



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA  
DE MÉXICO**

---

---

**FACULTAD DE CIENCIAS**

**Biología floral y síndrome de polinización en  
*Stenocactus arrigens* (Link) A. Berger ex A.  
W. Hill**

**TESIS**

**QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:**

**BIÓLOGA**

**PRESENTA:**

**JESSICA MAGDALENA REYES TOVAR**

**DIRECTOR DE TESIS:**

**DRA. MARÍA DEL CARMEN MANDUJANO SÁNCHEZ**

**CIUDAD UNIVERSITARIA, CD.MX.2016**





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.

1. Datos del alumno  
Reyes  
Tovar  
Jessica Magdalena  
5538923110  
Universidad Nacional Autónoma de México  
Facultad de Ciencias  
Biología  
308194593
2. Datos del tutor  
Dra.  
María del Carmen  
Mandujano  
Sánchez.
3. Datos del sinodal 1  
Dr.  
Pedro Eloy  
Mendoza  
Hernández
4. Datos del sinodal 2  
Dra.  
Concepción  
Martínez  
Peralta
5. Datos del sinodal 3  
Dra.  
Mariana  
Hernández  
Apolinar
6. Datos del sinodal 4  
M.en C.  
María Rosa  
Mancilla  
Ramírez.
7. Datos del trabajo escrito  
Biología floral y síndrome de polinización en *Stenocactus arrigens* (Link) A.  
Berger ex A. W. Hill.  
Tesis Profesional  
47 p.  
2016

## **AGRADECIMIENTOS OFICIALES**

A la Dra. María del Carmen Mandujano Sánchez por la dirección de esta tesis.

Al Laboratorio de Genética y Ecología del Departamento de Ecología de la Biodiversidad del Instituto de Ecología, Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM), que otorgó sus instalaciones para la realización de este trabajo.

Este proyecto se realizó gracias al financiamiento del proyecto PAPITT-UNAM IN2074411-3, SEP-CONACYT 221362 y del presupuesto operativo del Instituto de Ecología, UNAM, otorgados a la Dra. María del Carmen Mandujano Sánchez.

Al Taller “Ecología Terrestre y Manejo de Recursos Bióticos” de la Facultad de Ciencias, UNAM, dónde se realizó este trabajo y a los profesores que ahí colaboran.

Agradezco el tiempo y la atención brindada al Dr. Ángel Salvador Arias Montes, M. en C. Aldanelly Galicia Pérez, Biól. Hugo Altamirano, Biól. Manuel Edday Farfán Beltrán, Biól. Luisa Alejandra Granados Hernández y Mariana Cano Rodríguez quienes me ayudaron en el trabajo de campo, la determinación taxonómica y el análisis estadístico.

Al Ing. Emiliano Sánchez director del Jardín Botánico Regional de Cadereyta y al personal que en él labora por las facilidades brindadas.

A la Dra. Mariana Rojas Aréchiga por la asesoría brindada para la realización de las pruebas de germinación en el laboratorio y en la logística de las salidas de campo. A la Lic. Anabel Domínguez Reyes por el apoyo en el laboratorio.

A mis sinodales Dr. Pedro Eloy Mendoza Hernández, Dra. Concepción Martínez Peralta, Dra. Mariana Hernández Apolinar y M. en C. María Rosa Mancilla Ramírez por su tiempo, revisiones y contribuciones a este trabajo.

## **AGRADECIMIENTOS PERSONALES**

A la Universidad Nacional Autónoma de México y a la Facultad de Ciencias, por ser los recintos que han permitido mi crecimiento académico, profesional y personal.

A Meli porque a pesar de todo nunca ha perdido la confianza en mí, por compartir sin pedir nada a cambio sus múltiples conocimientos y por ser un ejemplo a seguir.

A mis padres Héctor Reyes Calderón y María Juana Tovar Hernández por su amor, su apoyo incondicional durante toda la vida y por enseñarme que la única que puede conseguir lo que se proponga soy yo.

A mis hermanos Alondra, Karla y Alejandro por compartir conmigo todas las emociones posibles y ser mis compañeros de vida. A Ángel, Axel y Sofía por representar tantas nuevas alegrías.

A mis compañeros y amigos Teo, Luz, Luisa, Eddy, Alejandro, Antonio, Sandra, Karina y Mariana por su apoyo, sus conocimientos y felicidad.

A Daniel por motivarme a terminar esta etapa, a emprender nuevos retos y por todo el cariño brindado.

A mis profesores y colegas ya que sin sus enseñanzas y consejos no habría logrado culminar esta etapa.

## Contenido

|  |    |
|--|----|
| <b>RESUMEN</b> .....   | 1  |
| <b>1. INTRODUCCIÓN</b> .....   | 2  |
| <b>2. OBJETIVOS E HIPÓTESIS</b> .....  | 9  |
| 2.1 Objetivo general.....  | 9  |
| 2.2. Objetivos particulares.....   | 9  |
| 2.3 Hipótesis.....   | 10 |
| <b>3. MATERIALES Y MÉTODOS</b> .....   | 11 |
| 3.1 . Descripción de la especie .....  | 11 |
| 3.2. Zona de estudio .....   | 12 |
| 3.3 Fenología reproductiva, conducta floral y producción de néctar .....   | 13 |
| 3.4. Evaluación de los visitantes florales. ....   | 13 |
| 3.5. Análisis de los sistemas de apareamiento: morfometría floral, relación polen-óvulo e índice de entrecruza (OCI).....                      | 14 |
| Morfometría floral.....  | 14 |
| Relación polen óvulo.....  | 15 |
| Determinación del índice de entrecruza “ <i>outcrossing index</i> ” (OCI). ....  | 15 |
| 3.6. Evaluación de los sistemas de cruza.....  | 16 |
| Experimentos de polinización controlada y determinación de la producción de frutos ( <i>fruit set</i> ) y de semillas ( <i>seed set</i> )..... | 16 |
| Determinación de la tasa de entrecruza. ....   | 18 |
| Cálculo del coeficiente de endogamia.....  | 18 |
| 3.7. Determinación de la limitación por polen .....  | 18 |
| 3.8 Evaluación del porcentaje de germinación.....  | 19 |
| 3.9 Cálculos de la adecuación relativa y de la adecuación general .....  | 20 |
| <b>4. RESULTADOS</b> .....   | 21 |
| 4.1 Fenología reproductiva, conducta floral y producción de néctar. ....   | 21 |
| 4.2 Evaluación de los visitantes florales .....  | 22 |
| 4.3 Análisis de los sistemas de apareamiento: morfometría floral, relación polen-óvulo e índice de entrecruza (OCI).....                       | 24 |
| Morfometría floral.....  | 24 |
| Relación polen óvulo.....  | 25 |
| Determinación del índice de entrecruza “ <i>outcrossing index</i> ” (OCI). ....  | 25 |

|  |           |
|--|-----------|
| 4.4 Evaluación de los sistemas de cruza.....   | 25        |
| Experimentos de polinización controlada y determinación de la producción de frutos ( <i>fruit set</i> ) y de semillas ( <i>seed set</i> )..... | 25        |
| Determinación de la tasa de entrecruza.....  | 27        |
| Cálculo del coeficiente de endogamia.....  | 27        |
| 4.5. Determinación de la limitación por polen.....   | 28        |
| 4.6. Evaluación del porcentaje de germinación.....   | 28        |
| 4.7. Cálculos de la adecuación relativa y de la adecuación general.....  | 30        |
| <b>5. DISCUSIÓN.....</b>   | <b>31</b> |
| 5.1. Fenología reproductiva, conducta floral y producción de néctar.....   | 31        |
| 5.2 Evaluación de los visitantes florales.....   | 32        |
| 5.3. Análisis del sistema de apareamiento: morfometría floral, relación polen-óvulo e índice de entrecruza (OCI).....                          | 32        |
| 5.4. Evaluación de los sistemas de cruza.....  | 33        |
| a) Experimentos de polinización controlada: producción de frutos ( <i>fruit set</i> ) y producción de semillas ( <i>seed set</i> ).....        | 33        |
| b) Determinación de la tasa de entrecruza y coeficiente de endogamia.....  | 35        |
| 5.5. Determinación de la limitación por polen.....   | 35        |
| 5.6. Evaluación de los porcentajes de germinación.....   | 36        |
| 5.7. Cálculos de la adecuación relativa y de la adecuación general.....  | 37        |
| <b>6. CONCLUSIONES.....</b>  | <b>38</b> |
| <b>7. LITERATURA CITADA.....</b>   | <b>39</b> |
| <b>8. ANEXOS.....</b>  | <b>45</b> |
| Anexo 1. Comparación de la producción de frutos ( <i>fruit set</i> ) entre tratamientos. Generalized Linear Model Fit.....                     | 45        |
| Anexo 2. Comparación del peso de los frutos entre tratamientos.....  | 45        |
| Anexo 3. Comparación de la producción de semillas ( <i>seed set</i> ) entre tratamientos.....  | 46        |
| Anexo 4. Comparación del peso de los frutos entre los tratamientos de entrecruza y polen suplementario.....                                    | 46        |
| Anexo 5. Comparación de los porcentajes de germinación de los frutos entre los tratamientos de polinizaciones controladas.....                 | 47        |



## RESUMEN

Los estudios de biología reproductiva en las angiospermas permiten entender diversos aspectos sobre la estructura genética de las poblaciones, las interacciones que establecen con otras especies y diversos atributos de su historia de vida. De este modo en los sistemas sexuales de las plantas con flor pueden reconocerse a) los sistemas de apareamiento (*breeding system*) y b) los sistemas de cruza (*mating system*). Los primeros se refieren a todos aquellos mecanismos de expresión sexual a nivel de flor (i.e. hercogamia y dicogamia), de individuo o del conjunto de plantas en una población (v.g. dioecia, el hermafroditismo, la ginodioecia, entre otros); mientras que los segundos determinan el flujo de polen y la composición genética de la misma, entre éstos se reconocen principalmente la autocruza, la entrecruza o los sistemas mixtos. La hipótesis central de la biología reproductiva sugiere que se favorece la entrecruza sobre otros sistemas de cruza, por esta razón y con la finalidad de promover el entrecruzamiento cada planta desarrolla diferentes atributos morfofisiológicos, conductuales y fenológicos que en conjunto constituyen su biología floral. Uno de estos mecanismos consiste en la atracción de agentes biológicos encargados de la transferencia del polen y se ha propuesto que existe una estrecha relación entre los atributos reproductivos de las plantas y las características de los visitantes florales, a lo que se ha denominado *síndromes de polinización*. Los síndromes de polinización reportados para las cactáceas son la quiropterofilia, la ornitofilia, la falenofilia, y principalmente la melitofilia llevada a cabo por abejas solitarias. Debido a la importancia que representan los estudios de biología reproductiva de las cactáceas, en este trabajo se estudió la biología reproductiva de *Stenocactus arrigens* en Cadereyta de los Montes, Querétaro, México. Se realizaron experimentos de polinización controlada para la evaluación del sistema de cruza, se determinó el sistema de apareamiento y la fenología reproductiva de la especie, así como un registro de los visitantes florales. Los resultados indicaron que la especie presentó un periodo de floración y fructificación entre los meses de enero a abril del año 2014. Se determinó que las flores presentaron en promedio 109 óvulos y 263,201 granos de polen, la producción de néctar fue escasa, su longevidad promedio fue de dos días; además, se observó la ocurrencia de hercogamia y dicogamia.

