cromosómico, es posible que los híbridos tengan un número cromosómico equivalente a la suma de los parentales; es decir, si por ejemplo  $n=11$  y  $n=22$  para los parentales, el híbrido puede ser un  $n=33$ .

Otros métodos, quizás los más confiables, son las técnicas moleculares. Algunos de los métodos más utilizados, y que inicialmente fueron desarrollados para realizar estudios a nivel poblacional sobre variación genética, son los de microsatélites (Otero-Arnaiz *et al.*, 2004) y otros cuyo principio estriba en identificar determinadas regiones en el DNA (loci) y sus formas de expresión (alelos). Si ambas especies parentales poseen loci monomórficos (loci que expresan siempre un mismo alelo) que sean específicos, es decir, aquellos que estén presentes en todas las muestras de dichas especies y ausentes en las de otras, la presencia de tales loci en los parentales y el híbrido, confirmarían una relación entre las poblaciones estudiadas, lo que podría llevar a concluir sobre el origen híbrido de alguna de ellas (Rieseberg y Ellstrand, 1993; Wolfe *et al.*, 1998; Zhou *et al.*, 2005). Si el proceso de hibridación es reciente, el híbrido poseerá los loci monomórficos de ambos parentales, y no presentará loci exclusivos. Por otra parte, mientras más tiempo haya pasado desde que se produjo la hibridación, existirán menos loci monomórficos de las especies parentales en el genoma del híbrido (Machado, 2008).

Vite y sus colaboradores (1996) sugirieron que en la zona de contacto de *Neobuxbaumia tetetzo* y *Cephalocereus columna-trajani* en la región de Zapotitlán de las Salinas, Puebla, se encontraba una población de individuos que presentaban caracteres intermedios entre dichas especies y con base en esa observación y un posterior análisis morfométrico, concluyeron la existencia de un híbrido entre ambas, al que se refirieron como *Neobuxbaumia tetetzo* x *Cephalocereus columna-trajani*.

La interacción entre genes de especies parentales puede resultar en progenie híbrida, parte de la cual posiblemente no alcance la madurez debido a su baja adecuación (Barton y Hewitt, 1985) o bien, si lo hace, puede resultar infértil (Arnold, 2004). Estos han sido los principales argumentos a partir de los cuales se considera que, en ocasiones, la hibridación no tiene consecuencias evolutivas, ya que comprende generaciones de  $F_1$  que no permiten el establecimiento de futuras generaciones. Sin embargo, incluso considerando la infertilidad, es posible que el híbrido se establezca como población si es capaz de reproducirse vegetativamente e incluso mantenerse como especie clonal (Machado, 2008), o como mencionan Arnold y Hodges (1995), que se formen generaciones híbridas posteriormente (aún si la  $F_1$  presenta infertilidad y baja adecuación) si existen condiciones que representen nuevas oportunidades para la hibridación. Es decir, el hecho de que la primera generación híbrida presente infertilidad no implica que la hibridación posterior sea improbable, como se ha observado en *Helianthus* (Heiser, 1951; Arnold y Hodges, 1995; Arnold, 2004).

Es importante remarcar que la hibridación no es un evento que evolutivamente esté “condenado” es decir, que los híbridos no suelen ser favorecidos adaptativamente (Grant, 1981), por el contrario, la gran variabilidad que se ha encontrado en los sistemas híbridos, apoya la idea de que es una alternativa más para la competencia y adaptación de las plantas (Rieseberg y Carney, 1998).

Algunas familias y géneros de angiospermas son más susceptibles a formar híbridos. Las características asociadas a los procesos de hibridación incluyen el hábito perenne, sistemas sexuales de fecundación cruzada y eventos de reproducción asexual que permiten la estabilización de las poblaciones híbridas (Anamthawat-Jónsson, 2001).

Se ha demostrado que la familia Cactaceae presenta una gran predisposición para la hibridación intergenérica o interespecífica, lo que permite suponer que presenta un escaso desarrollo de barreras reproductivas ya sea precigóticas o postcigóticas (Machado, 2008).

#### 2.6.1. Zonas híbridas

Las zonas híbridas se caracterizan generalmente por ser regiones en forma de bandas estrechas, donde las poblaciones genéticamente diferenciadas se encuentran, se entrecruzan y producen híbridos (Jiggins y Mallett, 2000). El área que ocupan las zonas híbridas puede ser muy variada, y su importancia radica en que el análisis de dichas regiones permite estudiar aquellos caracteres y procesos genéticos que pueden estar involucrados en

situaciones de divergencia evolutiva y finalmente en la especiación de los organismos (Kohlmann, 1993).

Las zonas híbridas tienden a ser difusas (Harrison, 1993) es decir, suelen no estar geográficamente delimitadas con claridad. Con frecuencia su estructura es compleja, y podría caracterizarse por parches en término de distribución de las especies. Frecuentemente se ha interpretado zona híbrida como un sinónimo de clina, que se refiere a uno o varios gradientes de un carácter fenotípico medible (Barton y Hewitt, 1985).

La mayoría de los ejemplos de zonas híbridas, conocidos y estudiados, sugieren que el mecanismo de balance estable entre dispersión y selección es el más común. Las zonas híbridas pueden permanecer estables por mucho tiempo, aunque el origen de algunas de ellas parece ser muy reciente (Kohlmann, 1993).

La formación de tipos recombinantes dentro de las zonas híbridas permite el análisis detallado de las bases genéticas de la diferenciación. Análisis como los realizados mediante alozimas, o morfológicos y fisiológicos, pueden mostrar la manera en que se establecen nuevos genes y genomas y así proponer mecanismos de especiación. A pesar de que muchas de estas zonas han sido estudiadas en detalle, la mayoría de los análisis se ha centrado en diferentes aspectos genéticos, y muy pocos han investigado la relación que guardan estas zonas con factores ecológicos (Kohlmann, 1993).

### 2.6.2. *Introgresión*

El flujo genético ocurre cuando los genes de una población se mueven hacia el *pool* génico de otra población (Futuyma, 1998). La introgresión es el flujo genético entre especies o poblaciones altamente diferenciadas genéticamente (Rieseberg y Wendel, 1993), y es en ocasiones el resultado del retrocruzamiento (Avice, 1994). En poblaciones híbridas establecidas, el retrocruzamiento (en este caso la cruce de un individuo híbrido con alguno de sus parentales) podría dar idea de la introgresión presente en las poblaciones, pues a partir de las retrocruzas, el polen híbrido puede fecundar óvulos de las especies parentales correspondientes.

Una manera de evaluar si ocurre introgresión en una población es analizar los patrones de variación espacial: si un alelo característico de una especie se encuentra en otra, con su mayor frecuencia cerca de la zona híbrida, es probable que la introgresión haya ocurrido (Harrison, 1990).

La introgresión puede dar como resultado un aumento en la diversidad genética. Las poblaciones introgresivas tendrían alelos de ambos parentales en genotipos únicos y por lo tanto, las poblaciones resultantes de la introgresión deberían mostrar mayores niveles de diversidad genética con respecto a las poblaciones parentales.

### 2.6.3. Hibridación en cactáceas

Se han registrado numerosas publicaciones dedicadas al estudio de híbridos y su identificación. Merino (2011) realiza una revisión de las publicaciones sobre híbridos intergenéricos reportados en Cactaceae desde la década de 1980 (cuadro 1) así como los reportes de híbridos interespecíficos reportados en la familia (cuadro 2).

**Cuadro 2. Híbridos intergenéricos de la familia Cactaceae (Tomado de Merino, 2011).**

Híbrido	Progenitores	Referencia
<i>Cleistocana mirabilis</i>	<i>Cleistocactus fieldianus</i> y <i>Matucana supertexta</i> .	Rowley (1994 citado en Hunt, 1999)
<i>xEspostocactus</i>	<i>Cleistocactus icosagomus</i> y <i>Esposota lanata</i> .	Mottram (1990 citado en Hunt, 1999)
<i>xHaagespostoa albisetata</i>	<i>Haageocereus pseudomelanostele</i> y <i>Esposota melanostele</i> .	Rowley (1982), Hunt (1999), Anderson (2001)
<i>xHeliochia vandessi</i>	<i>Heliocereus speciosus</i> y <i>Nopalxochia phyllanthoides</i> .	Hawkes (1982)
<i>xMyrtgerocactus lindsayi</i>	<i>Bergerocactus emoryi</i> y <i>Myrtillocactus cochal</i> .	Morán (1962), Hunt (1999), Anderson (2001)
<i>xPacherocactus orcuttii</i>	<i>Pachycereus pringley</i> y <i>Bergerocactus emoryi</i> .	Rowley (1982), Hunt (1999), Anderson (2001)
<b><i>Neobuxbaumia tetetzo</i> x <i>Cephalocereus columna-trajani</i></b>	<b><i>Neobuxbaumia tetetzo</i> y <i>Cephalocereus columna-trajani</i>.</b>	<b>Vite et al. (1996)</b>
<i>xMyrtillocereus</i>	<i>Myrtillocactus geometrizarans</i> y <i>Stenocereus dumortieri</i> .	Glass y Foster (1964), en Arias y Terrazas (2008), Rowley (2004)
<i>xPachebergia apicicostata</i>	<i>Pachycereus pecten-aboriginum</i> y <i>Backebergia militaris</i> .	Arias y Terrazas (2008)

**Cuadro 3. Híbridos interespecíficos de la familia Cactaceae (Tomado de Merino, 2011).**

<b>Híbrido</b>	<b>Progenitores</b>	<b>Referencia</b>
<i>Arrojadoa x albiflora</i>	<i>A. Dinae x A. rhodantha</i>	Hunt (1999), Anderson (2001)
<i>Cleistocactus x cassiserpens</i>	<i>C. serpens x C. icogagonus</i>	Hunt (1999), Anderson (2001)
<i>Disocactus x hybridus</i>	<i>D. phyllanthoides x D. speciosus</i>	Anderson (2001)
<i>D. x mallisonii</i>	<i>D. flagelliformis x D. speciosus</i>	Anderson (2001)
<i>D. x violaceus</i>	<i>D. eckermanii x D. speciosus</i>	Anderson (2001)
<i>Echinocereus x X. roetteri</i>	<i>E. coccineus x E. dasyacanthus</i>	Hunt (1999), Anderson (2001)
<i>Echinopsis x cabreræ</i>	<i>E. strigosa x E. tersheckii</i>	Hunt (1999), Anderson (2001)
<i>Hattoria x graeseri</i>	<i>H. gaertneri x H. rosea</i>	Hunt (1999), Anderson (2001)
<i>Melocactus x albicephalus</i>	<i>M. ernestii x M. glaucescens</i>	Taylor (1991), Hunt (1999)
<i>M. x horridus</i>	<i>M. ernestii x M. glaucescens</i>	Taylor (1991), Hunt (1999)
<i>Opuntia x aequatorials</i>	<i>O. pubescens x Opuntia soederstromiana</i>	Hunt (1999)
<i>O. x bakeri</i>	<i>O. pubescens x Opuntia soederstromiana</i>	Madsen (1989)
<i>O. x berchiniana</i>	<i>O. humifusa x O. stricta</i>	Hunt (1999)
<i>O. x columbiana</i>	<i>O. fragilis x polyacantha var. polyacantha</i>	Anderson (2001)
<i>O. x congesta</i>	<i>O. acanthocarpa x O. whipplei</i> <i>O. acanthocarpa var. thornberi x O. whipplei</i>	Hunt (1999), Anderson (2001)
<i>O. x curvensis</i>	<i>O. dillenii x O. militaris</i> <i>O. militaris x O. stricta</i>	Hunt (1999), Anderson (2001)
<i>O. x curvispina</i>	<i>O. clorotica x O. pinaeacantha</i>	Hunt (1999), Anderson (2001)
<i>O. x deserta</i>	<i>O. acanthocarpa var. coloradensis x O. echinocarpa</i>	Anderson (2001)
<i>O. x forsbergii</i>	<i>O. bigelovii x O. echinocarpa</i>	Hunt (1999), Anderson (2001)
<i>O. x kelvinensis</i>	<i>O. fulgida x O. spinosior</i>	Hunt (1999), Anderson (2001)
<i>O. x lucayana</i>	<i>O. dillenii x O. nashii</i>	Hunt (1999), Anderson (2001)
<i>O. x multigeniculata</i>	<i>O. echinocarpa x O. whipplei</i>	Hunt (1999), Anderson (2001)
<i>O. x neaorbuscula</i>	<i>O. arbuscula x O. spinosior</i>	Hunt (1999), Anderson (2001)
<i>O. x occidentalis</i>	<i>O. engelmannii x O. phaeacantha</i>	Anderson (2001)
<i>O. x prolifera</i>	<i>O. alcahes x O. cholia</i>	Mayer <i>et al.</i> (2001)
<i>O. x quipa</i>	<i>O. inamoena x O. palmadora</i>	Hunt (1999)
<i>O. x spinosibacca</i>	<i>O. eureispina x O. phaeacantha</i>	Hunt (1999), Anderson (2001)
<i>O. x tetracantha</i>	<i>O. acanthocarpa var. major x O. leptocaulis</i>	Anderson (2001)
<i>O. x vaseyi</i>	<i>O. littoralis x O. phaeacantha</i>	Hunt (1999), Anderson (2001)
<i>O. x viridiflora</i>	<i>O. imbricata x O. whipplei</i>	Hunt (1999), Anderson (2001)
<i>O. x vivípara</i>	<i>O. arbuscula x O. versicolor</i>	Hunt (1999), Anderson (2001)
<i>O. x wootoni</i>	<i>O. engelmannii x O. phaeacantha</i>	Anderson (2001)
<i>Pilosocereus x subsimilis</i>	<i>P. magnificus x P. floccosus spp. cuadricostatus</i>	Hunt (1999)
<i>Schiumbergera x buckleyi</i>	<i>S. russeliana x S. truncata</i>	Hunt (1999), McMillan y Horobin (1995, citado en Anderson, 2001)
<i>S. x exótica</i>	<i>S. opuntioides x S. truncata</i>	Hunt (1999), McMillan y Horobin (1995, citado en Anderson, 2001)
<i>S. x reginae</i>	<i>S. orssichiana x S. truncata</i>	Anderson (2001)
<i>Tacinga x quipa</i>	<i>T. inamoena x T. palmadora</i>	Stuppy y Taylor (2001)
<i>T. x mombergii</i>	<i>T. lavix x T. pseudopotinatus</i>	Anderson (2001)
<i>Trichocereus x mendocinus</i>	<i>T. candicans x T. strigosus</i>	Méndez (2000)
<i>Turbincarpus mombergerii</i> x	<i>T. laui x T. pseudopectinatus</i>	Hunt (1999)

## ***2.7. Sistemas de apareamiento***

Las plantas vasculares presentan una gran variedad de historias de vida, formas de crecimiento y especializaciones fisiológicas, pero también una asombrosa variedad de formas de reproducción determinadas por diferencias estructurales, fisiológicas y ecológicas (Holsinger, 2000). Esta diversidad de sistemas reproductivos está bien representada en las angiospermas, donde se pueden encontrar grupos con mecanismos que promueven tanto la fecundación cruzada obligada como la autogamia y la reproducción asexual (Grant, 1989). Los sistemas reproductivos tienen consecuencias directas sobre la estructura genética de las especies, que se puede resumir como la identidad y frecuencia de genotipos al interior de una población y la distribución de estos mismos genotipos entre poblaciones. La estructura genética depende directamente de los patrones de intercambio genético entre individuos y entre poblaciones, y por lo tanto de las características reproductivas (Schöen y Brown, 1991).