Los principales visitantes florales observados fueron escarabajos de las Familias Curculionidae y Melyridae, así como abejas de las Familias Halictidae y Andrenidae.

Asimismo, *S. arrigens* presentó un sistema de apareamiento xenógamo obligado (OCI >5), con escasa limitación por polen; el sistema de cruce fue mixto ya que en la producción de frutos no se observaron diferencias significativas ( $X^2_{3; 0.24}=4.18$ ) y la tasa de entrecruza fue de 0.45. La menor producción de semillas, así como el porcentaje de germinación más bajos se obtuvieron de los tratamientos de autocruza, por lo que sostiene que la endogamia es más fuerte en estos procesos.

Palabras clave. Sistemas de cruce, sistemas de apareamiento, limitación por polen, síndromes de polinización, endogamia y *Stenocactus arrigens*.

## 1. INTRODUCCIÓN

La familia Cactaceae comprende aproximadamente 2000 especies y es originaria del continente americano (Bravo-Hollis, 1978; Anderson, 2001). Se encuentran distribuidas desde el norte de Canadá (59° latitud norte) hasta la Patagonia (52° latitud sur; Bravo-Hollis, 1978). La flora de México ha sido considerada como una de las más variadas del mundo y es el país con la mayor riqueza de cactáceas a nivel mundial al contar con alrededor de 913 taxa; agrupados en 24 géneros conformando un total de 669 especies de las cuales cerca del 80% son endémicas (Guzmán y Dávila, 2003). Esta riqueza puede ser explicada gracias a la posición geográfica del país; a lo accidentado de su fisiografía, a la gran cantidad de cadenas montañosas, litorales, altiplanos, valles y cuencas fluviales (Bravo-Hollis, 1978). Asimismo, se ha reconocido que son importantes los efectos de la variedad de tipos de suelos, así como también las intensas migraciones recibidas tanto de Norteamérica como de América del Sur, que en conjunto han contribuido a la diversificación de una gran cantidad de especies. (Bravo y Scheinvar, 1995). Debido a los fenómenos anteriormente descritos la mayor parte de nuestro país se encuentra formado por

regiones áridas y semiáridas donde la reducida disponibilidad de agua y la alta radiación solar han provocado que , las plantas que crecen en estos ambientes hayan desarrollado una serie de adaptaciones que les han permitido sobrevivir y reproducirse con gran éxito (Bravo, 1978). En conjunto, tales adaptaciones les permiten acumular el agua absorbida durante las lluvias esporádicas, y al mismo tiempo evitan que la mayor parte de ésta se pierda durante la evapotranspiración (Bravo y Scheinvar, 1995; Godínez- Álvarez *et al.*, 2003).

Para los cactus al igual que en el resto de las angiospermas, la flor resulta ser uno de los órganos de mayor importancia ya que determina los eventos reproductivos sexuales. Su estructura es muy semejante a la del resto de las dicotiledóneas, sin embargo, presenta características particulares que resultan significativamente distintas (Mandujano *et al.*, 2010). Las flores surgen a partir de las areolas, son sésiles, casi siempre actinomorfas y hermafroditas. A excepción del género *Pereskia*, el ovario es ínfero polícarpo y se encuentra incluido en el pericarpelo, el cual es una rama especializada que se alarga para dar origen al receptáculo. A partir de este último se desarrollan a manera de espiral los segmentos externos del perianto y hacia adentro se forman los estambres. (Mandujano *et al.*, 2010; Bravo-Hollis, 1978). En la mayor parte de las especies, los granos de polen son pequeños, esféricos, amarillentos, lisos o con poros (Bravo- Hollis, 1978). El fruto es de tipo compuesto porque en su formación intervienen el ovario y el pericarpelo; asimismo, su morfología es esférica, globosa o con forma de clava, en el cual se produce una gran cantidad de semillas (Bravo y Scheinvar, 1995). El néctar es secretado por una estructura similar a un disco localizado a lo largo del hipantio y en algunas especies es posible localizar nectarios bien diferenciados (Mandujano *et al.*, 2010).

Como se mencionó anteriormente, México es considerado como uno de los países que posee un alto índice de diversidad y endemismo de flora cactológica, desafortunadamente, una alta proporción de estas especies se encuentran en peligro de extinción o amenazadas (Hernández *et al.*, 2010; Goettsch *et al.*, 2015). Ante esta situación, son de suma importancia los trabajos enfocados en la planeación de estrategias de conservación de las mismas. En la actualidad uno de los enfoques más interesantes consiste en el diseño de planes de manejo que utilizan como principal herramienta a los estudios sobre la biología

reproductiva de las especies de interés y los estudios demográficos (Caswell, 1996). Estos estudios son de gran importancia ya que permiten identificar las interacciones bióticas establecidas entre los organismos de la misma especie y/o de especies distintas; así mismo son de utilidad en la determinación de aspectos básicos sobre sus historias de vida y para establecer el estado actual de sus poblaciones (Martínez- Peralta *et al.*, 2014; Caswell, 1996).

Los estudios de biología reproductiva tienen diversas vías de análisis. La primera de ellas consiste en la evaluación de los sistemas de cruce (*mating system*) que se refieren al patrón de transmisión de genes entre los individuos de una población con la finalidad de generar descendencia y que establecen las bases de la estructura genética de la población (Waser y Price, 1993; Mandujano *et al.*, 2010 y Galicia, 2013).

Se reconocen tres tipos principales de sistemas de cruce: la *autocruza* en la cual la fertilización sólo puede ser llevada a cabo cuando los gametos femenino (óvulo) y el masculino (grano de polen) presentan el mismo genotipo; la *entrecruza* en donde la fertilización solamente ocurre si los gametos presentan genotipos distintos; y finalmente, los *sistemas mixtos* en los que se combinan ambas estrategias (Waser y Price, 1993; Galicia, 2013). Para el análisis de los sistemas de cruce se han desarrollado diversas estrategias de estudio, una de ellas consiste en la determinación de la tasa de fecundación cruzada a partir de la producción de frutos y semillas obtenidos mediante experimentos de polinización controlada, a través de la siguiente fórmula (Mandujano *et al.*, 2010):

$$te = wx / (wx + ws)$$

donde *te* es la tasa de fecundación cruzada, *wx* es el total de semillas producidas por los tratamientos de entrecruza y *ws* es el total de semillas procedentes de la autofecundación. De esta forma, la tasa de entrecruza adquiere valores que van desde 0 para los sistemas con autocruza obligada, 0.5 para los sistemas mixtos y 1 para los de entrecruza obligada.

La segunda vía de análisis consiste en la evaluación de los sistemas de apareamiento (*breeding system*) que se refieren a los mecanismos morfológicos y fisiológicos a nivel de flor, individuo o población que determinan la expresión sexual en las plantas (Richards, 1986; Galicia, 2013). La evaluación de los sistemas de apareamiento es realizada

típicamente mediante la determinación de la relación polen óvulo y la estimación del índice de entrecruza (*outcrossing index* OCI) propuestos por Cruden en 1977). Dicho autor estableció una clasificación de los sistemas de apareamiento (OCI) en angiospermas. El primero de ellos es la *cleistogamia* (OCI = 0) en la cual las flores se autocruzan debido a la ausencia de anthesis; la *autogamia obligada* en la cual se producen semillas sólo a través de la autofertilización (OCI = 1). La autogamia facultativa (OCI = 2) ocurre en plantas cuyas flores recurren a la autofertilización para la producción de semillas aunque en ocasiones pueden valerse de la entrecruza; en las plantas con xenogamia facultativa (OCI = 3) la mayor producción de semillas proviene de la entrecruza y en ciertas condiciones pueden llegar a ser autocompatibles. Por último, la *xenogamia obligada* (OCI = 4) caracteriza a aquellas plantas cuyas flores sólo generan semillas si estas provienen de la entrecruza. En algunas especies de cactáceas este índice ha tomado mayores valores (OCI=5), especialmente para aquellas que presentan hercogamia, tasas de entrecruzamientos cercanas a 1 y además un sistema de autoincompatibilidad (Martínez-Peralta *et al.*, 2011; 2014).

La morfometría floral permite conocer de manera general las características morfológicas de la flor, el ciclo floral e inferir así el sistema de cruzamiento de las plantas a través de la estimación del índice de entrecruza (OCI) (Galicía, 2013). Para lo anterior se consideran tres parámetros de la morfología de la flor que son: a) el diámetro de la corola, b) la separación temporal de las funciones sexuales dentro de la flor (dicogamia) y c) la separación espacial de las funciones masculinas y femeninas (hercogamia) (Tabla 1). Estos análisis también permiten determinar el o los síndromes de polinización asociados (Cruden, 1977; Richards, 1986; Galicía, 2013).

Tabla 1. Conducta floral, características florales evaluadas y la puntuación otorgada al atributo en el índice de entrecruza. Tomado de Cruden (1977). La suma de las puntuaciones indica el valor otorgado al índice OCI.

| <b>Diámetro de la flor</b> | <b>Separación temporal de las funciones sexuales (dicogamia).</b> | <b>Separación espacial de las funciones sexuales (hercogamia).</b> |
|----------------------------|---|--|
| Más de 1 mm= 0             | Homogamia y protoginia =0   | Sin separación=0   |
| 1-2 mm=1                   | Homogamia y protoginia = 0  |  |
| 2-6 mm=2                   |   | Separados=1  |
| Más de 6 mm=3              | Protandria = 1  | Separados=1  |

Por su parte, la relación polen óvulo (P/O) se relaciona con las características sexuales de la flor; de manera general se ha demostrado (Cruden, 1997, Mandujano *et al.*, 2010) que las plantas con sistemas de entrecruza presentan P/O muy elevados (Tabla 2) ya que necesitan transferir su polen a grandes distancias o requieren de vectores para la transferencia del mismo, por estas razones se ven obligadas a producir grandes cantidades de polen de manera que se asegure la llegada de éste a otras plantas y se promueva la fertilización efectiva, se compense la producción de polen defectuoso y que se recompense a los vectores bióticos que se encarguen de transferirlo. Estos eventos en conjunto pueden promover la ocurrencia de un fenómeno conocido como limitación por polen; es decir, la insuficiencia cualitativa y cuantitativa de los granos de polen al depositarse en el estigma implican una menor producción de semillas (*seed set*) en los grupos control, en contraste con aquellos a los que se les añade una carga de polen suplementario (Larson y Barret, 2000; Argueta *et al.*, 2013; Galicia, 2013).

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

| OCI | Sistema de apareamiento | P/O          | Log P/O   |
|-----|-------------------------|--------------|-----------|
| 0   | Cleistogamia            | 4.7±0.7      | 0.65±0.07 |
| 1   | Autogamia obligada      | 27.7±3.1     | 1.43±0.05 |
| 2   | Autogamia facultativa   | 168.5±22.1   | 2.15±0.06 |
| 3   | Xenogamia facultativa   | 796.6±87.7   | 2.81±0.05 |
| 4   | Xenogamia obligada      | 5859.2±936.5 | 3.65±0.06 |

Las cactáceas al igual que otras angiospermas han desarrollado una serie de adaptaciones morfofisiológicas que les permiten promover el entrecruzamiento y evitar con ello los efectos nocivos de la endogamia como lo es la disminución de la adecuación de sus poblaciones (depresión endogámica) (Mandujano *et al.*, 2010; Argueta *et al.*, 2013). Una de estas adaptaciones es la dicogamia, mediante la cual la maduración de las funciones masculinas y femeninas dentro de la flor ocurre en periodos distintos. Así cuando los granos de polen maduran, antes de que el estigma se encuentre receptivo, se originan flores protándricas. Por otro lado, cuando en la flor ocurre primero la maduración de los óvulos la flor es de tipo protógina (Mandujano *et al.*; 2010; Jaramillo, 2006). La evidencia sugiere que en *Pilosocereus royenii* la separación temporal de las funciones sexuales tiene una duración de aproximadamente tres horas; en cambio, en otras especies tales como *Ferocactus histrix* y *Echinocactus platyacanthus* la duración de este mecanismo puede extenderse hasta por varios días (Mandujano *et al.*, 2010). Esta estrategia evita que el polen pueda fertilizar a la misma flor, pero no impide la geitonogamia, es decir, la transferencia de polen entre flores distintas de la misma planta (Larson y Barret, 2000; Galicia, 2013).

Por otro lado, en la hercogamia las estructuras sexuales masculinas y femeninas dentro de la flor se encuentran morfológica y espacialmente separadas. Este fenómeno ha sido reportado en *Ariocarpus fissuratus*, *Pilosocereus lanuginosus* y *Pilosocereus moritzianus* ya que todos presentan diferencias significativas entre el tamaño del estilo y el de las anteras (Mandujano *et al.*, 2010; Martínez-Peralta *et al.*, 2011; 2014).

Otra de las estrategias involucradas en la promoción del entrecruzamiento son los sistemas de autoincompatibilidad que consisten en una serie de mecanismos moleculares utilizados

por las plantas para prevenir la autofertilización y la endogamia (Rea y Nasrallah, 2008; Martínez-Peralta *et al.*, 2011; 2014); lo anterior implica un sistema de reconocimiento celular entre los genotipos de las plantas madre y padre que regulan la aceptación o rechazo de los granos de polen (Larson y Barret, 2000; Mandujano *et al.*, 2010; Galicia, 2013;). Se ha demostrado que la mayor parte de las cactáceas que presentan hercogamia y/o dicogamia también expresan sistemas de autoincompatibilidad; un ejemplo de lo anterior son las especies del género *Schlumbergera* (Mandujano *et al.*, 2010). Por ello, la dicogamia y la hercogamia pueden tener otras funciones como la de evitar la interferencia reproductiva y el descuento de polen (Lloyd y Webb, 1986; Lloyd ,1992).

Asimismo, la atracción hacia agentes bióticos encargados de la dispersión de los granos de polen constituye otra adaptación que las angiospermas han desarrollado para promover la entrecruza y se considera que existe una estrecha relación entre los rasgos florales y los de los polinizadores. Barrett y Harder (2006) sostienen que los “síndromes de polinización” son el resultado de una convergencia evolutiva entre los rasgos florales y los de los polinizadores cuya finalidad es la de lograr una transferencia óptima de polen entre los individuos de una misma especie y promover así la fertilización efectiva (Galicia, 2013). Para las cactáceas, los síndromes de polinización reportados son la quiropterofilia, la psicofilia, la falenofilia, la ornitofilia y la melitofilia. Por ejemplo, en la cactácea globosa *Echinomastus erectocentrus* la polinización es llevada a cabo por abejas solitarias (Martínez-Peralta *et al.*, 2014). Por su parte, la quiropterofilia y falenofilia se han reportado para cactáceas columnares tales como *Stenocereus griseus*, *S. eruca*, *S. repandus*, *S. horrispinus* y *Neobuxbania macrocephala*. (Mandujano *et al.*, 2010).

Por otro lado, en la evaluación de los análisis de la biología reproductiva en plantas son necesarios los estudios relacionados con los comportamientos fenológicos de las mismas, ya que éstos permiten comprender los procesos que influyen en la reproducción sexual. Para el caso particular de las cactáceas, las flores presentan una longevidad promedio de dos días, sin embargo pueden modificar este periodo según las condiciones ambientales y/o la falta de polinización (Martínez-Peralta y Mandujano, 2012). Asimismo, mediante estos estudios es posible comprender la relación que los cactus establecen con los polinizadores y la respuesta morfológica y fisiológica que las plantas desarrollan ante estímulos

ambientales como son la temperatura y la humedad (González y Navarro, 2011). Por ejemplo, se ha comprobado que en diversos grupos de cactáceas la producción de estructuras sexuales ocurre de manera asincrónica y simultánea lo que les ofrece una ventaja ante condiciones ambientales adversas (Bustamante y Búrquez, 2005). Esto en conjunto determina que la floración se lleve a cabo en el momento preciso del año; de tal manera que, la asignación de recursos sea la más óptima para la formación de frutos y semillas (Elzinga *et al.*, 2007).

Como se ha visto, los sistemas que componen a la biología reproductiva de las cactáceas son sumamente complejos y de gran interés biológico, y aunque se han desarrollado diversos trabajos relacionados con esta temática, aún permanecen desconocidos diversos aspectos de la biología reproductiva de un gran número de especies. De acuerdo con Mandujano *et al* (2010) se conoce menos del 5% de la biología floral de las especies de cactáceas; un ejemplo de lo anterior son las especies localizadas en el extremo sur del Desierto Chihuahuense- Queretano, el cual según Hernández *et al.*, (2010) constituye un gran núcleo de gran diversidad y endemismos. En este lugar el género *Stenocactus* es uno de los más diversos y menos estudiado, por estas razones en este trabajo se pretende abrir un panorama a la investigación de este género a partir del análisis de la especie *Stenocactus arrigens* y con ello determinar las características generales de su biología reproductiva y el síndrome de polinización que presenta.

## **2. OBJETIVOS E HIPÓTESIS**

### **2.1 Objetivo general.**

- Determinar la biología floral, los patrones fenológicos y el síndrome de polinización de *Stenocactus arrigens* en el Jardín Botánico de Cadereyta de los Montes “Ing. Manuel González de Cosío” Querétaro, México.

### **2.2. Objetivos particulares**

- a) Determinar el sistema de cruce y el sistema de apareamiento de *Stenocactus arrigens*.

- b) Evaluar la conducta floral de la especie.
- c) Establecer si esta especie presenta limitación por polen mediante experimentos de polinización controlada.
- d) Analizar la existencia de autoincompatibilidad en *S. arrigens* mediante experimentos de polinización controlada.
- e) Conocer la fenología reproductiva de *S. arrigens* en la población estudiada.
- f) Determinar el síndrome de polinización presente en *S. arrigens*.

### 2.3 Hipótesis

- a) Una alta proporción de cactus favorecen la entrecruza a través de diversos mecanismos morfofisiológicos y conductuales de autoincompatibilidad para reducir el riesgo de depresión por endogamia. Si este es el caso de *Stenocactus arrigens*, entonces la producción de frutos (*fruit set*) y la producción de semillas (*seed set*) provenientes de estos tratamientos será más exitosa que en los de autocruza.
- b) Si se favorece la entrecruza, el índice de entrecruza (OCI) hará referencia a un sistema de apareamiento xenógamo obligado o facultativo. Asimismo, la relación polen óvulo presentará valores altos.
- c) Las especies que se entrecruzan presentan una mayor limitación de polen debido a que éste se encuentra disponible en menor proporción; por lo tanto, si *S. arrigens* la presenta, los tratamientos de polen suplementario tendrán una mayor producción de frutos y semillas que los del grupo control.
- d) Si los eventos reproductivos en *S. arrigens* dependen de las condiciones de su entorno, se espera que la floración ocurra de manera simultánea y cuándo la disponibilidad de recursos sea la más conveniente.
- e) En la mayoría de las cactáceas globosas la polinización es llevada a cabo por abejas solitarias, si este es el caso de *S. arrigens* el síndrome de polinización que se observará será la melitofilia.

### 3. MATERIALES Y MÉTODOS

#### 3.1 . Descripción de la especie

*Stenocactus arrigens* (Link) A. Berger ex A.W. Hill es un cactus con tallo subgloboso de color verde glauco y más o menos aplanado en el ápice. La especie presenta costillas delgadas, onduladas que varían en número entre 34 y 42 y cada una con 1 a 2 areolas con tomento. Cuenta con 4 espinas radiales grisáceas de aproximadamente 15 mm de longitud; por su parte, las espinas centrales son 4: 3 superiores y 1 central, la espina media superior es aplanada hasta la parte romboidal mide 2 mm de ancho por 20-25 mm de longitud. Las dos espinas laterales y la central tienen forma de aguja y miden en promedio 25 mm de largo. La flor es acampanada de aproximadamente 17-19 mm de longitud, los tépalos son de color blanco con franja media púrpura oscura o castaño rojiza; el estilo mide en promedio 2 mm es de color rosa y con estigma multilobular de color amarillo; los estambres son amarillos y numerosos. Las semillas son negras, globosas, con testa reticulada, miden 1.5 mm de ancho por 2 mm de largo y cuentan con un micrópilo de 0.5 mm de ancho por 1 mm de largo (Fig. 1; Meyrán, 2003; Rangel-Becerril, 2009).

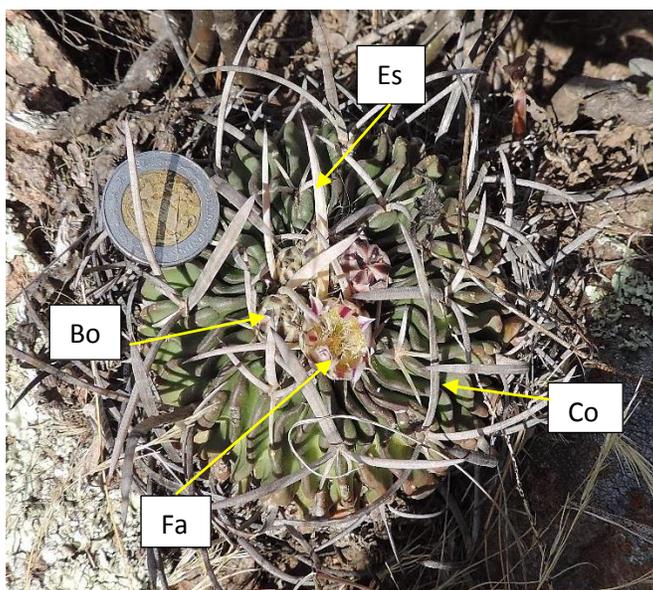


Fig. 1. Individuo maduro de *Stenocactus arrigens*. Jardín Botánico Regional de Cadereyta “Ing. Manuel González de Cosío” Querétaro, México. Se observan las costillas (Co), las espinas (Es) los botones florales (Bo) y una flor en anthesis (Fa). Foto: Dra. María del Carmen Mandujano Sánchez.