Las formas de reproducción en angiospermas pueden dividirse en tres grandes grupos de acuerdo con los mecanismos que siguen los individuos para transmitir su material genético, y a la relación genética que existe entre los progenitores y sus descendientes: la reproducción por alogamia, la reproducción por autogamia (dentro de la cual también se incluye a la geitonogamia) y la reproducción asexual (Luna-Ramos, 2010).

Alogamia, autogamia y geitonogamia corresponden a formas sexuales de reproducción, mientras que los distintos tipos de apomixis, a formas asexuales (Liedl y Anderson, 1993).

### ***2.7.1. Reproducción sexual***

La reproducción sexual en plantas es la formación de nuevos individuos a partir de la singamia, es decir, la fusión de gametos. Dicha fusión se puede dar a partir de distintos mecanismos y depende de la compatibilidad de las plantas. Las especies autocompatibles son capaces de formar frutos y semillas a partir de la fusión de gametos con la misma carga genética (autofecundación), mientras que las autoincompatibles requieren, para la formación de frutos y semillas por vías sexuales, polinización cruzada.

### 2.7.1.1. *Alogamia*

La alogamia, o fecundación a partir de polinización cruzada, es la vía por la cual se da la fusión de gametos masculinos y femeninos provenientes de distintos individuos. Los sistemas reproductivos alógamos son genéticamente distintos a los sistemas autógamos.

El entrecruzamiento (generado a partir de la alogamia) promueve la diversidad genética dentro de las poblaciones por medio de la recombinación (Schemske y Lande, 1985). Los sistemas reproductivos alógamos, en ocasiones limitan los cruzamientos mediante barreras reproductivas, o sistemas de autoincompatibilidad que impiden la interacción de gametos masculinos y femeninos de un mismo individuo, así como también mediante vectores de dispersión del polen. Estas estrategias (los sistemas de autoincompatibilidad) son importantes y es común que una misma población evite la autogamia por la acción de éstas (Liedl y Anderson, 1993).

La alogamia requiere de dos individuos para que el sistema funcione, lo que puede ser desventajoso en poblaciones con bajas densidades. Como respuesta a esto, muchos sistemas alógamos presentan cierto grado de plasticidad que permite la ocurrencia de autogamia en cuellos de botella y otras situaciones donde no se puede garantizar la entrecruza (Stebbins, 1957). Las poblaciones alógamas mantienen un cierto número de alelos deletéreos recesivos en las poblaciones, lo que podría representar una desventaja si el tamaño poblacional decrece y debido a esto se puedan desencadenar eventos de depresión por endogamia (Gillespie, 2004).

### 2.7.1.2. *Autogamia*

La autogamia, o autofecundación, es la fusión de los gametos masculinos y femeninos provenientes de una fuente idéntica genéticamente, que puede ser el mismo individuo o un clon. Este sistema reproductivo prevalece en condiciones en las que no se puede asegurar la entrecruza, como en poblaciones de especies pioneras o fundadoras, o en ambientes en los que son escasos los vectores de polinización (Liedl y Anderson, 1993).

Las poblaciones autógamas presentan características particulares como tamaños poblacionales pequeños, altos niveles de homocigosis y un bajo número de alelos y loci polimórficos (Holsinger, 2000). La homocigosis puede reducir la adecuación individual al interior de las poblaciones debido a la expresión de genes deletéreos que se encuentran en forma recesiva al interior de los genomas (Charlesworth y Charlesworth, 1987).

Pese a lo anterior, la incidencia de la depresión por endogamia en poblaciones híbridas podría ser menor debido a que éstas presentan una carga menor de alelos recesivos ya que las numerosas rondas de acción selectiva eliminan dichos alelos (Kalisz, 1989). La selección natural elimina los alelos deletéreos de las poblaciones autógamas, haciendo que éstas se adapten de mejor manera a la homocigosis que sus contrapartes con sistemas alógamos (Lande y Schemske, 1985; Gillespie, 2004). Por otra parte, la baja tasa de intercambio alélico entre poblaciones provoca una gran estructuración y diferenciación genética (Schöen y Brown, 1991), lo que provoca, en conjunto con procesos de selección diferencial entre poblaciones, que las especies autógamas mantengan niveles de variación interpoblacional importantes (Luna-Ramos, 2010). Para que una población sea autogámica es fundamental que no existan barreras reproductivas que eviten el autocruzamiento. Los sistemas de autoincompatibilidad suelen ser la estrategia para prevenir el autocruzamiento por parte de las poblaciones.

#### 2.7.1.3. *Geitonogamia*

La fecundación por geitonogamia se presenta a partir de la forma más común de autopolinización y tiene las mismas propiedades ecológicas que la fecundación cruzada, pues requiere la transferencia de polen de una flor a otra. Sin embargo tiene las propiedades genéticas de la autogamia, al no producir descendencia genéticamente recombinada debido a que el cruzamiento se efectúa entre distintas flores de una misma planta (Lloyd y Schöen, 1992). Los niveles de geitonogamia en una población varían en función de factores como la distribución y despliegue floral, abundancia y tipo de polinizadores, así como el comportamiento de éstos en términos de consumo de alimento y visita a las flores.

#### 2.7.2. ***Reproducción asexual***

La reproducción asexual en plantas es un evento común. Esta forma de reproducción no involucra procesos meióticos ni de singamia e implica la producción de nuevos individuos a partir de tejidos somáticos, pudiendo estar o no en relación con los órganos reproductivos (Mogie, 1992). La reproducción asexual obligada en plantas es frecuentemente una consecuencia de la formación de híbridos poliploides incapaces de reproducirse por vía sexual (Stebbins, 1957).

Las poblaciones en las que la reproducción asexual es el único método de propagación, presentan una serie de características genéticas específicas. El intercambio de genes entre líneas de reproducción asexual es nulo y la variación genética en una misma línea es producto exclusivo de la mutación somática (Grant, 1989). La estructura genética de las poblaciones asexuales es similar a la de las poblaciones autóгамas; sin embargo, la homocigosis al interior de las poblaciones no suele ser un problema en poblaciones de reproducción asexual (Luna-Ramos, 2010). La reproducción asexual se da por dos vías principales: la reproducción vegetativa y mediante la producción de semillas con una composición genética idéntica a la planta madre, proceso conocido como agamosperimia (Holsinger, 2000). En cactaceae la reproducción vegetativa es muy común, sin embargo la agamosperimia no ha sido muy estudiada y sólo se ha reportado en algunas especies de *Opuntia* (Negrón-Ortiz, 1998).

#### 2.7.2.1. *Agamosperimia*

La agamosperimia se refiere al desarrollo de semillas o esporas sin fecundación. Este término fue utilizado para designar a todo evento de reproducción asexual en plantas, incluyendo la propagación vegetativa, sin embargo actualmente se hace referencia al evento de reproducción asexual que se lleva a cabo en el óvulo y culmina con la producción de semillas sin fecundación. El proceso por el cual generalmente se lleva a cabo la agamosperimia se conoce como apomixis (Koltunow *et al.*, 2002).

Una diferencia sustancial entre un embrión formado por vía sexual y aquel formado mediante apomixis es que éste último deriva de células correspondientes al tejido del ovario mientras que el embrión formado por vía sexual es el resultado de la singamia, o fusión de gametos. Por lo tanto, las semillas producidas a partir de apomixis presentan la misma identidad genética que su progenitor (Koltunow, 1993). En la reproducción sexual, el número cromosómico de la célula madre de la megaspóra se reduce y produce megasporas a partir de meiosis, en la agamosperimia no. Las plantas apomícticas, por otro lado, son el resultado de alguno de dos tipos de desarrollo: esporofítico o gametofítico. En la apomixis esporofítica, los embriones se forman directamente a partir de células de la nucela o células del tegumento. Este proceso es conocido como embriogénesis somática o embriónía adventicia, y deriva en la producción de embriones a partir de células no sexuales. En este

caso, la embriogénesis somática se da a partir de tejidos con actividad meristemática, ya sea mediante la formación de un tejido indiferenciado conocido como callo, o de forma directa a partir de una célula desdiferenciada que se ha tornado meristemática (Koltunow, 1993).

En la apomixis gametofítica la meiosis es alterada o no ocurre, y da como resultado un gametofito femenino (el saco embrionario) sin reducción meiótica diploide (Asker y Jerling, 1992). No existe fusión de gametos y el embrión se desarrolla de forma autónoma, con el mismo juego cromosómico que el progenitor (Carneiro *et al.*, 2006).

Las plantas cuya reproducción se da a partir de agamospermia pueden no necesitar, por lo tanto, de vectores de polinización y sus barreras reproductivas pierden relevancia en términos de la formación de semillas, sin embargo, como menciona Koltunow (1993), la reproducción sexual y la agamospermia vía apomixis no son formas de reproducción excluyentes; es decir, pueden existir poblaciones con un sistema sexual determinado y que a su vez presente procesos apomícticos. A dichas poblaciones se les denomina apomícticos facultativos. Evolutivamente esto representaría cierta ventaja debido a que se combinan dos formas de reproducción. La incidencia de esta capacidad está dada por factores como el polen parental disponible, el fotoperiodo e incluso la temperatura, aunque se ha visto en otras especies apomícticas, que el grado de sexualidad es independiente de estos parámetros (Hussey *et al.*, 1991). Los procesos apomícticos han sido observados en, por lo menos, 300 especies correspondientes a 35 diferentes familias. Es común en las familias Gramineae, Compositae y Rosaceae. En Cactaceae son pocos los casos reportados de este tipo de reproducción, y corresponden generalmente a la subfamilia Opuntioideae (Mondragon-Jacobo, 2001), para la cual la poliembrionía o embrionía adventicia es común (Asker y Jerling, 1992; Velez-Gutiérrez y Rodríguez-Garay, 1996; Negron-Ortiz, 1998).

## ***2.8. El papel de los polinizadores en la evolución y el intercambio genético***

La diversificación de las angiospermas ha sido un tema que a lo largo de gran parte de la historia de la ciencia ha fascinado a Biólogos y naturalistas. Charles Darwin y, a partir de él, decenas de investigadores, han mencionado que la polinización biótica fue un factor clave en la diversificación y éxito ecológico de las angiospermas (Stebbins, 1974). Esta idea ha sido sustentada por evidencia suficiente que indica la relación entre la polinización especializada y la gran diversidad de especies (Armbruster y Muchhala, 2009).

Existen muchas hipótesis alrededor de este tema que han intentado explicar la evolución y diversificación de estas plantas. Una de las más comunes es la idea de que la diversidad de las flores ha sido promovida por la especialización de las asociaciones con animales para la polinización (Grant y Grant, 1965) y el consecuente aislamiento reproductivo de las plantas. Debido a que el éxito reproductivo de éstas se relaciona con la atracción y la manipulación de sus visitantes, los polinizadores pueden ejercer presiones de selección en función de caracteres florales como recompensas, fenología, formas, colores, aromas y disposición. Asimismo, las diferencias geográficas en la composición faunística de los polinizadores pueden causar selección en los caracteres florales. Como indican Schemske (2009) y Thomson (2005), estas disposiciones son claves en la evolución de las angiospermas debido a la polinización.

De todas las interacciones ecológicas en las que intervienen las plantas, la polinización es uno de los eventos más importantes en la evolución de las angiospermas. El ritmo en el que se presenta resulta ser vertiginoso, es decir, el tiempo en el que un grupo de plantas puede generar variación suficiente para especiar gracias a la polinización, puede ser sorprendentemente corto comparado a otras fuerzas. Lo anterior es debido en parte a que se contraponen dos realidades biológicas: la de la planta y la del animal. En otros casos de la naturaleza, la variación y reproducción diferencial dependen en mayor medida de las mismas poblaciones y su dinámica interna (genética y selección intraespecífica) (Armbruster, 2006).

En ese sentido, la polinización biótica genera diversificación ya que provoca aislamiento reproductivo, lo que influye directamente en las tasas de especiación (Armbruster y Muchhala, 2009). Este tipo de polinización puede influir positivamente también en la preservación de especies raras, previniendo su extinción, pues la especialización con un solo

taxón puede ser suficiente para mantener la adecuación de ambos. Sin embargo, como mencionan Waser *et al.*, (1996) esto puede resultar un arma de doble filo debido a que una alteración en la frecuencia del polinizador (dada por condiciones ambientales cambiantes o algún otro factor) podría dañar de forma definitiva a una o ambas partes.

La polinización biótica es, por lo tanto, un evento ecológico fundamental en varios aspectos:

1. Promueve gran parte de la variación morfológica y genética en las plantas.
2. Dirige la evolución no sólo de las plantas, sino en ocasiones de los grupos animales que las polinizan.
3. Se presenta en varios contextos, provocando un abanico de resultados muy amplio en términos de divergencia y selección:
  - Divergencia basada en sistemas de atracción: Relacionada con qué animal visita cada flor en función de la utilidad que ésta representa (fuente de alimento o refugio como recompensa, o caracteres de atracción como aromas y colores).
  - Divergencia basada en fenología y receptividad: Diferencias en el despliegue floral pueden implicar un sesgo claro en los polinizadores de cada planta, generando así diferentes y particulares presiones de selección y por lo tanto divergencia genética.
  - Divergencia dada por disposición morfológica: Según Armbruster y Muchhala, (2008) la disposición morfológica entre partes y flores, y visitantes, determina cuáles de éstos polinizan y con qué eficiencia.