### 3.2.Zona de estudio

El Jardín Botánico Regional de Cadereyta “Ing. Manuel González de Cosío” se encuentra ubicado en el Municipio de Cadereyta de los Montes, Querétaro, México ( $20^{\circ} 34'$  y  $21^{\circ} 03'$  de latitud norte y entre los  $99^{\circ} 23'$  y  $99^{\circ} 53'$  de longitud oeste) a una altitud de 2070 msnm (Fig. 2). En la parte norte del Municipio se localiza un sistema de sierras que se distribuyen en dirección noroeste-sureste y que cubren el 60 % de su superficie, mientras que en el extremo sur presenta llanuras, lomeríos y mesetas. Los climas predominantes en este municipio son el semicálido y el semiseco, ambos se caracterizan por presentar una temperatura media anual promedio de  $16.7^{\circ}\text{C}$  con una máxima de  $38^{\circ}\text{C}$ ; la precipitación anual promedio durante la temporada de lluvias es de 480 mm (Consejo de Ciencia y Tecnología Del Estado de Querétaro, CONCYTEC, 2016). Dadas las condiciones climáticas y ambientales de esta zona la vegetación característica se encuentra constituida principalmente por plantas suculentas como lo son las pertenecientes a las familias Cactaceae, Agavaceae y Crassulaceae; asimismo, en algunos sitios asilados es posible encontrar zonas boscosas de pino y encino. La fauna representativa se encuentra compuesta por mamíferos pequeños como roedores, liebres, zorrillos, murciélagos, zorras, etc.; serpientes, tortugas, lagartos y una amplia diversidad de insectos y aves (CONCYTEC, 2016).



Fig. 2. Ubicación de la zona de estudio. En color azul se indica al estado de Querétaro, en color naranja se muestra la región correspondiente a Cadereyta de Montes y la estrella señala la ubicación del Jardín Botánico Regional de Cadereyta “Ing. Manuel González de Cosío”.

### **3.3 Fenología reproductiva, conducta floral y producción de néctar**

La determinación de la fenología reproductiva de esta especie se realizó mediante el censo de 221 individuos los cuales fueron etiquetados con un código de colores. En éstos se registró el número de flores y frutos producidos durante la etapa reproductiva de la especie comprendida entre los meses de enero a abril del año 2014.

Para la descripción de la conducta floral se seleccionaron 21 flores que permanecieron expuestas, posteriormente y empleando un vernier digital se midió el diámetro de la corola cada hora durante el pico de floración de la especie. Estas flores también se utilizaron para la determinación del contenido de néctar, el cual se obtuvo a través de la medición de su contenido con un tubo capilar de 1  $\mu$ l. Todas las mediciones fueron llevadas a cabo desde el momento en que las flores entraron en anthesis hasta sus senescencia y cada medición se realizó desde la apertura total hasta el cierre de la corola (Kearns y Ynouye, 1993).

### **3.4. Evaluación de los visitantes florales.**

Los visitantes florales fueron colectados empleando cámaras letales (tubos de ensayo de vidrio de 15 cm de largo rellenos de algodón con acetato de etilo) y determinados. La actividad de estos ejemplares fue estudiada mediante observaciones directas en ocho ejemplares de *Stenocactus arrigens*, éstas se realizaron durante cinco días a través del monitoreo de 24 flores en lapsos cíclicos de 15 minutos. El periodo de observación abarcó de las nueve de la mañana a las cinco de la tarde, cuando los insectos tuvieron actividad en las flores. Además, las observaciones de la conducta de los visitantes fueron incluidas como una medida indirecta de su papel como polinizadores, por lo que se registró si los

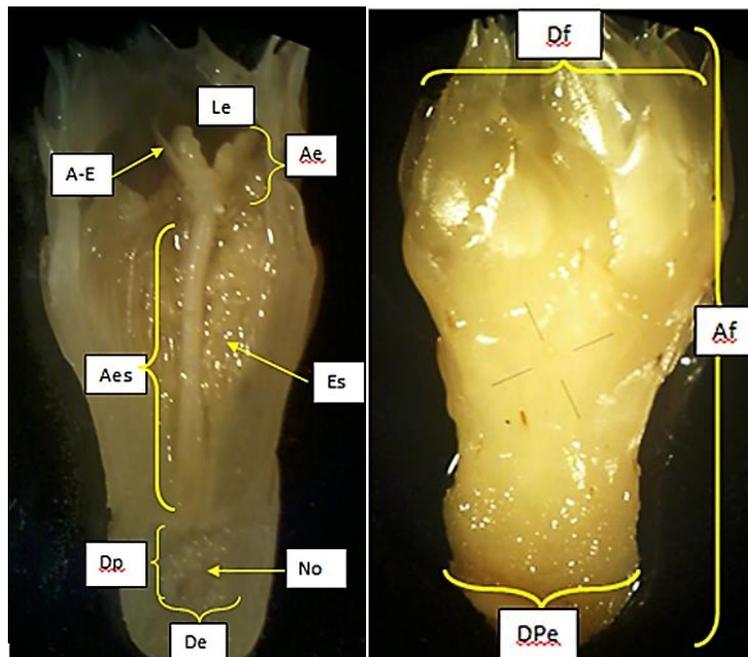
visitantes florales entraban en contacto con las anteras y el estigma, el número de flores visitadas, la hora de la visita y el tipo de visitante observado (Mandujano *et al.*, 1996).

### 3.5. Análisis de los sistemas de apareamiento: morfometría floral, relación polen-óvulo e índice de entrecruza (OCI)

El sistema de apareamiento de esta especie se determinó a partir de los siguientes tres parámetros establecidos por Cruden (1977): la morfometría floral, la relación polen óvulo y el índice de entrecruza (OCI) como se describe a continuación.

#### Morfometría floral

En la temporada reproductiva de *Stenocactus arrigens* se colectaron 30 flores abiertas de plantas diferentes y se conservaron en frascos de vidrio con alcohol al 70% para la medición de sus características en el laboratorio. Posteriormente con la ayuda de un vernier digital y un microscopio estereoscópico se registraron los siguientes parámetros florales (Esquemas 1 y 2).



Esquema 1 (derecha) y 2 (izquierda). Corte longitudinal y flor completa de *S. arrigens*, se muestran los atributos medidos para los análisis de morfometría floral. *Ae*: altura del estigma, *Aes*: altura del estilo, *A-E*: distancia mínima entre anteras y estigma, *Le*: número de lóbulos del estigma, *Dp*: diámetro polar de la cámara ovárica, *De*: diámetro ecuatorial de la cámara ovárica, *No*: número de óvulos, *Es*: número de estambres. *Af*: altura de la flor, *DPe*: diámetro del pericarpelo; *Df*: diámetro de la corola.

### **Relación polen óvulo**

Se colectaron 50 anteras maduras previas a la dehiscencia, cada una de éstas se colocó en un tubo Ependorf al cuál se le añadió un mililitro de agua destilada y un grano de detergente en polvo. Inmediatamente los tubos se colocaron sobre un agitador mecánico para la liberación del polen. Posteriormente, se procedió a tomar una alícuota de 150  $\mu$ l de la disolución, la cual fue observada bajo el microscopio estereoscópico para el conteo de los granos de polen. Este número se multiplicó por 1000  $\mu$ l (el factor de dilución) para la obtención del número de granos de polen totales por antera, el cual fue a su vez multiplicado por el número de anteras totales presentes en la flor.

Para la obtención del número de óvulos promedio por flor, se realizaron cortes longitudinales de los ovarios de las flores empleadas en el análisis de morfometría floral ( $n=30$ ), en éstas se contabilizó el número de óvulos y se obtuvo el promedio (Galicia, 2013). La relación polen óvulo (Cruden, 1977) se estimó mediante el cociente del número de granos de polen por flor entre el total de óvulos presentes en la misma.

### **Determinación del índice de entrecruza “*outcrossing index*” (OCI).**

Por su parte, para conocer el sistema de apareamiento de esta especie se calculó el índice de entrecruza (OCI), cuyos parámetros fueron establecidos a partir de las mediciones de 30 flores con anthesis reciente y durante el periodo en que la apertura de la corola fue máxima (alrededor de las 14:00 hrs). De acuerdo con Cruden (1977), en esta muestra de flores se midió:

1. El diámetro (mm) de la flor.

2. La separación temporal entre la dehiscencia de las anteras y la receptividad del estigma (dicogamia). Para ello se realizaron observaciones directas sobre el comportamiento de las flores; es así que si las funciones sexuales maduraban al mismo tiempo se determinó la presencia de homogamia y si lo hacían en intervalos distintos era dicogamia.
3. Separación espacial entre la localización del estigma y de las anteras (hercogamia). Este fenómeno se evaluó a partir de la medición en milímetros de la distancia mínima presente entre las anteras y el estigma de cada flor; de tal modo que si ambas estructuras se encontraban localizadas a la misma altura y el contacto entre ambas era muy probable se le asignó un valor de 0, por otro lado, si estas estructuras estaban separadas y la posibilidad de contacto era baja se asignó el valor 1.

Posteriormente, los valores de cada categoría fueron sumados y se compararon con los valores propuestos por Cruden (1977) para determinar el tipo de sistema de apareamiento de *Stenocactus arrigens* (Ver tablas 1 y 2).

### **3.6. Evaluación de los sistemas de cruce**

**Experimentos de polinización controlada y determinación de la producción de frutos (*fruit set*) y de semillas (*seed set*).**

Para la evaluación de los sistemas de cruce se realizaron experimentos de polinización controlada. Se seleccionaron aleatoriamente 60 plantas con un total de 106 flores, de estas últimas se asignaron 37 como grupo control, 39 para los tratamientos de autocruza, 33 para los de entrecruza y 16 para el de polen suplementario. Las diferencias en el tamaño de la muestra para cada tratamiento se debieron a la disponibilidad de flores, y a que se priorizó la determinación del sistema de cruce (Mandujano *et al.*, 1996; Galicia, 2013). Las flores fueron embolsadas y posteriormente manipuladas experimentalmente de la siguiente manera:

- *Control*. Las flores no fueron manipuladas, por lo que la polinización se produjo bajo condiciones naturales. Estas flores fueron identificadas por número de planta y posición de la flor en la planta.
- *Autopolinización manual*. Una vez ocurrida la antesis, el polen de la flor fue colocado sobre su estigma con un pincel. Las flores se embolsaron y permanecieron así hasta recolecta del fruto.
- *Polinización cruzada*: inmediatamente después de la antesis, las flores asignadas a este tratamiento fueron emasculadas (los estambres fueron cortados) con el propósito de evitar la autopolinización, la polinización se realizó colocando con un pincel el polen colectado de flores de distintas plantas sobre el estigma de la flor receptora.
- *Polen suplementario*: las flores asignadas a este tratamiento permanecieron expuestas a la polinización natural y además, sobre su estigma se colocó una mezcla del polen proveniente de flores de diferentes plantas.

Una vez realizados los experimentos de polinización controlada se procedió a determinar la producción de frutos y semillas procedentes de cada tratamiento. La producción de frutos se obtuvo calculando la proporción de frutos formados a partir del número de tratamientos aplicados a las flores. Por su parte, la producción de semillas se estimó como la proporción de semillas formadas a partir del número de óvulos promedio por flor (Burd, 1994; Galicia, 2013).

Los frutos maduros fueron recolectados a inicios del mes de abril del año 2014, se pesaron en una balanza analítica y de ellos se extrajeron las semillas. Las comparaciones del peso de los frutos entre los tratamientos se analizaron con un ANDeVa de una vía y la comparación de medias a través de una prueba de Tukey-Kramer mediante el programa estadístico JMP, versión 10.

Por su parte, para el análisis estadístico de la producción de frutos y semillas se realizó un modelo lineal generalizado usando la prueba  $X^2$  (programa JMP, versión 10) con distribución binomial para los frutos y de tipo *Poisson* para las semillas. Por su parte, la existencia de diferencias significativas entre tratamientos se evaluó mediante pruebas de contrastes ortogonales (Crawley, 1993; Mandujano *et al.*, 2010; Galicia, 2013).

### **Determinación de la tasa de entrecruza.**

Una vez obtenidos los datos de producción de semillas de cada tratamiento se procedió a la determinación de la tasa de entrecruza (*te*), mediante la fórmula propuesta por Mandujano y colaboradores en 2010 (ver introducción). Así valores >0.5 determinan sistemas que tienden a la entrecruza y valores <0.5 tienden a la autofecundación (Barrett y Eckert, 1990; Mandujano *et al.*, 2010; y Galicia, 2013).

### **Cálculo del coeficiente de endogamia**

Este parámetro se calculó a través de la aplicación de la siguiente fórmula:

$$\delta = 1 - ws/wx$$

Donde  $\delta$  corresponde al coeficiente de endogamia, *ws* es la adecuación promedio (número de semillas producidos) a través del tratamiento de autopolinización manual y *wx* es la adecuación promedio del tratamiento de polinización cruzada manual. De este modo si  $\delta > 0.5$  se considera que la población está favoreciendo el entrecruzamiento, por el contrario si  $\delta < 0.5$  en la población se favorece la autocruza (Charlesworth y Charlesworth, 1979., Mandujano *et al.*, 2010).

### **3.7. Determinación de la limitación por polen**

Para la evaluación de la existencia de limitación por polen se calculó el índice de limitación, mediante el método propuesto por Larson y Barrett (2000):

$$L = 1 - (P_o/P_s)$$

Donde  $L$  es el índice de limitación por polen,  $P_o$  es el porcentaje de frutos producidos por las flores pertenecientes a los tratamientos control y  $P_s$  es el porcentaje de frutos correspondiente a los producidos a través del tratamiento de polen suplementario. Este índice se evalúa bajo el supuesto de que las especies con capacidad de autofertilización presentan una menor limitación por polen debido a que la contribución de su propio polen promueve potencialmente a la fertilidad; por su parte, las especies que necesitan de la entrecruza para lograr la fertilización pueden presentar una mayor limitación de polen debido a que éste se encuentra disponible en menor proporción (Burd, 1994; Larson y Barret, 2000). De esta manera si  $L=0$  se deduce que no existe limitación por polen, por el contrario si el valor incrementa hasta llegar o ser cercano a 1 la especie presenta una alta limitación por polen (Larson y Barret, 2000; Galicia, 2013).

### **3.8 Evaluación del porcentaje de germinación.**

Con las semillas obtenidas a través de los tratamientos descritos anteriormente se realizaron pruebas de germinación con la finalidad de determinar la viabilidad de las mismas. Para ello, las semillas se sembraron en cajas de Petri (5 cajas con 20 semillas por cada tratamiento), con agar bacteriológico simple al 10 %, éstas se incubaron en una cámara ambiental con fotoperiodo controlado de 12 horas de luz y 12 horas de oscuridad a una temperatura de 25 °C. Para disminuir la pérdida de agua y mantener la humedad dentro de las cajas por un par de meses, éstas se almacenaron en bolsas de polietileno transparentes herméticas. También se sembraron 6 cajas completamente aisladas de la luz para evaluar si las semillas eran fotoblásticas. La germinación (emergencia de la radícula) fue monitoreada todos los días durante un mes, con estos datos se calculó el porcentaje de germinación en cada tratamiento a través de la aplicación de la siguiente fórmula (Fuentes, 2012):

$$\% \text{ germinación} = \frac{\text{Número de semillas germinadas por tratamiento}}{\text{Total de semillas por tratamiento}}$$

El análisis estadístico del porcentaje de germinación de las semillas se realizó mediante un modelo lineal generalizado usando la prueba  $X^2$  (programa JMP, versión 10) con distribución binomial; así mismo, para la evaluación de diferencias significativas entre tratamientos se emplearon pruebas de contrastes ortogonales.

### 3.9 Cálculos de la adecuación relativa y de la adecuación general

Se eligieron al azar 5 plantas de cada tratamiento de polinización controlada, de éstas se contabilizó el número de óvulos promedio presentes en cada flor, el número de semillas promedio por fruto y número de frutos promedio producidos por cada flor. Una vez obtenidos estos datos se procedió a aplicar la siguiente fórmula donde  $wr$  es la adecuación relativa (Modificado de Jausoro y Galetto, 2001).

$$wr = \frac{\text{promedio de semillas por tratamiento}}{\text{promedio de ovulos por flor}} + \frac{\text{número total de flores por tratamiento}}{\text{número total de frutos por tratamiento}}$$

Por último y para complementar el cálculo de la adecuación de los individuos sometidos a los tratamientos de polinización controlada, se procedió a emplear el método propuesto por Jausoro y Galetto (2001), el cual analiza en conjunto la adecuación relativa de cada tratamiento y el porcentaje de germinación de cada uno de los mismos. Lo anterior se llevó a cabo a través de la aplicación de la siguiente fórmula:

$$w = (wr)(\%germinación)$$

Donde  $w$  es la adecuación general para cada tratamiento de polinización controlada y  $wr$  corresponde a la adecuación relativa.

## 4. RESULTADOS

### 4.1 Fenología reproductiva, conducta floral y producción de néctar.

A partir del censo realizado a los 221 ejemplares de *Stenocactus arrigens* en el año 2014, se determinó que el periodo reproductivo de esta población ocurrió desde el mes de enero hasta el mes de abril, aunque algunos frutos se produjeron a inicios del mes de mayo. La floración fue invernal ya que las primeras estructuras reproductivas se registraron a finales del mes de enero, el pico de floración se observó en el lapso de los días 1-5 de febrero, mientras que el declive de la misma ocurrió a inicios del mes de abril. Por su parte, la fructificación fue primaveral debido a que la máxima producción de frutos se presentó al comienzo del mes de abril. (Fig. 3).

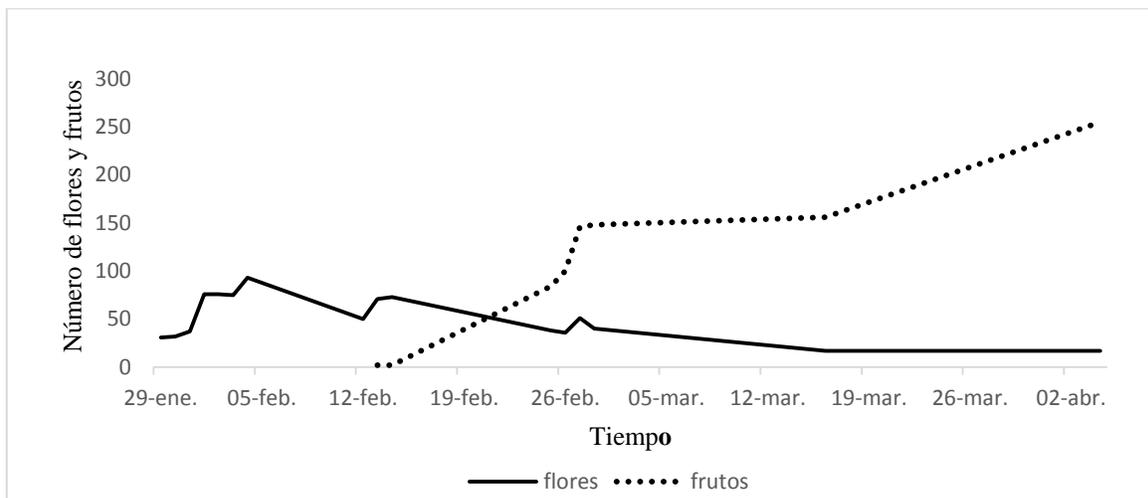


Fig. 3. Gráfica de la fenología reproductiva de *S. arrigens*. La línea continua representa el periodo de floración de la especie mientras que la línea punteada representa el periodo de fructificación de la misma durante el año 2014.

Las 21 flores analizadas de *S. arrigens* presentaron tépalos de color blanco con línea media púrpura de color violeta, la longevidad media fue de dos días y el diámetro promedio de  $10.55 \pm 2.2$  mm (Fotos 1 y 2). La producción de néctar fue escasa ya que de las flores analizadas sólo ocho produjeron en promedio 1.60 ml de esta sustancia. Por otro lado, el

inicio de la antesis ocurrió a partir de las diez de la mañana, la apertura máxima de la corola se observó alrededor de las dos de la tarde mientras que el cierre de la misma fue posterior a las seis de la tarde (Fig. 4).



Fotos 1(izquierda) y 2 (derecha).Ejemplares maduros de *Stenocactus arrigens* con flores durante el periodo de máxima apertura de la corola.

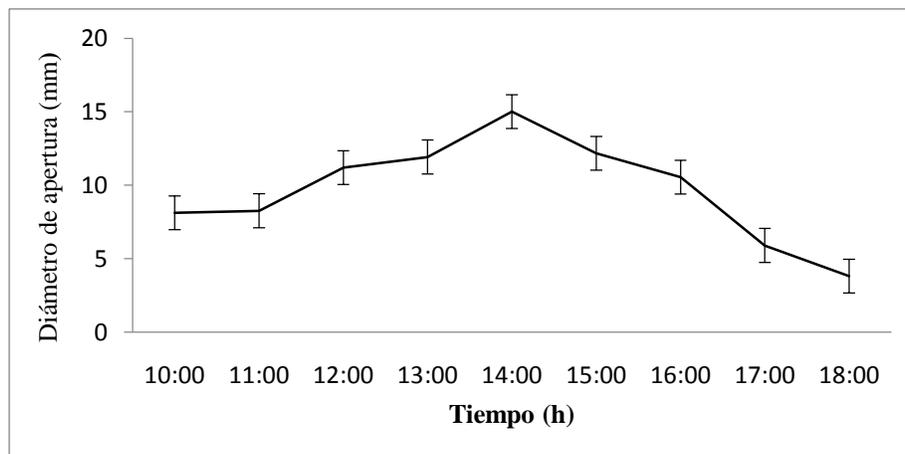


Fig. 4. Gráfica de la antesis de *S. arrigens*. Se muestra el diámetro promedio de la de la corola desde la apertura hasta el cierre de la misma.