El valor de la polinización se puede entender a partir de dos componentes principales: el ecológico, pues es el método más eficiente que tiene una planta para aumentar su adecuación sin comprometer su variabilidad genética; y el evolutivo, ya que ésta ha derivado de forma notable en la diversificación y gran distribución geográfica de las angiospermas.

La gran diversidad morfológica que presentan las angiospermas puede entenderse como un resultado colateral de la polinización. Muchos grupos animales pueden ejercer distintas presiones de selección sobre la biología de las plantas que deriven en variaciones morfológicas (lo que podría ser un indicador de las estrechas relaciones entre planta y polinizador) y/o ecológicas (transiciones entre la relación con uno u otro polinizador, como en *Salvia*, género con especies polinizadas por aves, y especies polinizadas por insectos). En muchos casos, la influencia de los polinizadores en la microevolución de caracteres florales

ha sido documentado e incluso cuantificado a partir de estimaciones de selección y heredabilidad (Ashman y Majetic, 2006).

Actualmente se realizan investigaciones en torno al perfeccionamiento de métodos que permitan añadir análisis cuantitativos al estudio de la interacción planta-polinizador, lo que mostraría la importancia de esta relación a niveles de comunidad (Rezende *et al.* 2007). En tanto esto sea realizado, un gran número de estudios hasta ahora publicados no dejan duda en la gran importancia de la polinización en la ecología y evolución de las plantas.

Particularmente en cactáceas, los géneros de la tribu Pachycereeae son ejemplos interesantes a partir de los cuales se pueden analizar relaciones ecológicas estrechas como la especialización en polinización.

### *El método de exclusión de polinizadores*

La diversificación en forma y función de las flores entre las especies de angiospermas se asocia con una gran variedad de estrategias de apareamiento y sistemas sexuales.

En angiospermas, el apareamiento se relaciona con los procesos de polinización y post-polinización que derivan en la fecundación. Como consecuencia de ello, el sistema de apareamiento se refiere a la participación en la fecundación que presentan los progenitores, incluyendo la incidencia de autofecundación, fecundación como resultado de polinización cruzada, la diversidad de parejas de entrecruza (*i.e.* las especies que participan en la cruce) y las características de éstas (Harder y Barrett, 2006).

Para evaluar los sistemas de reproducción, diversos autores (Valiente-Banuet *et al.*, 1996; 1997; Casas *et al.*, 1999; Ibarra-Cerdeña *et al.*, 2005; Rojas-Sandoval y Meléndez- Ackerman, 2009, Martínez-Peralta y Mandujano, 2011) han utilizado el método de exclusión de polinizadores y tratamientos de polinización controlada. Este método, realizado con las flores de los individuos estudiados, brinda información directa sobre la importancia de los polinizadores en términos de la reproducción de las plantas pues controla los principales aspectos de la ecología reproductiva de las plantas como son la polinización y el crecimiento de tubos polínicos según distintas barreras mecánicas durante la polinización, mismas que son manipuladas en el método.

### 3. Justificación

La hibridación representa una parte importante en la evolución y variación en plantas, en particular en la tribu Pachycereeae de la subfamilia Cactoideae.

*Neobuxbaumia tetetzo* y *Cephalocereus columna-trajani* son especies presentes dentro de la Reserva de la Biósfera de Tehuacán-Cuicatlán, el sitio de mayor diversidad y endemismos de la tribu Pachycereeae.

Así como las especies parentales mencionadas, el híbrido natural entre éstas, *Neobuxbaumia tetetzo* x *Cephalocereus columna-trajani*, se distribuye únicamente en la zona de contacto y el conocimiento de su biología y ecología es escaso.

Los estudios sobre este tipo de organismos son insuficientes y existen pocos estudios sobre los patrones de cruzamiento en zonas híbridas naturales o poblaciones manipuladas experimentalmente.

Este estudio contribuirá al conocimiento de la biología reproductiva del híbrido, especialmente en lo que se refiere al mecanismo reproductivo y las vías involucradas en este proceso.

## 4. Objetivos

Objetivo general:

Determinar el sistema de apareamiento que posee el híbrido *Neobuxbaumia tetetzo* x *Cephalocereus columna-trajani*.

Objetivos particulares:

1. Averiguar el tiempo que permanece la flor en antesis.
2. Averiguar si el híbrido es autocompatible.
3. Averiguar si las semillas son producto de agamosperma.

## 5. Materiales y métodos

### 5.1. Sitio de estudio

El Valle de Tehuacán es una región semiárida localizada en el sureste de Puebla y la colindancia con el estado de Oaxaca. La precipitación anual es de 380 mm, con una temperatura media anual que oscila entre 21.2°C (Arias *et al.*, 2000). En esta zona existen 19 de las 45 cactáceas columnares reportadas para la región sur-central de México (Valiente-Banuet *et al.*, 1996), las cuales son elementos dominantes en varios tipos de vegetación. También se han reportado bosques de cactáceas, cuyas densidades alcanzan 1 800 plantas por hectárea (Rzedowski, 1988; Valiente-Banuet *et al.*, 1997).

La región de Zapotitlán de las Salinas (Fig. 3) comprende ecosistemas semi-áridos en el sureste del estado de Puebla (en la Reserva de la Biósfera Tehuacán-Cuicatlán, ubicada en 17° 48' y 18° 58' de latitud norte y los 97° 43' de longitud oeste; con una precipitación media anual de 400 mm el tipo de vegetación sensu Rzedowski (1988) es Matorral xerófilo.

En el suelo de la región es predominante la roca caliza y sedimentos aluviales ricos en carbonatos de calcio (Valiente-Banuet *et al.*, 2009) y se encuentra densamente poblado por arbustos y especies de cactáceas globosas. El terreno es escarpado e irregular. A pocos metros de distancia de la carretera, sobre la pendiente hacia el valle, crecen la mayor parte de cactáceas columnares que dominan el paisaje (*Mitrocereus fulviceps*, *Myrtillocactus geometrizans*, *Neobuxbaumia tetetzo*, *Cephalocereus columna-trajani*, así como el híbrido *Neobuxbaumia tetetzo* x *Cephalocereus columna-trajani*).

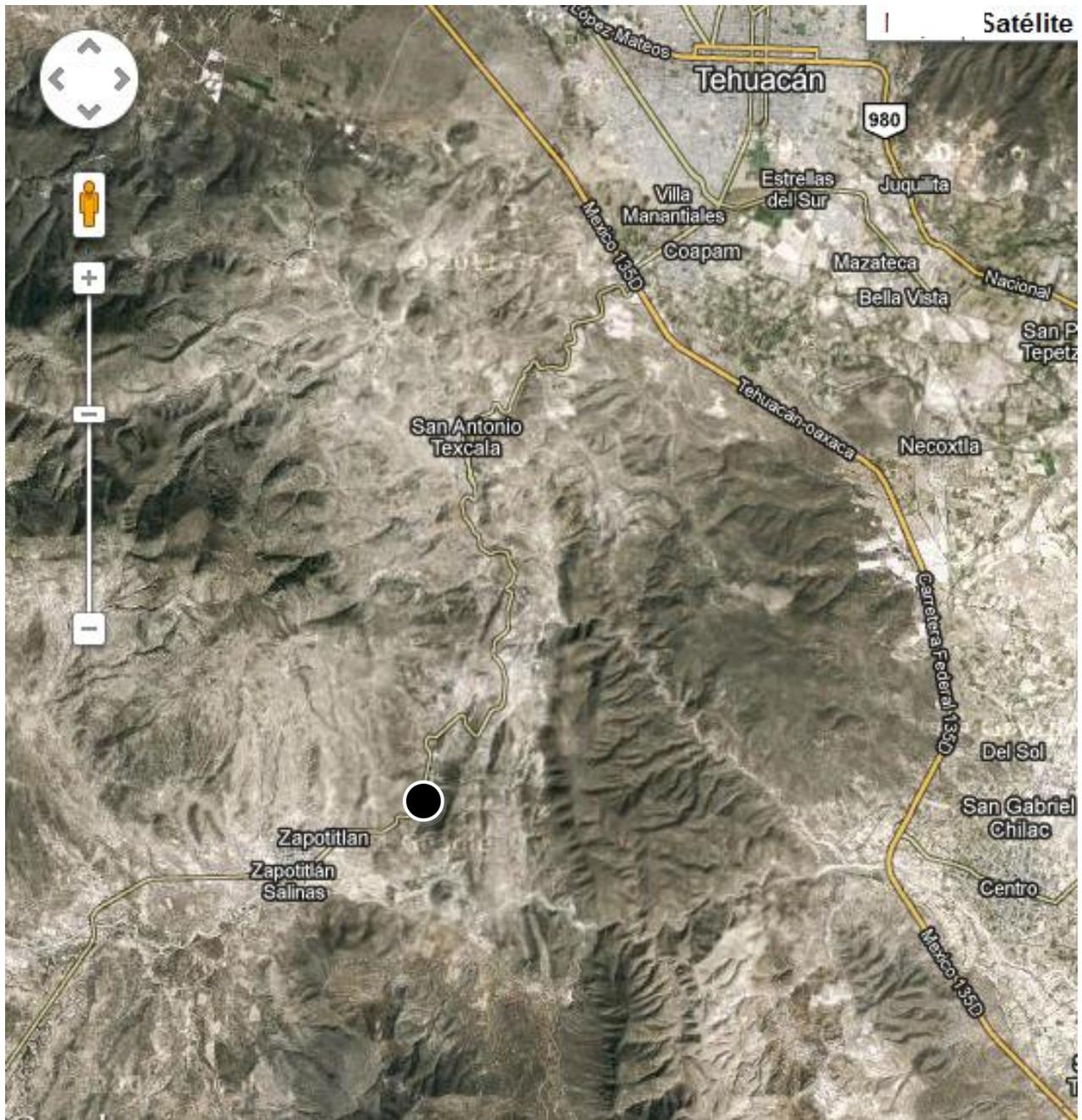


Figura 3. Localización aproximada de la zona de estudio. Imagen satelital (Google, INEGI, 2011).

El sitio de estudio se encuentra ubicado en el estado de Puebla a 1500 msnm en una posición de 18° 20' N y 97° 27' W, adyacente al Jardín Botánico "Helia Bravo Hollis".

## **5.2. Objeto de estudio**

*Neobuxbaumia tetetzo* x *Cephalocereus columna-trajani* es un híbrido natural que se distribuye en el valle de Tehuacán-Cuicatlán. Los individuos híbridos se ubican en la zona donde las dos poblaciones parentales (*Neobuxbaumia tetetzo* y *Cephalocereus columna-trajani*) se encuentran en simpatría. Los individuos maduros de *Neobuxbaumia tetetzo* x *Cephalocereus columna-trajani* (es decir, aquellos que presentan floración) en la zona de estudio tienen una altura de entre 6 y 8 metros (Vite *et al.*, 1996).

### **Trabajo de campo**

#### *5.2.1. Registro general de datos.*

Se realizaron en total 5 visitas a la zona de estudio. La primera visita (marzo de 2009) permitió reconocer a la población híbrida y la zona de contacto de las especies parentales, así como ubicar la región mediante el sistema de geoposicionamiento satelital (GPS), fotografiar individuos de cada población y registrar las condiciones climáticas y orográficas de la zona. En abril de 2010 comenzó el trabajo experimental con las flores. Posteriormente, en junio de 2010, durante la fructificación, se realizó una nueva visita para registrar los resultados obtenidos del trabajo experimental. Se realizaron dos nuevas visitas en abril y mayo de 2011, sin embargo las poblaciones presentaron muy poca producción de botones florales y éstos se desprendieron de la planta antes de llegar a la antesis, lo que impidió repetir los experimentos dado el aborto de flores observado en campo.

#### *5.2.2. Método experimental*

##### Fenología y floración

Se observó el periodo y el patrón de floración de *Neobuxbaumia tetetzo* x *Cephalocereus columna-trajani* durante dos años consecutivos (2009, 2010) y se comparó con la información de Vite *et al.* (1996). Se registró la fecha correspondiente al inicio de la floración de los individuos híbridos estudiados y se realizó un seguimiento hasta la fructificación. Se contrastó la información con los datos reportados por Vite *et al.* (1996) correspondiente a la floración de los individuos de la población. Durante cada día del muestreo se realizaron recorridos vespertinos para conocer el periodo de antesis. Para ello fue registrado el momento en el que comenzó la antesis en la población. Asimismo, se registró la hora en la que la mayor parte de las flores de cada individuo cerraban la corola.

## Exclusión de polinizadores

El método de exclusión de polinizadores consistió en realizar distintas pruebas que evalúan cada sistema de reproducción (Cuadro 4) y se detallan a continuación.

*Polinización natural.* Las flores se exponen a todos los agentes disponibles de polinización.

No se realiza emasculación ni aislamiento de flores por embolsado. Tratamiento control.

*Autopolinización espontánea.* Las flores se cubrieron con malla de tul blanco. No se realizó emasculación. Este tratamiento excluye mecánicamente a todo polinizador y evalúa la presencia de autogamia como forma de reproducción, sin embargo no se realiza polinización manual.

*Autopolinización inducida.* Las flores se cubrieron con malla de tul blanco en la etapa de botón floral y fueron marcadas. Una vez ocurrida la antesis, se retiró la malla y mediante un pincel se realizó autopolinización manual. Posteriormente se volvieron a cubrir.

*Geitonogamia artificial.* En este tratamiento se realizaron polinizaciones cruzadas manuales.

Primeramente se emascularon las flores de individuos marcados del híbrido y se cubrieron con malla. Posteriormente los estigmas de cada flor del híbrido fueron inoculados con polen recién colectado (“fresco” como indican Valiente-Banuet *et al.*, 1997) proveniente de flores del mismo individuo híbrido que no fueron sometidas a algún otro tratamiento, pero que funcionaban como donadores de polen. Se cubrieron con la malla las flores utilizadas para evitar el contacto con polinizadores.

*Alogamia (polinización cruzada manual y retrocruza).* Este tratamiento consistió en dos pruebas. Las flores de los individuos seleccionados para este tratamiento fueron emasculadas y embolsadas. Posteriormente, durante la antesis, se establecieron donadores de polen al igual que en el tratamiento de geitonogamia artificial y su polen fue utilizado para la polinización, sin embargo en esta ocasión se utilizó el polen perteneciente a las flores de otro individuo de *Neobuxbaumia tetetzo* x *Cephalocereus columna-trajani*. Asimismo se trabajó con polen fresco de *N.tetetzo* como donador para realizar las retrocruzas.

*Agamospermia.* Se realizaron emasculaciones y posteriormente se cubrieron las flores con malla, evitando así cualquier tipo de polinización. Este procedimiento evalúa la producción de frutos por vía asexual.

**Cuadro 4. Tratamientos de exclusión de polinizadores en la determinación de los sistemas de apareamiento.**

TRATAMIENTO	EMBOLSADO	EMASCULADO	ESPECIFICACIONES	USO
Control	No	No	Polinización libre.	Evalúa la polinización bajo condiciones naturales.
Autopolinización espontánea	Sí	No	De existir polinización, el polen proviene de la misma flor.	Evalúa si la planta necesita de un polinizador para autopolinizarse y si hay autogamia.
Autopolinización inducida	Sí	Sí	Se deposita el polen manualmente en el estigma de la misma flor.	Indica si la planta es autocompatible o autoincompatible.
Geitonogamia artificial	Sí	Sí	El polen utilizado proviene de anteras de otra flor de la misma planta.	Endogamia parental.
Alogamia	Sí	Sí	El polen que se deposita en el estigma de la flor proviene de otro individuo.	Polinización cruzada.
Agamospermia	Sí	Sí	No se poliniza.	Indica si la planta presenta apomixis.

Los tratamientos de exclusión de polinizadores se realizaron en abril de 2010. Se trabajó con 36 flores pertenecientes a ocho individuos<sup>1</sup>. El criterio para su elección se basó en el número de flores y etapa de desarrollo de éstas, además de la altura de los individuos.

El criterio de la altura se definió con base en la altura que era posible alcanzar con ayuda de una escalera desplegable de 3 metros (con un alcance de 5.8 m).

Es importante aclarar que este criterio se usó para estandarizar el tamaño de los individuos muestreados.

Se decidió sobre qué flores trabajar para cada tratamiento según su madurez, y fueron elegidos aquellos individuos a los que, por su altura, ubicación y nuestras herramientas disponibles, fuera posible tener acceso, debido a que las características del terreno (pendiente y suelo poco compactado), distribución de la población (que se encontraba mayoritariamente distribuida en la pendiente que antecede al valle) y la densidad de plantas que se localizan en la zona de estudio, limitan el acceso a estas cactáceas columnares.

Una vez elegidos los individuos, se procedió a acceder a la parte más alta de éstos, donde se desarrollan las flores. Para ello se utilizó una escalera desplegable de 3 metros. La madurez de las flores fue observada y utilizada para la elección de las flores.

Se realizó aislamiento de flores mediante embolsado. Éste fue realizado con malla de tul blanco, opaco, de 0.5 mm alrededor de cada flor (figura 4). Durante el día se realizó el marcaje de flores según tratamiento, las emasculaciones correspondientes y se embolsaron las flores (figura 5). Posteriormente, durante la noche se retiró la malla para realizar las polinizaciones para los tratamientos de autopolinización inducida, geitonogamia artificial y alogamia. Una vez efectuados los experimentos, se colocó nuevamente la malla de manera que se limitara el acceso de animales en todo momento.

---

<sup>1</sup> Únicas flores disponibles en la población durante el periodo de floración 2010.



**Figura 4. Aislamiento de flores de *Neobuxbaumia tetetzo* x *Cephalocereus columna-trajani*.**



**Figura 5. Procedimiento de manipulación de flores para los tratamientos de cruce y registro de datos.**

## 6. Resultados

### 6.1. Fenología y floración

Las observaciones realizadas en campo indican que el periodo de floración de *Neobuxbaumia tetetzo* x *Cephalocereus columna-trajani* comprende los meses de abril a mayo. La fructificación ocurre entre junio y julio. La fenología del híbrido coincide en parte con la de las especies parentales (figura 6), pues la floración de *Cephalocereus columna-trajani* comienza desde finales de enero, presenta el pico máximo de floración a mediados de mayo y finaliza a mediados de julio (Vite *et al.*, 1996), mientras que, según observaciones reportadas por Vite *et al.* (1996), el periodo de floración de *Neobuxbaumia tetetzo* es más corto pese a que presenta el pico máximo de floración aproximadamente en el mismo momento (mayo).

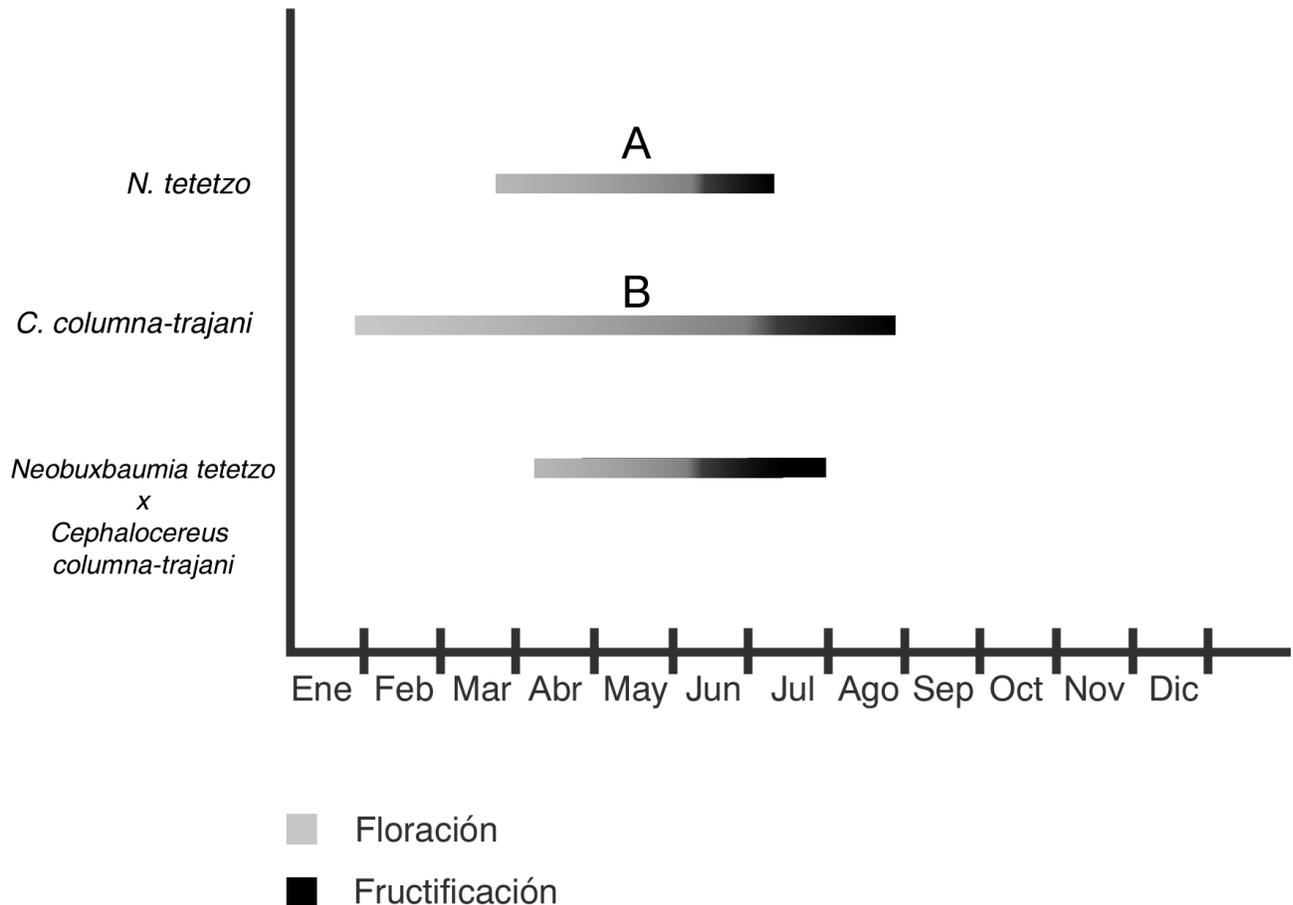


Figura 6. Periodos de floración y fructificación de *Neobuxbaumia tetetzo* x *Cephalocereus columna-trajani* y sus especies parentales. A y B: Picos de floración aproximados (Valiente-Banuet *et al.*, 1996; Vite *et al.*, 1996).

El patrón de floración individual es asincrónico. Los botones florales se desarrollan en el ápice de la planta durante distintos momentos del periodo de floración. Esto provoca que durante la floración coexistan flores en antesis y botones florales en distintas etapas de desarrollo.

Las mayoría de las flores de *Neobuxbaumia tetetzo* x *Cephalocereus columna-trajani* presentan un solo periodo de antesis según las observaciones de campo realizadas en este estudio.

## **6.2. Biología Floral**

Las flores de *Neobuxbaumia tetetzo* x *Cephalocereus columna-trajani* tienen una longitud promedio de  $59.23 \pm 2.65$  mm; el ancho del perianto es de  $20.12 \pm 1.48$  mm. Todas las flores son hermafroditas ( $N= 36$ ).

Durante la temporada de floración, las flores comenzaron la antesis aproximadamente a partir de las 19:30 hrs y cerraron al día siguiente, alrededor de las 11:40 hrs.

Como se mencionó anteriormente, en el ápice de los individuos híbridos es común observar botones florales de distintas etapas y flores maduras.

La figura 7 compara las flores de *Neobuxbaumia tetetzo* x *Cephalocereus columna-trajani* en algunas de sus distintas etapas de desarrollo, tal y como suelen presentarse en el ápice de la planta durante el periodo de floración.

La apariencia de un botón floral y una flor madura cerrada es similar salvo por el tamaño de la estructura, razón por la cual era posible distinguir entre un botón y una flor madura cerrada.

Otra característica de las flores de *Neobuxbaumia tetetzo* x *Cephalocereus columna-trajani* es la dinámica de la antesis: Existen, a lo más, dos eventos de antesis durante toda la temporada de floración, para después marchitarse o, de existir fecundación, desarrollar fruto.



**Figura 7. Comparación de tamaño (longitud) de botones florales (7a, 7b) y flor en antesis (7c) de *Neobuxbaumia tetetzo* x *Cephalocereus columna-trajani*.**

Las flores de *Neobuxbaumia tetetzo* x *Cephalocereus columna-trajani* son similares a las de las especies parentales en tamaño y forma. En *C. columna-trajani*, las flores crecen insertas lateralmente en el cefalio, cubiertas casi totalmente por la pubescencia de éste. En el híbrido las flores se desarrollan en el ápice en un patrón similar al de *N. tetetzo*, pues crecen en la región apical de la planta.

Las figuras 8 y 9 muestran la flor del híbrido *Neobuxbaumia tetetzo* x *Cephalocereus columna-trajani* en comparación con la de sus especies parentales: *Cephalocereus columna-trajani* y *Neobuxbaumia tetetzo*. La flor del híbrido es similar en coloración a *N. tetetzo* y ligeramente más pequeña en tamaño. *Neobuxbaumia tetetzo* tiene una longitud de 62 mm y alcanza 21 mm de diámetro cuando la flor se encuentra totalmente abierta ( Valiente-Banuet *et al.*, 1996).

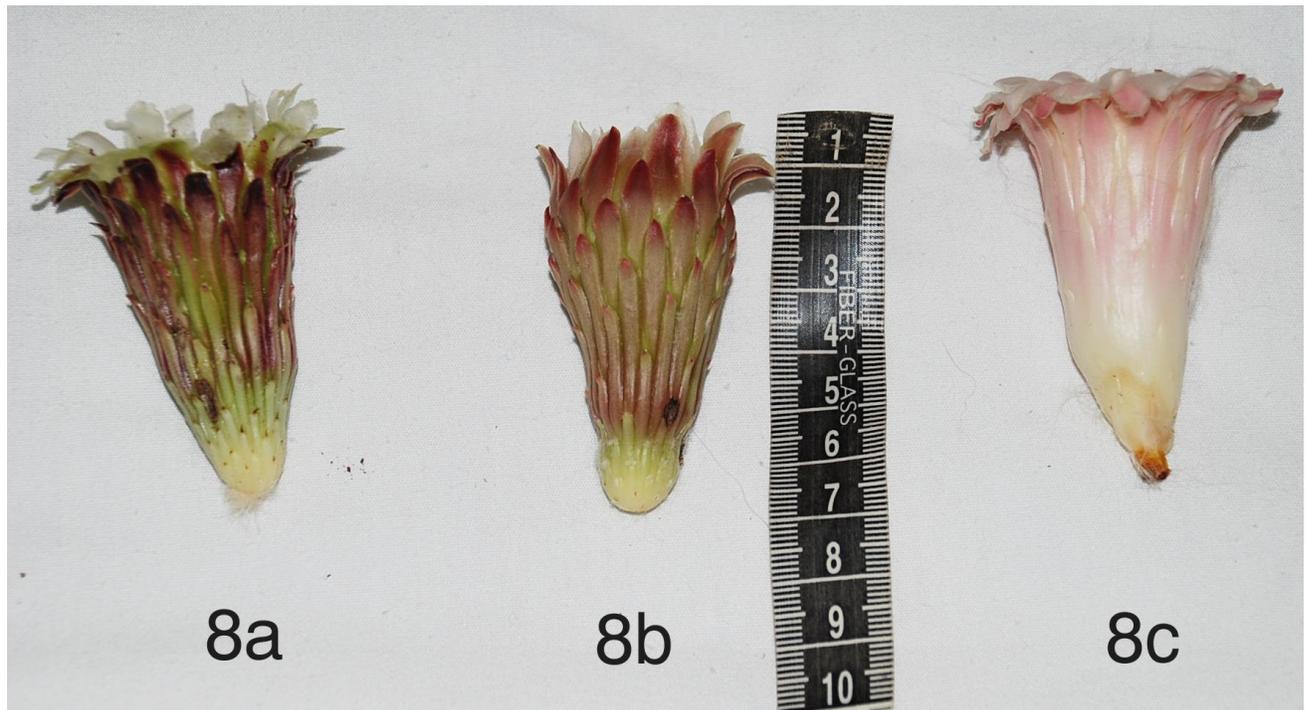


Figura 8. Comparación de tamaño en flores de *Neobuxbaumia tetetzo* (8a), *Neobuxbaumia tetetzo* x *Cephalocereus columna-trajani* (8b) y *Cephalocereus columna-trajani* (8c). Vista frontal.