#### 4.2 Evaluación de los visitantes florales

Tras veinte horas observación se registraron un total de 58 visitantes florales pertenecientes a los siguientes órdenes taxonómicos: Coleóptera (67.74%) e Himenóptera (32.75%). En el primer caso, 37 visitas correspondieron a la Familia Curculionidae y dos visitas a la Familia Melyridae. Por su parte, dentro del orden Himenóptera dos visitas pertenecieron a integrantes de la Familia Halictidae y 14 visitas a la familia Andrenideae (Fig. 5). También se observaron cuatro visitas realizadas por miembros de la subfamilia Formicinae,

sin embargo éstos no entraron en contacto con las flores por lo cual se excluyeron del análisis posterior.



Fig. 5 Visitantes florales observados en ejemplares de *Stenocactus arrigens*. Coleópteros de las familias Curculionidae (a) y Melyridae (b) e himenópteros de las familias Halictidae (c) y Andrenidae (d). Fotos: Biol. Manuel Edday Farfán Beltrán.

Las actividades realizadas por los visitantes florales se emplearon como un indicativo indirecto de su papel como polinizadores: los individuos de las Familias Melyridae y Andrenidae posiblemente desempeñaron el papel de polinizadores efectivos debido a que su hora de visita correspondió al momento de la antesis máxima de las flores de *S. arrigens*, se encargaron de recolectar polen y además tuvieron contacto con las estructuras sexuales de las flores. Los escarabajos de la Familia Curculionidae promovieron la autofertilización en *S. arrigens* ya que habitaron de manera permanente dentro de las flores y entraron en contacto con el estigma y las anteras; por su parte, los individuos de la Familia Halictidae no se consideraron como posibles polinizadores ya que no entraron en contacto con las estructuras sexuales de las flores aunque si consumieron polen y néctar (Tabla 3).

Tabla 3. Resumen de la actividad de los visitantes florales registrados en las flores de *Stenocactus arrigens*

| Tipo de visitante | Intervalo de hora de visita | Actividad realizada                     | Contacto entre anteras y estigma |
|-------------------|-----------------------------|---|----------------------------------|
| Curculionidae     | Todo el día.                | Habita dentro de las flores. Florivoría | Sí                               |
| Melyridae         | 12:00-14:00                 | Recolecta de polen.                     | Sí                               |
| Halictidae        | 12:00-13:30                 | Recolecta de polen y néctar             | No                               |
| Andrenidae        | 12:00-15:00                 | Recolecta de polen                      | Sí                               |

### 4.3 Análisis de los sistemas de apareamiento: morfometría floral, relación polen-óvulo e índice de entrecruza (OCI).

#### Morfometría floral

A partir de las 30 flores analizadas de *S. arrigens* se determinó la media y el error estándar de los atributos florales (Tabla 4). El valor promedio del diámetro de la corola fue de 10.55 mm ( $\pm 2.02$ ) por lo que el valor asignado para determinación del índice de entrecruza fue de 3.

Tabla 4. Datos de morfometría floral de *Stenocactus arrigens* ( $n=30$  flores).

| Atributo floral                          | Promedio (mm) | Error estándar ( $\pm$ mm) |
|--|---------------|----------------------------|
| Promedio del diámetro de la corola       | 10.55         | 2.02                       |
| Longitud del estilo                      | 10.24         | 1.56                       |
| Longitud del estigma                     | 2.55          | 0.68                       |
| Longitud de la flor                      | 20.75         | 3.33                       |
| Diámetro del pericarpelo                 | 7.07          | 1.71                       |
| Número de lóbulos del estigma            | 7.69          | 1.79                       |
| Distancia mínima entre antera- estigma   | 1.96          | 1                          |
| Diámetro polar de la cámara ovárica      | 2.11          | 0.71                       |
| Diámetro ecuatorial de la cámara ovárica | 2.38          | 0.63                       |
| Promedio de óvulos por flor              | 109.83        | 31.8                       |
| Promedio de granos de polen por flor     | 263201.98     | 22745.3                    |
| Número de estambres                      | 403.83        | 96.59                      |

Por otro lado, las observaciones realizadas en el campo demostraron que las flores de *S. arrigens* fueron protándricas ya que las anteras liberaron los granos de polen antes de que el estigma se encontrara receptivo, por ello el valor asignado para el cálculo del índice de entrecruza fue de 1. Además, el estigma resultó ser más largo que las anteras lo que indicó la existencia de hercogamia, a este resultado se le asignó el valor de 1 para el cálculo de dicho índice.

### **Relación polen óvulo**

Cada flor produjo en promedio 109.83 ( $\pm$  31.8) óvulos y 263201.98 ( $\pm$ 96.59) granos de polen (Tabla 4), así la relación polen-óvulo que se obtuvo fue de aproximadamente 2396.45 correspondiente a una especie con sistema de apareamiento xenógamo facultativo, por lo que para la determinación del índice de entrecruza se le asignó un valor de 4.

### **Determinación del índice de entrecruza “*outcrossing index*” (OCI).**

La suma de los valores obtenidos a partir de los resultados anteriores fue superior a 5, al compararla con lo propuesto por Cruden (ver introducción tablas 1 y 2) se determinó que *S. arrigens* presentó un sistema de apareamiento de tipo xenógamo obligado.

## **4.4 Evaluación de los sistemas de cruza**

### **Experimentos de polinización controlada y determinación de la producción de frutos (fruit set) y de semillas (seed set).**

#### ***-Producción de frutos (fruit set)***

Se registraron 21 frutos provenientes del tratamiento de autocruza manual (63.63% de los 33); 21 frutos de la entrecruza (53.84% de los 39); 25 frutos del control (67.56% de los 37)

y 13 de polen suplementario (81.25% de los 16). (Tabla 5). Por otro lado, el modelo lineal generalizado realizado para el análisis de la producción de frutos (*fruit set*) mostró que no existieron diferencias significativas entre los tratamientos de polinización controlada ( $X^2_{3; 0.24}=4.18$ ) (Anexo 1). Asimismo, el ANDeVA 1 demostró que no hubo diferencias significativas en el peso de los frutos colectados entre tratamientos ( $F_{3; 0.79}=0.34$ ) (Anexo 2). Ambos resultados indicaron que el sistema de cruce en la población *S. arrigens* es de tipo mixto.

Tabla 5. Producción de frutos (*fruit set*) en los tratamientos de polinización controlada de *Stenocactus arrigens* en Cadereyta de Montes, Querétaro, México.

| <b>Tratamiento</b>  | <b>Flores/tratamiento</b> | <b>Número de frutos producidos</b> | <b>Fruit set (%)</b> | <b>Peso promedio de los frutos (<math>\pm ee</math>)</b> |
|---------------------|---------------------------|------------------------------------|----------------------|--|
| Autocruza           | 33                        | 21                                 | 0.63                 | 0.073 ( $\pm 0.008$ )                                    |
| Entrecruza          | 39                        | 21                                 | 0.53                 | 0.096 ( $\pm 0.033$ )                                    |
| Polen suplementario | 16                        | 13                                 | 0.81                 | 0.081 ( $\pm 0.011$ )                                    |
| Control             | 37                        | 25                                 | 0.67                 | 0.074 ( $\pm 0.007$ )                                    |

***-Producción de semillas (seed set).***

El modelo lineal generalizado realizado para la evaluación de la producción de semillas indicó la existencia de diferencias significativas entre tratamientos ( $X^2=3; <0.0001= 95.97;$ ) (Anexo 3). Asimismo, el análisis de contrastes ortogonales sugirió que la mayor producción de semillas resultó del tratamiento de polen suplementario por otro lado, entre los tratamientos control y de autocruza no se observaron diferencias en la producción de las mismas y finalmente, estos dos tratamientos difirieron con respecto al tratamiento de entrecruza (Tabla 6).

Tabla 6. Producción de semillas (*seed set*) y contrastes ortogonales para los tratamientos de polinización controlada de *Stenocactus arrigens* en Cadereyta de Montes, Querétaro, México. Datos de periodo reproductivo de 2014.

| Tratamiento         | Producción de semillas/ fruto ( $\pm ee$ ) | Contrastes ortogonales          | Significancia |
|---------------------|--|---------------------------------|---------------|
| Autocruza           | 79.25 $\pm$ 11.28                          | Control vs autocruza            | 0.49          |
| Control             | 84.64 $\pm$ 8.50                           | Control vs polen suplementario  | <0.001        |
| Entrecruza          | 66.61 $\pm$ 8.69                           | Control+autocruza vs entrecruza | <0.001        |
| Polen suplementario | 96.15 $\pm$ 10.47                          | --                              | --            |

### Determinación de la tasa de entrecruza

El número total de semillas que se obtuvieron a través del tratamiento de entrecruza ( $w_x$ ) fue de 1399, mientras que el total de éstas a partir del tratamiento de autocruza ( $w_s$ ) fue de 1679; por lo que la determinación de la tasa de entrecruza (ver fórmula en la Introducción) para *S. arrigens* fue la siguiente:

$$te = (1399) / (1399 + 1679)$$

$$te = 0.45$$

La  $te$  presentó un valor cercano a 0.5, lo cual indicó que *S. arrigens* presentó un sistema de cruce mixto con tendencia a la autocruza.

### Cálculo del coeficiente de endogamia

El número promedio de semillas provenientes de los tratamientos de autocruza (1679) y de entrecruza (1399) se utilizó para la determinación del coeficiente de endogamia (ver fórmula en el Método). Así el valor obtenido del coeficiente de endogamia fue de  $\delta = -0.2$ , debido a que este valor es menor a cero se consideró que *S. arrigens* favorece a la autocruza.

#### 4.5. Determinación de la limitación por polen

El modelo lineal generalizado realizado para la evaluación de la producción de frutos entre el tratamiento de entrecruza y el de polen suplementario mostró diferencias significativas ( $X^2_{1; 0.04} = 3.6$ ), lo que sugirió la existencia de limitación por polen en *S. arrigens*. Sin embargo; estudios posteriores deberán enfocarse en la realización de un mayor número de réplicas para el tratamiento de polen suplementario (Anexo 4) debido a la desproporción en el número de flores empleadas entre los tratamientos analizados (Tabla 5).