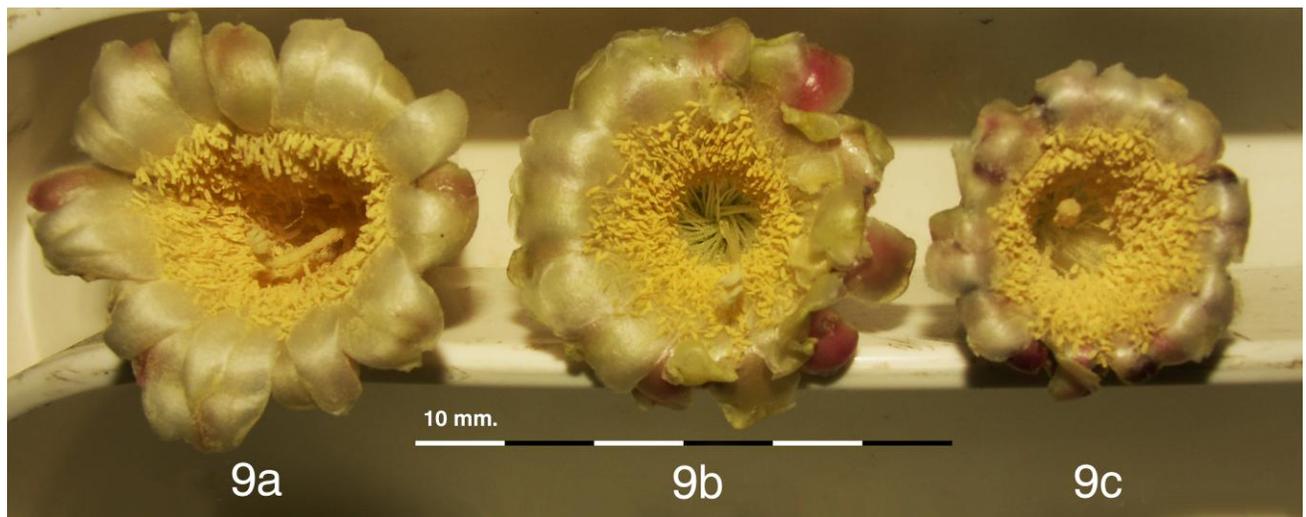


Figura 9. Comparación de tamaño en flores de *Cephalocereus columna-trajani* (9a), *Neobuxbaumia tetetzo* x *Cephalocereus columna-trajani* (9b) y *Neobuxbaumia tetetzo* (9c). Vista superior.

### 6.3. Sistema de apareamiento

Se realizaron los 6 tratamientos descritos anteriormente a un total de 36 flores desarrolladas en 8 individuos (únicos que presentaron floración en 2010). No todos los individuos tuvieron los mismos tratamientos (cuadro 5).

**Cuadro 5. Tratamientos realizados por individuo.**

<b>Individuo</b>	<b>Tratamientos</b>	<b>Número de flores</b>	<b>Frutos producidos</b>	<b>Semillas producidas</b>
1	Agamospermia	2	0	-
2	Autopolinización inducida	3	0	-
	Autopolinización espontánea	2	0	-
3	Geitonogamia artificial	1	0	-
	Agamospermia	2	0	-
4	Autopolinización inducida	3	0	-
	Alogamia (retrocruza)	2	0	-
5	Geitonogamia artificial	4	0	-
	Agamospermia	1	0	-
	Alogamia	2	1	67
6	Alogamia (retrocruza)	1	1	603
	Alogamia	2	1	18
7	Control	1	1	7
	Control	1	1	8
	Control	1	1	20
	Control	1	1	10
	Control	1	1	67
	Alogamia	1	1	22
8	Alogamia (retrocruza)	3	0	-
	Alogamia	1	1	29

**Cuadro 6. Flores totales estudiadas por tratamiento.**

Tratamiento	Número de Flores	Frutos producidos
Control	5	5
Autopolinización espontánea	4	0
Autopolinización inducida	6	0
Geitonogamia artificial	5	0
a) Alogamia	6	4
5. b) Alogamia de retrocruza	6	1
6. Agamospermia	5	0

El cuadro 5 desglosa los tratamientos realizados a las flores de cada individuo, así como el número de frutos producidos y las semillas contadas en cada caso. Se muestra el número total de flores analizadas por cada tratamiento, además del número de frutos producidos en cada uno.

Los tratamientos a partir de los cuales se formaron frutos en *Neobuxbaumia tetetzo* x *Cephalocereus columna-trajani* corresponden al control, alogamia, y alogamia de retrocruza, resultado que solo se presentó en una flor de las 6 sometidas a este tratamiento.

El mayor número de semillas por fruto corresponde con el tratamiento de Alogamia de retrocruza (Cuadro 5, individuo 6). Es importante recalcar que el número de semillas reportadas por fruto (cuadro 5) no corresponde a la producción real en cada uno, pues durante la colecta se observó que la mayoría de los frutos presentaron frugivoría por aves, por lo que no fue posible registrar con fidelidad las semillas en cada fruto, pues durante el registro de resultados, éstos no se encontraban completos.

Los tratamientos de control, así como los de alogamia, y alogamia de retrocruza, que corresponden a aquellos que derivaron en fructificación, mostraron resultados muy variados y en ocasiones confusos. Esto significa que bajo el mismo tratamiento, algunas flores de los individuos estudiados formaron frutos y otras no pese a que se procedió con el mismo método (en ocasiones incluso en el mismo individuo).

En los tratamientos alogamia y alogamia de retrocruza, el resultado de *no fructificación* puede deberse a alguna de, por lo menos, tres razones: 1) Existió polinización pero no fecundación (y por lo tanto tampoco fructificación), 2) No existió polinización y por lo tanto fecundación ni fructificación ocurrieron, o 3) se presentaron polinización, fecundación y fructificación, sin embargo la frugivoría por aves alteró los resultados y no fue posible registrar la existencia del fruto producido.

Cada flor marcada como control presentó fructificación, sin embargo el número de semillas registrado en cada uno, como se dijo anteriormente, no representa la producción real de semillas. Los frutos de cactáceas columnares suelen tener numerosas semillas (Figueroa-Castro y Valverde, 2011), para algunas especies como *Neobuxbaumia tetetzo*, más de 900 por fruto (Godínez-Álvarez *et al.*, 2002) y los resultados contrastantes de la columna de semillas producidas en el cuadro 4, ponen de manifiesto lo descrito anteriormente con respecto a la frugivoría por aves.

Los tratamientos que podrían mostrar con mayor fidelidad lo ocurrido como resultado del experimento son los correspondientes a las cruza manuales y flores embolsadas sin posibilidad de polinización, pues en ellos se observó que el material utilizado para embolsar, se encontraba intacto en el momento de registro de resultados. Estos son: autopolinización espontánea (flores embolsadas sin polinización), autopolinización inducida (polinizaciones manuales y embolsado de flores), agamospermia (flores embolsadas sin polinización) y geitonogamia (polinizaciones manuales y embolsado de flores).

Los tratamientos control, alogamia y alogamia de retrocruza brindaron resultados positivos para la producción de frutos y semillas, mientras que a partir de los tratamientos Agamospermia, Autopolinización inducida, Autopolinización manual y Geitonogamia no se registraron frutos.

En otras palabras, los tratamientos que corresponden a la reproducción sexual de *Neobuxbaumia tetetzo* x *Cephalocereus columna-trajani* generaron resultados positivos, mientras que los tratamientos correspondientes a la reproducción asexual del híbrido fueron negativos, pues no se produjeron frutos.

## 7. Discusión

Los resultados obtenidos en esta investigación nos permiten sugerir, de manera preliminar, lo que puede estar ocurriendo con el sistema reproductivo de *Neobuxbaumia tetetzo* x *Cephalocereus columna-trajani*. Ante la imposibilidad de repetir los tratamientos durante un siguiente periodo de floración a falta de flores con las cuales repetir los tratamientos, los resultados aquí presentados únicamente permiten esbozar algunas hipótesis acerca del sistema de apareamiento presente en esta población.

Asimismo, el escaso número de individuos que reunieron los requisitos de la presencia de botones florales, con el cual se contó, así como una altura razonable para poder realizar las manipulaciones, no permiten validar el experimento mediante una prueba estadística que permita conocer la representatividad de cada tratamiento en el sistema reproductivo de *Neobuxbaumia tetetzo* x *Cephalocereus columna-trajani*. Sin embargo, considerando los pocos datos obtenidos, se observan tendencias interesantes que sugieren que 1) la incidencia de polinizadores es fundamental en términos reproductivos para estas plantas, 2) *Neobuxbaumia tetetzo* x *Cephalocereus columna-trajani* es una planta alógama autoincompatible y posiblemente que 3) las barreras reproductivas con respecto a *N. tetetzo*, una de las especies parentales, podrían estar relajadas.

### *Autopolinización espontánea*

El punto 1 se puede interpretar a partir de los resultados de los tratamientos correspondientes a la autopolinización espontánea. En este tratamiento, como se detalló anteriormente (cuadro 3), se limita mecánicamente la incidencia de polinizadores sobre las flores estudiadas mediante el embolsado, por lo que el principal objetivo de su implementación es conocer la relevancia de los polinizadores en la reproducción. Debido a que las flores no se manipulan de ninguna forma, la única manera en la que podría existir transporte de los granos de polen al estigma, y posteriormente presentarse la fecundación, sería que el polen de la misma flor accediera a la superficie estigmática a partir de factores abióticos (viento) o que la dehiscencia de las anteras fuera tal que los granos de polen pudieran alcanzar el estigma.

El síndrome de polinización de las flores de *Neobuxbaumia tetetzo* x *Cephalocereus columna-trajani* corresponde con la quiropterofilia, tanto por la morfología de las flores, como por el tiempo durante el cual cada flor expone su recompensa (néctar), los cuales coinciden con las características de la actividad de forrajeo de los murciélagos (Valiente-Banuet *et al.*, 1997).

El tratamiento de autopolinización espontánea sería positivo si las flores estudiadas produjeran frutos. Esto tendría dos principales implicaciones: Primeramente, y con respecto al principal objetivo de la prueba, confirmaría que no es necesaria la presencia de polinizadores para que se efectúe la fecundación. En segundo lugar, implicaría que la planta es autocompatible, pues dado que este tratamiento impide el acceso a los polinizadores, el único polen que podría haber participado en dicha fecundación es el de la flor embolsada.

La producción de frutos en este tratamiento sería un resultado que requeriría de pruebas posteriores que comprueben la autocompatibilidad, pues la planta podría haber desarrollado en este caso sus frutos a partir de procesos apomícticos, brindando así falsos positivos.

El tratamiento de **autopolinización espontánea** fue realizado en 4 flores correspondientes a dos individuos (cuadro 4), y el número de frutos producidos en éstos fue 0 (cuadro 5), lo que podría mostrar la importancia de los polinizadores en la reproducción de *Neobuxbaumia tetetzo* x *Cephalocereus columna-trajani*, además de su autoincompatibilidad.

#### *Autopolinización inducida*

Como se discutió anteriormente, la autoincompatibilidad es una tendencia que se podría intuir a partir del tratamiento de autopolinización espontánea, sin embargo, para corroborar esta característica en las flores de *Neobuxbaumia tetetzo* x *Cephalocereus columna-trajani* se realizó el tratamiento de **autopolinización inducida**. En éste, se evalúa directamente si la planta presenta algún tipo de barrera que evite la autofecundación.

Un resultado positivo de este tratamiento (*i.e.* producción de frutos) indicaría que la flor es capaz de reproducirse sexualmente mediante su propio polen. Los resultados sugieren que *Neobuxbaumia tetetzo* x *Cephalocereus columna-trajani* es autoincompatible, pues ninguna de las flores sometidas a este tratamiento formaron fruto (cuadros 4 y 5).

Estos resultados son consistentes con los datos publicados por Valiente-Banuet y sus colaboradores (1997) respecto a la autoincompatibilidad de otras cactáceas columnares cercanas filogenéticamente como *Neobuxbaumia mezcalaensis* y *Neobuxbaumia macrocephala*. Aunque algunas cactáceas columnares son autocompatibles, el número de semillas producidas por este mecanismo resulta menor comparado con aquellas formadas a partir de alogamia (McGregor *et al.*, 1962; Fleming *et al.*, 1994).

Como mencionan Sosa y Soriano (1992), y Valiente-Banuet *et al.* (1996; 1997), la necesidad de un agente de polinización externo es común en cactáceas columnares, y los resultados de este estudio apoyan esta afirmación, pues como se mencionó anteriormente, dado que no hubo formación de frutos como resultado de los dos procedimientos que evalúan fecundación por autopolinización, se puede afirmar que el híbrido *Neobuxbaumia tetetzo x Cephalocereus columna-trajani* es autoincompatible.

#### *Geitonogamia*

Otra prueba que evalúa compatibilidad es la de **geitonogamia**. Dado que, a partir del tratamiento de autopolinización inducida no se obtuvieron frutos, era de esperarse que sucediera lo mismo en la prueba de geitonogamia, pues es una variante más de la autofecundación pese a que ecológicamente represente un mecanismo de polinización cruzada (Lloyd y Schöen, 1992).

Los resultados mostrados en los cuadros 4 y 5 para la categoría **geitonogamia** sugieren que *Neobuxbaumia tetetzo x Cephalocereus columna-trajani* es una especie autoincompatible. Los tres procedimientos que evalúan autocompatibilidad dieron resultados consistentes.

#### *Alogamia*

El tratamiento de **alogamia** evalúa la reproducción sexual a partir de polinización cruzada. Los resultados muestran que *Neobuxbaumia tetetzo x Cephalocereus columna-trajani* se reproduce principalmente a partir de este sistema de apareamiento, lo que coincide con lo reportado por Valiente-Banuet *et al.* (1996) e Ibarra-Cerdeña *et al.* (2005) para especies de la tribu Pachycereeae.

Estos experimentos fueron los únicos que arrojaron resultados tales que permitieran sugerir que la fecundación dada por polinización cruzada es común en esta población.

En *Neobuxbaumia tetetzo* x *Cephalocereus columna-trajani* el fruto permanece en el ápice de la planta con una inserción frágil. Los principales consumidores de éste son aves y ocasionalmente insectos. Un elemento que dificultó el análisis de resultados fue la frugivoría por parte de las aves, que en busca de alimento, incluso dañaron la malla que se encontraba en la región apical de las plantas cubriendo los frutos.

Ningún caso de fructificación reportado en este trabajo se refiere a frutos completos. En su totalidad, los frutos presentaron algún grado de frugivoría, y como se mencionó anteriormente esto impide conocer el número total de frutos y semillas producidas por cada uno a partir de los tratamientos.

Un aspecto de interés para el análisis que se vio afectado fue la cantidad de semillas producidas por fruto en función de cada tratamiento. Como se puede observar en el cuadro 4, se presentan datos contrastantes con respecto al número de semillas obtenidas por fruto, lo cual dificulta analizar este elemento. Con la prueba de alogamia por retrocruza se evalúa si el polen de una de las especies parentales del híbrido (*Neobuxbaumia tetetzo*) es viable para la fecundación en el estigma de las flores de *Neobuxbaumia tetetzo* x *Cephalocereus columna-trajani*. Una vez más, se indica la importancia de repetir estos tratamientos y ampliar el espacio muestral para corroborar las hipótesis que surgen a partir de los resultados de estas pruebas.

Además de las formas de reproducción evaluadas mediante los tratamientos anteriormente descritos, que corresponden a sistemas sexuales, podría existir otra vía de formación de frutos y semillas en la población.

#### *Reproducción asexual vía apomixis*

El tratamiento de **agamospermia** permite reconocer si en la población se presenta formación de semillas por vías apomícticas. En este tratamiento, ningún grano de polen puede acceder a la superficie estigmática, pues la emasculación impide la autopolinización, y

el embolsado la polinización cruzada y geitonogamia. En este caso, la producción de semillas estaría dada por la capacidad de la planta de reproducirse mediante algún tipo de apomixis.

Los resultados sugieren que los eventos de reproducción asexual mediante apomixis no se presentan en esta población, pues de un total de 5 flores tratadas mediante esta prueba, se produjeron cero frutos.

La tendencia general que se puede interpretar con base en los resultados del presente estudio, es que *Neobuxbaumia tetetzo x Cephalocereus columna-trajani* presenta un sistema de apareamiento sin posibilidad de autofecundación en el que predomina la polinización cruzada, en la cual los polinizadores cumplen un rol crucial.

Si se considera a la polinización como un intercambio en el cual las plantas brindan energía (alimento: néctar) por la posibilidad reproductiva que se les retribuye por parte del polinizador, en ambientes como el de matorral que se encuentra en la Reserva de la Biósfera de Tehuacán-Cuicatlán sería de esperarse la especialización entre una población de plantas como las cactáceas columnares y un polinizador. Como se detalló anteriormente, la morfología y dinámica de floración de *Neobuxbaumia tetetzo x Cephalocereus columna-trajani* sugiere una relación especialista entre ésta y las especies de murciélagos presentes en la región. Aunado a ello, la ventaja selectiva que presenta esta relación es clara. Como menciona Sargent (2004), en una interacción planta-polinizador estrecha, las plantas tienen menor probabilidad de recibir polen incompatible o que su polen sea transferido a un estigma incompatible.

Al limitar la incidencia de los polinizadores, como se realizó mediante los tratamientos de este estudio, queda de manifiesto la relevancia de los polinizadores en la reproducción de *Neobuxbaumia tetetzo x Cephalocereus columna-trajani*.

*Neobuxbaumia tetetzo x Cephalocereus columna-trajani* es un híbrido autoincompatible, por lo tanto su reproducción depende en gran medida de vectores de polinización y presenta un sistema de apareamiento basado en la polinización cruzada (alogamia). Considerando la morfología (color, tamaño y forma) y fisiología floral (periodo de antesis y producción de

abundante néctar como recompensa), el vector de polinización más efectivo es biótico y corresponde con el síndrome quiropterófilo de polinización.

Pese a que las características del híbrido estudiado indican que en la población existiría una elevada limitación de polen debido a la autoincompatibilidad y el reducido *pool* disponible de polinizadores, la reproducción de los individuos se asegura mediante una estrecha y sincronizada relación con el polinizador. Es decir, aún cuando las hipótesis sugieran que la reproducción de una planta con estas características podría encontrarse comprometida, las características del sistema de polinización, como manifiestan Larson y Barrett (2000), pueden ser suficientes para asegurar un *seed set* elevado.

En este sentido, se pone de manifiesto que las interacciones ecológicas planta-polinizador son claves. Una vez esbozada la importancia de esta interacción, es necesario conocer qué sistema de polinización participa en la población, es decir, si la población es generalista (*i.e.* distintas especies participan en la polinización) o especialista (una especie participa en la polinización) con respecto al polinizador. Para responder esta pregunta, se deben considerar tres elementos importantes, como detallan Harder y Barrett (2006). Estos elementos son: la abundancia del polinizador, la tasa de visita de éste y su efectividad (dada por el número de óvulos que se fecundan a partir de su polinización).

Dada la gran diversidad en número de especies, morfología y ecología de los individuos de la tribu Pachycereeae (Barthlott y Hunt, 1993), es fundamental el estudio de su biología reproductiva que posteriormente sea útil para diversos estudios y también interpretar resultados como los de Magallón y Sanderson (2001), que indican que esta tribu tiene una alta tasa de diversificación (0.380-0.595 sp/m.a.), incluso mayor que el promedio reportado para las angiospermas (0.077-0.0089 sp/m.a.).

Se ha reportado que en Cactaceae y otras familias existen plantas con Alogamia facultativa (Martínez-Ávalos, 2007; Amela-García y Hoc, 1998). En términos del sistema de apareamiento de estas plantas, existe una dominancia de entrecruza aunque la autogamia está presente según la disponibilidad de polinizadores y debido a que éstas son autocompatibles.

Los resultados de este estudio muestran que en el caso de *Neobuxbaumia tetetzo* x *Cephalocereus columna-trajani*, no sería posible un sistema de apareamiento alógamo facultativo, sino estricto, pues la autoincompatibilidad impide la autogamia, mientras que el tratamiento de Agamosperma demuestra que este híbrido no presenta reproducción asexual por vías apomícticas.

De esta manera, la reproducción del híbrido se limita a la fecundación dada a partir de polinización cruzada, en la cual los polinizadores cumplen un rol crucial.

Es importante recalcar que se requieren más experimentos que arrojen datos que fundamenten las interpretaciones anteriores, por ejemplo los correspondientes a trabajos experimentales que permitan cuantificar la efectividad de los polinizadores, tasa de visitas, recompensa floral producida por periodo de antesis, entre otros aspectos. Sin embargo, a juzgar por el síndrome floral, fenología de *Neobuxbaumia tetetzo* x *Cephalocereus columna-trajani* en comparación con la de sus especies parentales, así como los resultados mostrados en este trabajo, la información ofrecida puede ser un punto de partida que permita continuar con la investigación en torno a los procesos de reproducción involucrados en la biología de esta cactácea columnar.

Con el objetivo de incrementar la información disponible sobre las barreras reproductivas de esta población, y para aportar en el conocimiento de la evolución de parte de las cactáceas de la tribu Pachycereeae, será fundamental ahondar en las pruebas correspondientes que permitan conocer cómo es la relación entre *Neobuxbaumia tetetzo* x *Cephalocereus columna-trajani* y sus parentales.

### *Precipitación*

Además de las razones estrictamente biológicas consideradas para explicar la floración y fructificación en los individuos de *Neobuxbaumia tetetzo* x *Cephalocereus columna-trajani*, otras consideraciones deben ser tomadas en cuenta.

Los datos correspondientes a las normales climatológicas (1981-2010) reportados por el Servicio Meteorológico Nacional (SMN) muestran que las lluvias entre enero y abril son escasas en la zona de estudio (apéndice, figura 10), sin embargo, fluctuaciones anuales

podrían incidir directamente en la floración de las poblaciones de *Neobuxbaumia tetetzo*, *Cephalocereus columna-trajani*, así como del híbrido *Neobuxbaumia tetetzo x Cephalocereus columna-trajani*.

Las figuras 10 y 11 (apéndice) muestran que la precipitación registrada durante los años en los que estas poblaciones presentaron floración y se realizó registro de datos fue mayor entre enero y abril: 2006, 2007 y 2010, mientras que en 2011 (figura 12), año en el cual no hubo floración de dichas poblaciones en la zona de estudio, la precipitación entre enero y abril fue muy escasa (menos de 50 mm).

Las observaciones realizadas en campo sobre la floración de cactáceas columnares como *Neobuxbaumia tetetzo*, *Cephalocereus columna-trajani* y el híbrido *Neobuxbaumia tetetzo x Cephalocereus columna-trajani* indican que la precipitación ocurrida a principios de año podría ser crucial en la floración de estas especies. Estas observaciones coinciden con los datos registrados sobre precipitación. Las normales climáticas reportadas por el Servicio Meteorológico Nacional (SMN) indican que la precipitación media (1981-2010) en la zona de estudio, correspondiente al periodo enero – marzo, no supera los 10 mm, sin embargo, un análisis de la precipitación total anual en la zona de estudio muestra un aumento en la precipitación de dicho periodo que corresponde con temporadas en las que se reportó floración de estas poblaciones de cactáceas columnares. De esta forma, los años en los que se realizó colecta o registro de datos corresponden con una precipitación de más de 20 mm entre los meses de enero y marzo. Los años son 1992 (toma de datos de Vite *et al.*, 1996), 2006, 2007 (registro de datos de Merino, 2011) y 2010, registro de datos de este estudio.

Una explicación al hecho de que las poblaciones de *Neobuxbaumia tetetzo*, *Cephalocereus columna-trajani* y el híbrido *Neobuxbaumia tetetzo x Cephalocereus columna-trajani* distribuidas en la zona de estudio no hayan presentado floración en 2011 podría ser la precipitación durante los primeros meses de floración de los individuos en estas poblaciones.

2008 y 2011 fueron los años con menor precipitación entre los meses de enero y marzo desde 2005, sin embargo 2008, cuando sí se presentó floración, fue también el año con el

mayor pico de precipitación en dicho periodo, incluso mayor que la normal climática correspondiente al periodo 1981-2010.

De esta forma, con base en observaciones recientes y a falta de hallar una correlación entre la precipitación de este periodo (enero – marzo) y la floración de cactáceas columnares distribuidas en la zona de estudio, el factor de precipitación a inicios de floración podría ser un elemento que explique por qué no se presentó floración durante 2011 en los individuos de *Neobuxbaumia tetetzo* x *Cephalocereus columna-trajani* ni en las especies parentales.

#### *Robo de néctar*

Otras observaciones registradas en campo fueron el robo de néctar y el aborto de flores.

Un gran número de flores y botones florales presentaron daños físicos en la región basal, sitio donde se encuentra la cámara nectarial. Las flores y botones observados en este estado degeneraron posteriormente antes de la antesis.

En cactáceas columnares el alto índice de aborto de flores reportado en campo (40-50%) podría explicarse a partir del robo de néctar especialmente de hormingas del género *Acromyrmex* (Larrea-Alcázar, 2007).

Es importante, para estudios posteriores, cuantificar la magnitud del impacto que tiene el robo de néctar en la maduración y apertura de las flores en los individuos híbridos, lo que podría influir indirectamente en la polinización de estos organismos.

Es necesario ampliar el estudio de otros aspectos fundamentales de la biología reproductiva de *Neobuxbaumia tetetzo* x *Cephalocereus columna-trajani*, tales como el tiempo de antesis, longevidad floral y producción de néctar, así como la evaluación del grado de introgresión presente con respecto a las especies parentales, el periodo de visita floral de los polinizadores y el potencial reproductivo de las plantas, cuantificando variables reproductivas como el número de semillas por fruto, germinación o la proporción de estructuras abortadas. Por el momento, el presente estudio contribuye al escaso conocimiento que se tiene sobre este dicho híbrido natural distribuido en una zona de vital relevancia para las cactáceas columnares.

## 8. Conclusiones

- Los datos obtenidos en este estudio sugieren que el híbrido *Neobuxbaumia tetetzo* x *Cephalocereus columna-trajani* presenta un sistema de apareamiento alógamo estricto, pues no produce frutos ni semillas en ausencia de polinizadores.
- *Neobuxbaumia tetetzo* x *Cephalocereus columna-trajani* es autoincompatible, pues no se produjeron frutos a partir de los tratamientos de autopolinización espontánea, autopolinización inducida ni geitonogamia.
- Para validar estos resultados es menester repetir los experimentos ampliando el número de muestra, así como aplicar pruebas estadísticas para validar los resultados y conocer si existen diferencias significativas entre los datos arrojados por cada tratamiento.
- Por último, el diseño experimental debe contemplar la frugivoría por aves, misma que fue un factor limitante para el registro del número frutos y semillas producidos bajo cada tratamiento.

## 9. Bibliografía

- Amela-García M. y Hoc P. S.** 1998. Biología floral de *Passiflora foetida* (Passifloraceae). *Revista de Biología Tropical*, **46**: 191-202.
- Anamthawat-Jónsson K.** 2001. Molecular cytogenetics of introgressive hybridization in plants. *Methods in Cell Science*, **23**: 139-148.
- Anderson E.** 2001. The cactus family. Timber Press. USA. 776 pp.
- Arias A. A., M. T. Valverde, J. Reyes-Santiago.** 2000. Las plantas de la región de Zapotitlán Salinas, Puebla. SEMARNAT. México, 80 pp.
- Arias S. y Terrazas T.** 2008. *xPachebergia* (Cactaceae), a nothogenus from western México. *Revista mexicana de Biodiversidad*, **79**: 23-28.
- Armbruster W. S.** 2006. Evolutionary and ecological aspects of specialized pollination: views from the arctic to the tropics. *En*: Waser N. M. y J. Ollerton (eds.). *Plant-Pollinator Interactions: From Specialization to Generalization*. Chicago. Pp.: 260-282.
- Armbruster W. S. y Muchhala N.** 2009. Associations between floral specialization and species diversity: cause, effect, or correlation? *Evol. Ecol.*, **23**: 159-179.
- Arnold M. L.** 2004 Transfer and origin of adaptations through natural hybridization: Were Anderson and Stebbins right? *Plant Cell*, **16**: 562-570.
- Arnold M. L. y Hodges S. A.** 1995. Are natural hybrids fit or unfit relative to their parents? *Trends Ecol. Evol.*, **10**: 67-71.
- Ashman T. L. y Majetic C. J.** 2006. Genetic constraints on floral evolution: A review and evaluation of patterns. *Heredity*, **96**: 343-352.
- Asker S. E. y Jerling L.** 1992. Apomixis in Plants. CRC Press Inc Boca-Raton, Florida, USA.
- Avise J. C.** 1994. Molecular markers, natural history and evolution. Chapman & Hall, New York.
- Baker M. A. y Pinkava D. J.** 1987. A cytological and morphometric analysis of a triploid apomict, *Opuntia x kelvinensis* (subgenus *Cylindropuntia*, Cactaceae). *Brittonia*, **39**: 387-401.
- Barthlott W. y Hunt D. R.** 1993. Cactaceae. Pp.: 161-197. *En*: Kubitzki K. (ed.). *The families and genera of vascular plants*. Springer-Verlag. Berlin.
- Barton N. H. y Hewitt G. M.** 1985. Analysis of Hybrid Zones. *Ann. Rev. Ecol. Syst.*, **16**: 113-148.
- Becerra R.** 2000. Las cactáceas, plantas amenazadas por su belleza. *Biodiversitas*, **32**: 2-5.
- Baker M. A. y Pinkava D. J.** 1999. A new Arizona hybrid cholla, *Opuntia x campii* (Cactaceae). *Cact. Succ. Journ.*, **71**: 320-322.