Asimismo, el cálculo del índice de limitación por polen a partir de Larson y Barrett (ver fórmula en el Método) indicó una reducida limitación por polen para la formación de frutos debido a que el valor obtenido fue cercano a cero:

$$L=1-(0.67/0.81)$$

$$L=0.17$$

#### 4.6. Evaluación del porcentaje de germinación.

Las semillas de *Stenocactus arrigens* son fotoblásticas positivas ya en ninguna de las colocadas en la oscuridad se registró la emergencia de la radícula. La germinación inició alrededor del quinto día de que las semillas fueron expuestas a condiciones de humedad y temperatura constantes (Fotoperiodo 12/12 a 25°C). Se observaron diferencias significativas en la germinación de las semillas provenientes de los tratamientos de polinización controlada ( $X^2_{3; <0.0001} = 50.29$ ) (anexo 5). La prueba de contrastes ortogonales sugirió que el tratamiento con el menor porcentaje de germinación fue el de autocruza, por su parte entre los tratamientos de polen suplementario y control no se observaron diferencias significativas ya que los porcentajes de germinación fueron similares. Finalmente, se encontró que las semillas pertenecientes al tratamiento de polen suplementario germinaron significativamente en mayor proporción con respecto a las del

tratamiento de entrecruza (Fig. 6; tabla 7), esto último fue también un indicio de la ocurrencia del fenómeno de limitación por polen.

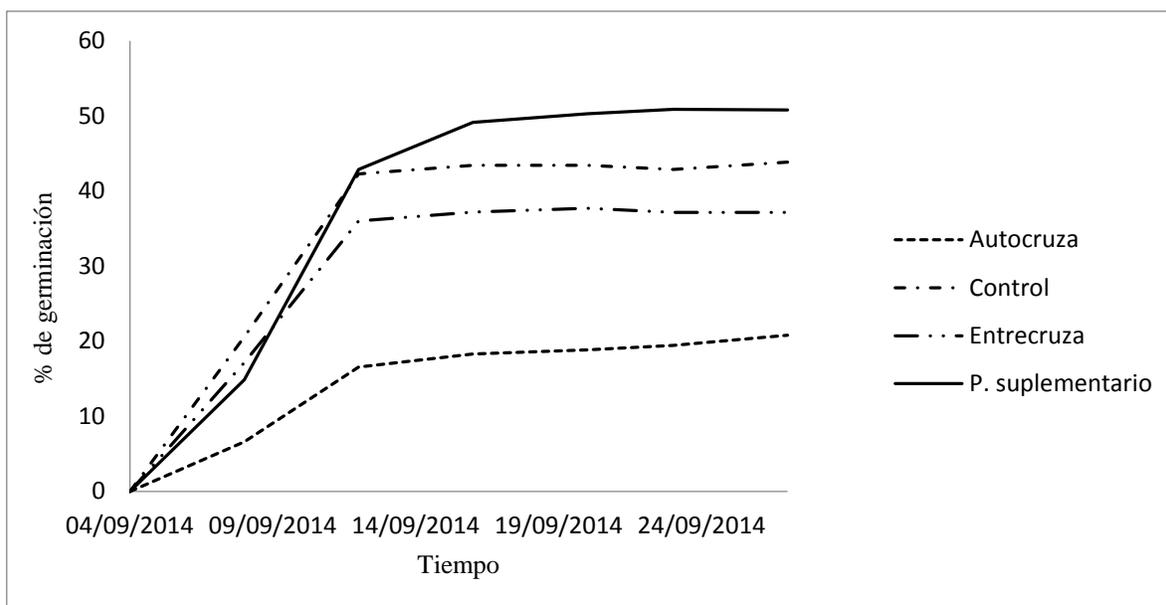


Fig. 6. Porcentajes de germinación de *Stenocactus arrigens* para los tratamientos de polinización controlada en Cadereyta de Montes, Querétaro, México

Tabla 7. Contrastes ortogonales para la germinación de semillas obtenidas por tratamientos de polinización controlada en *Stenocactus arrigens* en Cadereyta de Montes, Querétaro, México. Datos del periodo reproductivo de 2014.

| Contraste por tratamiento                             | <i>Sset</i> | Significancia |
|---|-------------|---------------|
| Polen suplementario vs entrecruza                     | 4.22        | 0.039         |
| Control vs entrecruza                                 | 0.96        | 0.32          |
| Control vs polen suplementario                        | 1.15        | 0.28          |
| Autocruza vs Control-entrecruza y polen suplementario | 45.79       | <0.0000001    |

#### 4.7. Cálculos de la adecuación relativa y de la adecuación general.

La entrecruza resultó ser el tratamiento con la mayor adecuación relativa ( $w_r$ ) ya que alcanzó el valor de 2.46; mientras que el tratamiento de autocruza y el grupo control tuvieron una  $w_r$  similar (2.29 y 2.25) respectivamente. Por su parte, el tratamiento de polen suplementario presentó el menor de los valores (2.10) (Tabla 8).

Tabla 8. Adecuación relativa ( $w_r$ ) de los tratamientos de polinización controlada. El número de óvulos promedio por flor se obtuvo del análisis de morfometría floral\*. El valor promedio de semillas por tratamiento fue empleado como un número entero\*\*.

| <b>Tratamiento</b>  | <b>Promedio de semillas por tratamiento**</b> | <b>Promedio de óvulos por planta</b> | <b>Número de flores por tratamiento</b> | <b>Número de frutos por tratamiento</b> | <b><math>W_r</math></b> |
|---------------------|---|--------------------------------------|---|---|-------------------------|
| Autocruza           | 80  | 110*                                 | 33                                      | 21                                      | 2.29                    |
| Entrecruza          | 67  | 110*                                 | 39                                      | 21                                      | 2.46                    |
| Polen suplementario | 96  | 110*                                 | 16                                      | 13                                      | 2.10                    |
| Control             | 85  | 110*                                 | 37                                      | 25                                      | 2.25                    |

Con los valores obtenidos de la adecuación relativa y de los porcentajes de germinación se obtuvo la adecuación general para los tratamientos de polinización controlada (ver fórmula en el Método). El tratamiento de polen suplementario presentó la mayor adecuación general con un valor de 1.008, mientras que el grupo control y el de entrecruza presentaron una adecuación general similar (0.94 y 0.91 respectivamente). Por último, al tratamiento de autocruza corresponde la menor de las adecuaciones generales ya que el valor calculado fue de 0.34.

## 5. DISCUSIÓN

### 5.1. Fenología reproductiva, conducta floral y producción de néctar.

El periodo reproductivo de *Stenocactus arrigens* abarcó los meses de enero a abril del año 2014. Estos resultados coinciden con los reportados por Huerta y Escobar (1998), quienes determinaron que para *Stenocactus dichroacantus* var. *violaciflorus* el periodo de reproducción trascurrió desde el mes de enero hasta mediados del mes de marzo. Por su parte, la floración en *S. arrigens* se mantuvo constante durante todo periodo reproductivo aunque alcanzó el pico máximo durante los primeros días del mes de febrero; asimismo, la producción de frutos se sobrepuso a la floración durante al menos la mitad de la temporada reproductiva (Fig. 3). Este fenómeno ha sido reportado para diversas especies de cactáceas (i.e. *S. queretaroensis*, *Pachycereus schottii* y *Cereus hexagonus*) y se sostiene que la producción simultánea de botones, flores en anthesis y frutos ofrece una ventaja para la reproducción en ambientes con condiciones adversas, ya que les permite a estas especies prevenir y/o disminuir la competencia intraespecífica por los polinizadores y/o dispersores, así como por las parejas potencialmente reproductivas (Bustamante y Búrquez, 2005; González y Navarro, 2011).

Por otro lado, las flores de *S. arrigens* presentaron una longevidad promedio de dos días, anthesis diurna y escasa producción de néctar. Este comportamiento floral fue similar al que se ha descrito para otras especies de cactáceas tales como *Ariocarpus fissuratus* y *Opuntia microdasys*, en las cuales las variaciones en el tiempo de vida floral están determinadas por las condiciones ambientales y de polinización, así en días nublados dichas especies disminuyen la anthesis permitiendo que las flores abran un tercer día y además aquellas que permanecieron sin polinizar persistieron más tiempo, logrando así una reproducción más exitosa (Bustamante y Búrquez, 2005; Mandujano *et al.*, 2010; Martínez- Peralta y Mandujano, 2012). Por otra parte, las características florales de *Stenocactus arrigens* como son el color blanco con línea media púrpura, la morfología acampanada y el hábito diurno concordaron con lo descrito por Meyrán (2003) para el resto de las especies pertenecientes a este género.

## 5.2 Evaluación de los visitantes florales

Los visitantes florales de *Stenocactus arrigens* observados en este trabajo fueron abejas de las familias Halictidae y Andrenidae, así como escarabajos de las familias Curculionidae y Melyridae; se ha reconocido que, de estos grupos de insectos, los que probablemente estén ejerciendo el papel de polinizadores efectivos son las abejas ya que para la mayoría de las especies de cactus globosas estos insectos desempeñan el papel de polinizadores (Martínez-Peralta y Mandujano, 2012). Lo anterior se debe a que suelen posarse sobre el estigma de las flores con el cuerpo cubierto de polen por el tiempo suficiente para promover la fertilización; además, se desplazan hacia las anteras en busca de polen y posteriormente viajan hacia otras flores, de manera que promueven el entrecruzamiento (Matías- Palafox, 2007). Por otro lado, las observaciones realizadas en las flores de *S. arrigens* mostraron que los escarabajos habitaban de manera permanente dentro de éstas, su actividad principal consistió en la ingesta de polen y otros segmentos del perianto, además de que se desplazaban sobre las anteras y el estigma de las flores lo que posiblemente promovió la autofertilización (Matías- Palafox, 2007; Martínez – Peralta *et al.*, 2014). Un fenómeno similar fue reportado por Martínez- Peralta y Mandujano (2012) quienes al analizar ejemplares del género *Ariocarpus* demostraron que los coleópteros desempeñaban el papel de polinívoros y eran capaces de promover la autocruza en las especies de este género.

## 5.3. Análisis del sistema de apareamiento: morfometría floral, relación polen-óvulo e índice de entrecruza (OCI).

El índice de entrecruza (OCI) calculado para *S. arrigens* fue superior a 5 por lo que se sostiene que esta especie presenta un sistema de apareamiento de tipo xenógamo obligado, es decir, necesita la transferencia de polen para lograr la fertilización (Cruden, 1977; Galicia, 2013). El diámetro promedio de la corola (10.55 mm) permite la entrada de polinizadores encargados de la transferencia de polen entre individuos distintos (Matías Palafox, 2007; Fuentes, 2012; Argueta *et al.*, 2013). Asimismo, se observó que en *S. arrigens* las flores fueron protándricas ya que los estambres maduraron antes de que el estigma se encontrara receptivo. La evidencia muestra que la separación temporal de las

funciones sexuales tiene en promedio una duración de tres horas; pero en algunas especies como *Ferocactus histrix* y *Echinocactus platyacanthus* la duración de este mecanismo puede extenderse hasta por varios días, favoreciendo así que la polinización se lleve a cabo entre individuos genéticamente distintos. (Mandujano *et al.*, 2010; Argueta *et al.*, 2013; Galicia, 2013). Por otra parte, se determinó que las flores de esta especie presentaron un tipo de hercogamia en la que el estilo tiene una mayor longitud que la de los estambres; este fenómeno ha sido observado en otras especies de la familia Cactaceae como en *Ariocarpus fissuratus*, *Opuntia tomentosa*, *Opuntia imbricata*, *Stenocereus queretaroensis*, *Peniocereus striatus* y *Stenocactus anfractuosus* (Fuentes, 2012; Galicia, 2013; Martínez- Peralta *et al.*, 2014).