- Bravo-Hollis H.** 1978. Las cactáceas de México. 2ª ed. Vol. 1. Universidad Nacional Autónoma de México. México.
- Carneiro V., D. M. A Dusi y J. P. Ortiz.** 2006. Apomixis: Occurrence, applications and improvements. *En:* Teixeira da Silva J.A. (ed). Floriculture, Ornamental and Plant Biotechnology: Advances and Topical Issues. Global Science Books, Isleworth, UK, Pp.: 564-571.
- Carney S. E., M. B. Cruzan, M. L. Arnold.** 1994. Reproductive interactions between hybridizing irises: analyses of pollen-tube growth and fertilization success. *Am. Journ. Bot.*, **81**: 1169-1175.
- 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. *Am. Journ. Bot.*, **86**: 534-542.
- Charlesworth D, y Charlesworth B.** 1987. Inbreeding depression and its evolutionary consequences. *Ann. Rev. Ecol. Syst.*, **18**, 237–268.
- Crawford D. J.** 2010. Progenitor-derivative species pairs and plant speciation. *Taxon*, **59**: 1413-1423.
- Dávila-Aranda P., S. Arias-Montes, R. Lira-Saade, J. L. Villaseñor y A. Valiente-Banuet.** 2002. Phytogeography of the columnar cacti (tribe Pachycereeae) in Mexico: a cladistic approach. *En* Fleming T.H., Valiente-Banuet A. (Eds.) Columnar cacti and their mutualists: evolution, ecology, and conservation. University of Arizona Press. Tucson, AZ, EUA. Pp.: 25-41.
- Ellstrand N. C., H. C. Prentice y J. F. Hancock.** 1999: Gene flow and introgression from domesticated plants into their wild relatives. *Annual Review of Ecology and Systematics*, **30**: 539-563.
- Figuroa-Castro D. M. y Valverde P.** 2011. Flower orientation in *Pachycereus weberi* (Cactaceae): Effects on ovule production, seed production and seed weight. *Journal of Arid Environments*, **75**: 1214-1217.
- Fleming T. H., S. Maurice, S. L. Buchmann y M. D. Tuttle.** 1994. Reproductive biology and related male and female fitness in a trioecious cactus, *Pachycereus pringlei* (Cactaceae). *Am. Journ. Bot.*, **81**: 858-867.
- Fleming T. H., C. T. Sahley, J. N. Holland, J. D. Nason y J. L. Hamrick.** 2001. Sonoran desert columnar cacti and the evolution of generalized pollination systems. *Ecol. Monog.* **71**: 511-530.
- Fleming T. y Valiente-Banuet A.** (eds). 2002. Columnar Cacti and their Mutualists: Evolution, Ecology and Conservation. University of Arizona Press. Tucson, AZ, EUA. 371 pp.
- Font F. y Picca P.** 2001. Natural hybridization between *Trichocereus atacamensis* (Philipi) Marshall and *Denmoza rhodocantha* (Salm-Dyck) Britton & Rose (Cactaceae). *Bradleya*, **19**: 59-66.
- Futuyma D. J.** 1998: Evolutionary Biology. Sinauer Associates, Sunderland, Massachusetts.
- Gibson A. C. y Nobel P. S.** 1986. The cactus primer. Harvard University, Boston. 180 pp.

- Gillespie J. H.** 2004. The role of hybridization in the evolution of the Hawaiian flora. *En: Valentine D.H. (ed). Taxonomy, phylogeography and evolution. Academic, Londres.*
- Grant V.** 1981. Plant speciation. New York, USA: Columbia University Press.
- Grant V.** 1989. Especiación Vegetal. Noriega Editores. México.
- Grant V. y Grant K. A.** 1965. Flower Pollination in the Phlox Family. New York: Columbia Univ. Press. 224 pp.
- Grant V. y Grant K. A.** 1971. Natural hybridization between the cholla cactus species *Opuntia spinosior* and *Opuntia versicolor*. *Proc Nat Acad Sci*, **68**: 1993-1995.
- Godínez-Álvarez H., A. Valiente-Banuet y A. Rojas-Martínez.** 2002. The role of seed dispersers in the population dynamics of the columnar cactus *Neobuxbaumia tetetzo*. *Ecology*, **83**: 2617-2629.
- Harder D. y Barrett S.** 2006. Ecology and evolution of flowers. Oxford University Press, New York. 392 pp.
- Harrison R. G.** 1990. Hybrid zones: windows on evolutionary process. *Oxford Surveys in Evolutionary Biology*, **7**: 69-128.
- Harrison R. G.** 1993. Hybrid zones and the evolutionary process. Oxford University Press. 374 pp.
- Hathaway L.,** 2004. Speciation, Hybridization and Introgression in Plants. *Plant Ecology and Systematics*. Lund University.
- Heiser C. B.** 1951. Hybridization in the annual sunflowers: *Helianthus annuus* X *H. debilis* var. *cucumerifolius*. *Evolution*, **5**: 42-51.
- Hentschel G. y K. Hentschel.** 2001. *Sulcorebutia* or *Rebutia*? *Cactus and Succulent Journal*, **73**: 237-242.
- Hernández H. M., C. Gómez-Hinostrosa y R. T. Bárcenas.** 2002. Studies on mexican Cactaceae. III. A new hybrid in the genus *Opuntia*. *Haseltonia*, **9**: 62-68.
- Holsinger K. E.** 2000. Reproductive systems and evolution in vascular plants. *Proc Nat Acad, Sci*, **97**: 7037-7042.
- Hussey M. A., E. C. Bashaw, K. W. Hignight y M. L. Dahmer.** 1991. Influence of photoperiod on the frequency of sexual embryo sacs in facultative apomictic buffelgrass. *Euphytica*, **54**: 141-145.
- Hunt D.R.** 1989. LVII Cactaceae. *En: S. M. Walters (ed.); The European Garden Flora. Vol 3. Pp.: 202-301. Cambridge, Inglaterra.*
- Ibarra-Cerdeña C. N, L. I Iñiguez-Dávalos y V. Sánchez-Cordero.** 2005. Pollination ecology of *Stenocereus queretaroensis* (Cactaceae), a chiropterophilous columnar cactus, in a tropical dry forest of Mexico. *Am. Journ. Bot.*, **92**: 503-509.
- Jiggins C. y Mallett J.** 2000. Bimodal hybrid zones and speciation. *Tree*, **15**: 250-255.

- Kalisz S.** 1989. Fitness consequences of mating system, seed weight, and emergence date in a winter annual, *Collinsia verna*. *Evolution*, **43**: 1263-1272.
- Kohlmann B.** 1993. The Analysis of Hybrid Zones and their Evolutionary Importance. *En*: Núñez-Farfán J. y Cordero C. (eds.); Tópicos de Biología Evolutiva. Pp.: 105-128. Centro de Ecología, UNAM, México.
- Koltunow A. M.** 1993. Apomixis: embryo sacs and embryos formed without meiosis or fertilization in ovules. *The Plant Cell*, **5**: 1425-1437.
- Koltunow A. M., A. Vivian-Smith, M. R. Tucker y N. Paech.** 2002. The central role of the ovule in apomixes and parthenocarpy. *En*: O'Neill S.D. y J.A. Roberts (eds.) Plant reproduction. Annual plant reviews. Vol. VI. Sheffield Academic. Sheffield.
- Larrea-Alcázar D.** 2007. Biología de la polinización de dos cactus columnares que viven en la Región Biogeográfica de la Prepuna. *Bol. Soc. Latin Carib Cact Suc*, **4**: 6-7.
- Lande R. y Schemske D. W.** 1985. The evolution of self fertilization and inbreeding depression in plants. I. Genetic Models. *Evolution*, **39**: 24-40.
- Larson B. y Barrett S.** 2000. A comparative analysis of pollen limitation in flowering plants. *Biological Journal of the Linnean Society*, **69**: 503-520.
- Liedl B. E. y Anderson N. O.** 1993. Reproductive barriers: identification, uses, and circumvention. *En*: J. Janick (ed.) Plant Breeding Reviews. Vol 11. John Wiley & Sons. Inc. Nueva York.
- Lloyd D. y Schöen D.** 1992. Self- and cross-fertilization in plants I. functional dimensions. *International Journal of Plant Sciences*, **153**: 358-369.
- Luna C. y Aguirre J. R.** 2001. Clasificación tradicional, aprovechamiento y distribución ecológica de la pitaya mixteca en México. *Interciencia*, **26**: 18-24.
- Luna-Ramos R.** 2010. Barreras reproductivas entre dos especies del género *Marathrum* (Podostemaceae). Tesis de Maestría (Biología ambiental), Facultad de Ciencias, UNAM. México D.F. 129 pp.
- Machado M. C.** 2008. What is the role of hybridization in the evolution of the Cactaceae? *Bradleya*, **26**: 1-18.
- Magallón S., y Sanderson M. J.** 2001. Absolute diversification rates in angiosperm clades. *Evolution*, **55**: 1762-1780.
- Martínez-Ávalos J. G.** 2007. Dinámica poblacional del falso peyote *Astrophytum asterias* (Zucc) Lem. (Cactaceae), una especie amenazada del Noreste de México. Tesis doctoral (Recursos Naturales), Facultad de Ciencias Forestales, UANL. 127 pp.

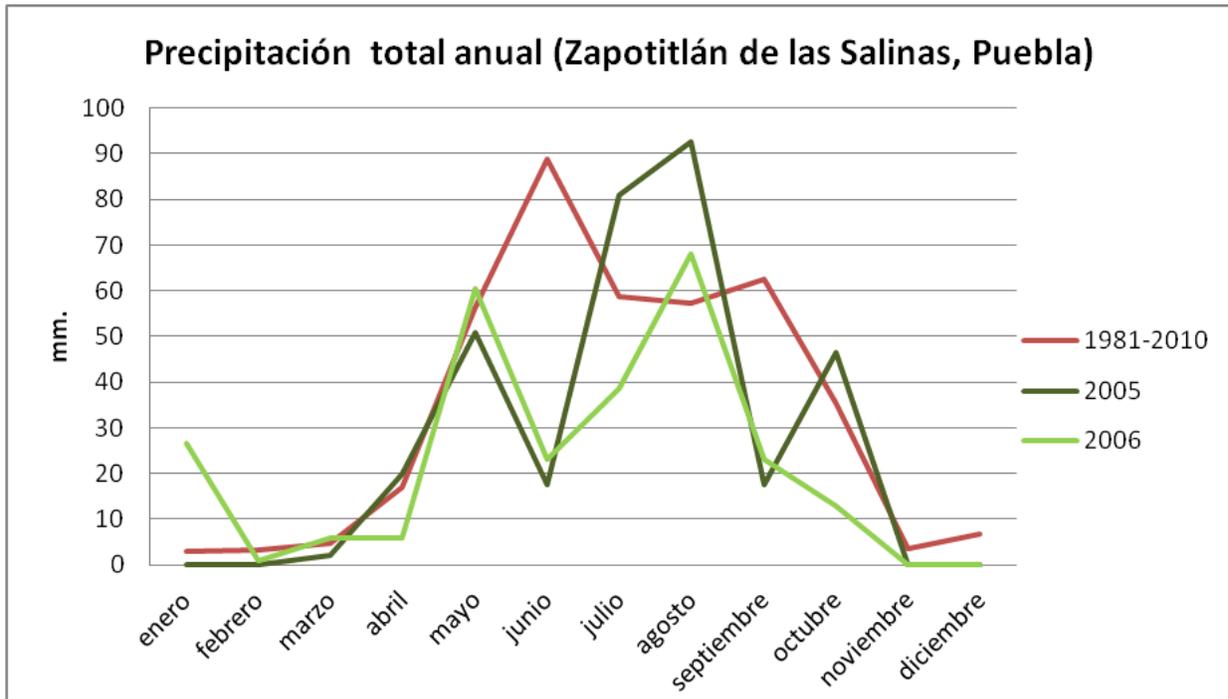
- Martínez-Peralta C. y Mandujano M. C.** 2011 Reproductive ecology of the endangered living rock cactus, *Ariocarpus fissuratus* (Cactaceae). *The Journal of the Torrey Botanical Society*, **138** (2): 145-155.
- McGregor S. C., S. M. Alcorn, E. B. Kurtz y G. Olin.** 1962. Pollination and pollinating agents of the saguaro. *Ecology*, **43**: 259-267.
- Merino G.** 2011. Microsporogénesis, microgametogénesis y análisis palinológico de un híbrido natural (*Neobuxbaumia tetetzo* x *Cephalocereus columna-trajani*) y de sus especies parentales. Tesis de Licenciatura (Biólogo), Facultad de Ciencias, UNAM. México D.F. 70 pp.
- Mihalte L., R. E. Sestras y G. Feszt.** 2008. Assessing genetic variability at different genotypes of cacti plants by means of RAPD analysis. *Bulletin UASVM, Horticulture*, **65**: 110-115.
- Mihalte L., R. E. Sestras, G. Feszt y A. F. Sestras.** 2010. Variability of seed traits in interspecific and intergeneric combinations between different genotypes of cactaceae. *Not Bot Hort Agrobot Cluj*, **38**: 246-252.
- Mogie M.** 1992. The evolution of asexual reproduction in plants. Chapman & Hall. Londres.
- Mondragon-Jacobo C.** 2001. Verification of the Apomictic Origin of Cactus Pear (*Opuntia* spp. Cactaceae) Seedlings of Open Pollinated and Crosses from Central Mexico. *Journal of the Professional Association for Cactus Development*, **3**: 49-56.
- Mota-Lambert S., E. Leite-Borba, M. C. Machado y S. C. Da Silva-Andrade.** 2006. Allozyme diversity and morphometrics of *Melocactus paucispinus* (Cactaceae) and evidence for hybridization with *M. concinnus* in the Chapada Diamantina, North-eastern Brazil. *Ann Bot*, **97**: 389-403.
- Negrón-Ortiz V.** 1998. Reproductive biology of a rare cactus, *Opuntia spinosissima* in the Florida Keys: why is seed set very low? *Sex plant Reprod*, **11**: 208-212.
- Powell A. M., A. D. Zimmerman y R. A. Hilsenbeck.** 1991. Experimental documentation of natural hybridization in Cactaceae: Origin of Lloyd's Hedgehog Cactus, *Echinocereus* x *lloydii*. *Pl. Syst Evol*, **178**: 107-122.
- Rieseberg L. H.** 1992. Commentary: The genetic basis of morphological differences between species. *International Journal of Plant Sciences*, **153**: 5-6.
- Rieseberg L. y Carney S.** 1998. Plant hybridization. *New Phytol*. **140**: 599-624.
- Rieseberg L. H. y Ellstrand N. C.** 1993. What can morphological and molecular markers tell us about plant hybridization? *Crit Rev Pl SCI*, **12**: 213-241.
- Rieseberg L. H. y Wendel J. F.** 1993: Introgression and its consequences in plants. En R. G. Harrison (ed), *Hybrid zones and the evolutionary process*, Pp: 70-110. Oxford University Press, Oxford.

- Rieseberg L. y Willis S.** 2007. Plant speciation. *Science*. **17**: 910-914.
- Rowley G. D.** 2004. Intergeneric hybrids in Cactaceae – An update. *Cact Syst Init*, **18**: 11-29.
- Rzedowski J.** 1988. Vegetación de México. Limusa. México.
- Sargent R.** 2004. Floral symmetry affects speciation rates in angiosperms. *Proc Roy Soc, Lond.* **271**: 603-608.
- Scheinvar L.** 2004. Flora cactológica del estado de Querétaro: Diversidad y riqueza. Fondo de Cultura Económica. México, D.F. 390 pp.
- Schemske, D. W. y Lande R.** 1985. The evolution of self-fertilization and inbreeding depression in plants. II. Empirical observations. *Evolution*, **39**: 41-52.
- Schemske D. W.** 2009. Biotic interactions and speciation in the tropics. In *Speciation and Patterns of Diversity*, Ed. RK Butlin, JR Bridle, D Schluter, Pp.: 219–239. Cambridge, UK: Cambridge Univ. Press.
- Schöen D. J. y Brown A.** 1991. Intraspecific variation in population gene diversity and effective population size correlates with the mating system in plants. *Proc. Natl. Acad. Sci.* **88**: 4494-4497.
- Sosa M. y Soriano P.** 1992. Los murciélagos y los cactus: una relación muy estrecha. *Carta Ecológica*, **61**: 7-10.
- Stace C. A.** 1980: Plant taxonomy and biosystematics. Edward Arnold, London.
- Stebbins G. L.** 1957. Self fertilization and population variability in the higher plants. *Am. Nat.* **91**: 337-354.
- Stebbins G. L.** 1974. Flowering Plants. Cambridge, MA: Harvard Univ. Press.
- Thompson J. N.** 2005. The Geographic Mosaic of Coevolution. Chicago: Univ. Chicago Press. 400 pp.
- Otero-Arnaiz A., J. Cruse-Sanders A. Casas y J. L. Hamrick.** 2004. Isolation and characterization of microsatellites for the columnar cactus *Polaskia chichipe* endemic from Tehuacan Valley and cross-species amplification within the Tribe *Pachycereeae* (Cactaceae). *Molecular Ecology Notes*, **4**: 265-267.
- Rezende E., J. Lavabre, P. Guimaraes Jr., P. Jordano y J. Bascompte.** 2007. Non-random coextinctions in phylogenetically structured mutualistic networks. *Nature*, **448**: 925–928.
- Rojas- Sandoval J. y Meléndez-Ackerman E.** 2009. Pollination biology of *Harrisia portoricensis* (Cactaceae), an endangered caribbean species. *Am. Journ. Bot.* **96**: 2270-2278.
- Terrazas T. y Arias S.** 2003. Comparative stem anatomy in the subfamily Cactoideae. *The Botanical Review*, **68**: 444–473.
- Tiffin P., M. S. Olson, y L. C. Moyle.** 2001: Asymmetrical crossing barriers in angiosperms. *Proceedings of the Royal Society of London Series B-Biological Sciences*, **268**: 861-867.

- Turelli M., N. H. Barton y J. A. Coyne.** 2001: Theory and speciation. *Trends in Ecology & Evolution*, **16**: 330-343.
- Valiente-Banuet A. y Ezcurra, E.** 1991. Shade as a cause of the association between the cactus *Neobuxbaumia tetetzo* and the nurse-plant *Mimosa luisana* in the Tehuacan Valley, Mexico. *Journal of Ecology*, **79**: 961-971.
- Valiente-Banuet A., M.C. Arizmendi, A. Rojas-Martínez y L. Domínguez-Canseco.** 1996. Ecological relationships between columnar cacti and néctar-feeding bats in Mexico. *Journal of tropical Ecology*, **12**: 103-119.
- Valiente-Banuet A., A. Rojas-Martínez, M.C. Arizmendi, y P. Dávila.** 1997. Pollination biology of two columnar cacti (*Neobuxbaumia mezcalaensis* and *Neobuxbaumia macrocephala*) in the Tehuacan Valley, central Mexico. *Am. Journ. Bot.*, **84**: 452-455.
- Valiente-Banuet A., L. Solís, P. Dávila, M.C. Arizmendi, C. Silva-Pereyra, J. Ortega-Ramírez, J. Treviño-Carreón, S. Rangel-Landa y A. Casas.** 2009. Guía de la vegetación del valle de Tehuacán-Cuicatlán. CONABIO. México. 206 pp.
- Velez-Gutierrez C. y Rodriguez-Garay B.** 1996. Microscopic analysis of polyembryony in *Opuntia ficus-indica*. *Journal of the Professional Association for Cactus Development*. 1. Kingsville, TX.
- Vite F., E. Portilla, J. A. Zavala-Hurtado, P. L. Valverde y A. Díaz-Solís.** 1996. A natural hybrid population between *Neobuxbaumia tetetzo* and *Cephalocereus columna-trajani* (Cactaceae). *Journal of Arid Environments*, **32**: 395-405.
- Waser N., L. Chittka, M. Price, N. Williams y J. Ollerton.** 1996. Generalization in pollination systems, and why it matters. *Ecology*, **77**: 1043-1060.
- Wesselingh R. A. y Arnold L.** 2000. Pollinator behaviour and the evolution of Louisiana iris hybrid zones. *Journ Evo. Bio.*, **13**: 171-180.
- Wolfe A. D., Q. Y. Xiang y S. R. Kephart.** 1998. Diploid hybrid speciation in *Penstemon* (Scrophulariaceae). *Proc. Nat. Acad. Sci.*, **95**: 5112-5115.
- Zhou R., S. Shi y C. I. Wu.** 2005. Molecular criteria for determining new hybrid species –an application to the *Sonneratia* hybrids. *Mol. Phylogen. Evol.*, **35**: 595-601.

## 10. Apéndice

*Precipitación reportada por el Servicio meteorológico nacional durante los últimos años de colecta y toma de datos*



**Figura 10. Precipitación total anual en Zapotitlán de las Salinas (2005-2006) con respecto a la normal climatológica (1981-2010). Servicio meteorológico Nacional, 2012.**

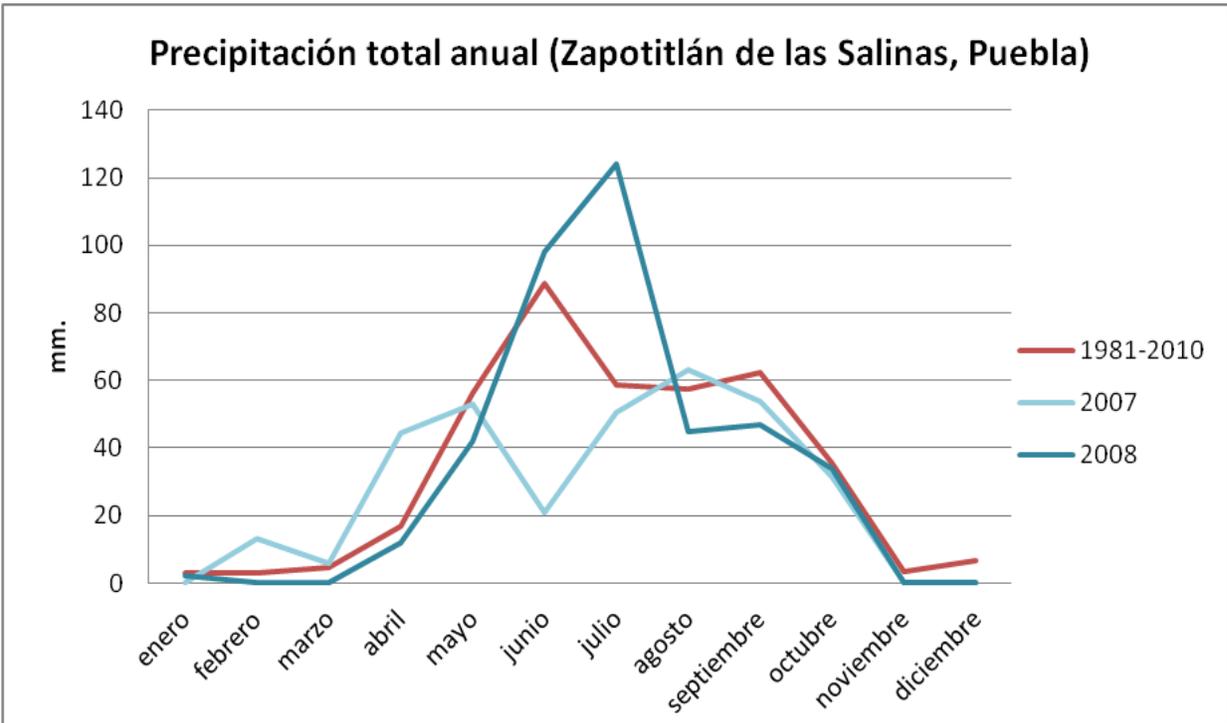


Figura 11. Precipitación total anual en Zapotitlán de las Salinas (2007-2008) con respecto a la normal climatológica (1981-2010) en Zapotitlán de las Salinas, Puebla. Servicio meteorológico Nacional, 2012.

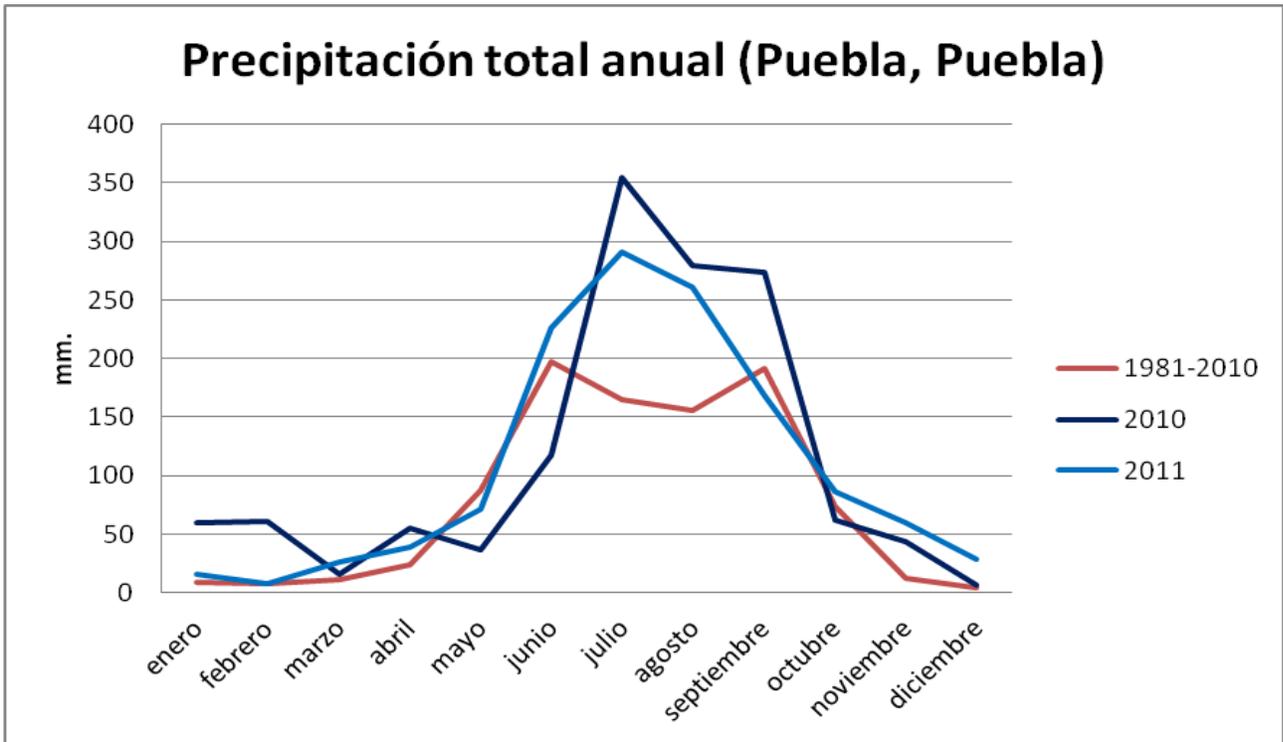


Figura 12. Precipitación total anual en Puebla (2010-2011) con respecto a la normal climatológica (1981-2010) en Puebla. Servicio meteorológico Nacional, 2012.