La hercogamia y la dicogamia no impiden la autofertilización pero sí constituyen una estrategia que caracteriza a los sistemas que promueven la polinización cruzada. (Richards, 1986; Lloyd, 1992; Mandujano *et al.*, 2010; Argueta *et al.*, 2013; Galicia, 2013). En conjunto ambos mecanismos impiden que el estigma se contamine con polen proveniente de la misma flor; evitando así la interferencia, y por lo tanto disminuyen el desperdicio de gametos permitiendo que éstos queden disponibles para la fertilización de otras plantas (Mandujano *et al.*; 2014).

El valor de la relación polen óvulo en *S. arrigens* ( $P/O=2169.93$ ) corresponde a una especie con sistema de apareamiento de tipo xenógamo facultativo (Cruden, 1977), lo que indica que es capaz de generar progenie a través de la autocruza y de la entrecruza. Este fenómeno ha sido reportado con anterioridad y se considera como una estrategia que las plantas han desarrollado para promover la diversidad genética a través del entrecruzamiento y al mismo tiempo conservar parte del genotipo parental, que en la mayoría de las ocasiones se encuentra bien adaptado a las condiciones del hábitat dónde se desarrollan estas especies (Argueta *et al.*, 2013; Mandujano *et al.*, 2014).

#### **5.4. Evaluación de los sistemas de cruza**

**a) Experimentos de polinización controlada: producción de frutos (*fruit set*) y producción de semillas (*seed set*).**

*S. arrigens* presenta un sistema de cruce de tipo mixto ya que no se observaron diferencias significativas en la producción de frutos provenientes de los tratamientos de polinización controlada, por lo que se estableció que esta especie no presentó mecanismos de autoincompatibilidad. No obstante, cabe resaltar que la producción de semillas entre tratamientos sí resultó ser significativamente distinta entre los mismos, siendo el tratamiento de polen suplementario el que produjo la mayor cantidad de estas estructuras, mientras que en el tratamiento de entrecruza el número promedio de semillas fue menor. La capacidad de tener éxito reproductivo mediante la autofertilización y el entrecruzamiento es un fenómeno común observado en cactáceas globosas y arbustivas; (Bustamante y Búrquez, 2005; Mandujano *et al.*, 2010) poseer un sistema de cruce mixto les permite a estas especies mantener y transferir la información genética que ha resultado favorable para sitios específicos a través de la dispersión de las semillas procedentes de la autofertilización; mientras que, por otro lado, las semillas provenientes del entrecruzamiento poseen la característica de haber sido sometidas a un proceso de recombinación genética y con ello aumentar su velocidad de adaptación en un ambiente cambiante (Richards, 1986; Mandujano *et al.*, 2010; Galicia, 2013). Con base en lo anterior, los científicos han propuesto que los sistemas de cruce son puntos alternativos en los sistemas reproductivos de las plantas. Así la tendencia evolutiva predominante es la que transforma los sistemas de entrecruza (xenógamos) a sistemas de autofertilización (autógamos) (Ornduff, 1969; Cruden, 1977; Larson y Barret, 2000; Argueta *et al.*, 2013). Lo anterior puede deberse a que muchas de las especies de cactus son consideradas como “raras” ya que sus tamaños poblacionales son limitados y su distribución geográfica es sumamente restringida (Ornduff, 1969; Mandujano *et al.*, 2010) lo que puede ocasionar que la disponibilidad de parejas reproductivas o bien de los polinizadores sean un recurso limitante. Ante este panorama, la autofertilización representa una buena opción para el aseguramiento de la reproducción aunque su costo reproductivo pueda verse reflejado en la reducción de la adecuación de las especies. Por esto, resulta importante señalar que una amplia proporción de cactáceas con capacidad de autofertilización también presentan altos niveles de depresión endogámica, los cuales se evidencian en la baja producción de frutos como en *Ariocarpus fissuratus*, (Mandujano, 2007) y *Melocactus curvispinus* (Nassar *et al.*, 1996) o en una reducida producción de semillas tal y como se ha reportado para

*Ferocactus robustus*, (Piña, 2000), *Ferocactus cylindraceus* (McIntosh, 2002); *Polaskia chichipe* (Otero-Arnaiz *et al.*, 2003) y *Pilosocereus royenii* (Rivera y Ackerman, 2006).

#### **b) Determinación de la tasa de entrecruza y coeficiente de endogamia**

El cálculo de la tasa de entrecruza para *S. arrigens* ( $te=0.45$ ) indicó que es una especie con sistema de cruce mixto, en el cuál la autogamia y la polinización cruzada tuvieron un éxito reproductivo similar. Este resultado se reforzó con el valor obtenido para el coeficiente de endogamia el cual fue menor a cero ( $\delta=-0.02$ ) lo que indicó que *S. arrigens* presenta poca endogamia. Estos resultados son similares a los obtenidos por Mandujano y colaboradores (2014) quienes al evaluar el sistema reproductivo de *O. tomentosa* determinaron que esta especie presenta una tasa de entrecruza de 0.05 y un coeficiente de endogamia de 0.005, de manera que es capaz de producir con igual éxito progenie a través de la entrecruza y de la autogamia. En conjunto ambos estudios demuestran que el desarrollo de sistemas reproductivos de tipo mixto en las especies de cactus es una estrategia con la que estos organismos son capaces de disminuir los niveles de endogamia dentro de las poblaciones y a la par promover la reproducción exitosa (Martínez- Peralta *et al.*, 2012; Mandujano *et al.*, 2014).

#### **5.5. Determinación de la limitación por polen.**

Según Larson y Barret (2000), la limitación por polen consiste en la insuficiencia cualitativa y cuantitativa de los granos de polen que interceptan el estigma de una flor y que provoca que la formación de semillas en condiciones naturales sea limitada. Nuestros resultados indicaron que *S. arrigens* presentó limitación por polen ya que existieron diferencias significativas en la producción de frutos entre los tratamientos de polen suplementario y de entrecruza; no obstante, este resultado debe ser considerado con precaución ya que como se indicó anteriormente, el número de tratamientos empleados para la evaluación de este fenómeno fue desigual; por esta razón estudios posteriores deberán enfocarse en la realización de un mayor número de réplicas especialmente de polen suplementario, que permitan contrastar estos resultados. Por otro lado, el valor obtenido

del índice de limitación por polen para *S. arrigens* fue bajo ( $L= 0.17$ ), esto se debe a que la especie es capaz de autofertilizarse por lo que requiere de una menor demanda de polen en comparación con aquellas especies que se entrecruzan de manera obligatoria. De este modo, *S. arrigens* es capaz de asegurar su reproducción a partir de una reducción de la dependencia de polen proveniente de otras plantas y/o de la actividad de los polinizadores (Larson y Barret, 2000; Piña, 2007; Galicia, 2013).

## **5.6. Evaluación de los porcentajes de germinación.**

Las semillas de *S. arrigens* fueron fotoblásticas positivas ya que requirieron de un estímulo lumínico para germinar. Este resultado coincide con lo reportado por Fuentes (2012) para semillas de *Stenocactus anfractuosus*, quien demostró que éstas sólo germinan después de haber sido sometidas a pulsos de energía luminosa.

Por otra parte, se observó que los porcentajes de germinación de las semillas de *S. arrigens* fueron bajos (<50%). Un caso similar fue reportado por González (2009) quien al analizar semillas de *Stenocactus crispatus* encontró que los porcentajes de germinación en laboratorio fueron inferiores al 40%. Este fenómeno no es particular del género *Stenocactus*, ya que se ha demostrado que una gran cantidad de especies de cactáceas requieren de condiciones muy particulares de humedad, temperatura, luz y almacenaje para su germinación; aunado a esto, las altas tasas de depredación en campo y al bajo establecimiento de plántulas hace que las primeras etapas del ciclo de vida de estas especies sean las más vulnerables. (Rojas- Aréchiga y Vázquez- Yanes, 2001; Rojas- Aréchiga y Batis, 2001; Fuentes, 2012).

Por su parte, el mayor porcentaje de germinación en *S. arrigens* se obtuvo en las semillas procedentes de los tratamientos de polen suplementario, esto refuerza la evidencia de limitación por polen en esta especie ya que fue capaz de producir más semillas cuando la disponibilidad de polen para fertilizar óvulos fue mayor (Larson y Barret, 2000). Asimismo, aunque esta especie presenta un nivel reducido de endogamia, los resultados obtenidos de las pruebas de germinación sugieren que los efectos negativos de la autofertilización son mayores en las semillas ya que el porcentaje de germinación de los tratamientos de

autocruza fue menor con respecto al resto de los tratamientos, esto puede ser un indicio de que la autocruza llega a provocar la expresión de genes que disminuyen el desempeño de la progenie. Un caso extremo que evidencia los efectos negativos del aumento de la endogamia es el de *Mammillaria humboldtii* (Martínez- Ramos *et al.*, 2016); la cual es una especie de cactus globoso que presenta un patrón de distribución espacial agregado y una densidad poblacional muy baja las cuales han propiciado que la reproducción se lleve a cabo entre individuos genéticamente muy relacionados, provocando que la adecuación de esta especie haya decrecido considerablemente hasta el punto de que sea considerada en “peligro crítico”.

### **5.7. Cálculos de la adecuación relativa y de la adecuación general**

El cálculo de la adecuación demostró que el tratamiento de autocruza presentó el menor de los valores (0.34), mientras que el resto de los tratamientos estuvieron cercanos a 1 (ver resultados). Asimismo, los resultados demostraron que los efectos negativos de la endogamia son mayores en la producción de semillas y en los porcentajes de germinación, ya que en ambos casos se observaron diferencias significativas, siendo el tratamiento de autocruza el que presentó el menor de los valores. Esto refuerza la idea de que en la naturaleza las especies de plantas buscan favorecer la entrecruza para evitar así los efectos negativos de la endogamia que se ven reflejados en la reducción del éxito reproductivo (i.e. bajo porcentaje de germinación, menor producción de semillas, etc.); la evidencia sugiere que la mayor parte de las cactáceas globosas se caracterizan por presentar ciclos de vida cortos y sistemas de cruce de tipo mixto, que les hacen más propensas a la endogamia ya que favorecen a la autofecundación y presentan una limitada capacidad de dispersión de polen y semillas (Cornejo- Romero *et al.*; 2013).

## 6. CONCLUSIONES

Con base en los resultados obtenidos y en la discusión de los datos, se formulan las siguientes conclusiones:

1. El periodo reproductivo de *Stenocactus arrigens* abarcó los meses de enero a abril del año 2014, presentando el pico de floración a inicios del mes de febrero. Las flores son diurnas, presentan hercogamia y dicogamia, tienen una longevidad promedio de dos días y producen poco néctar.
2. Los principales visitantes florales registrados fueron escarabajos de las Familias Curculionidae y Melyridae, así como abejas de las Familias Halictidae y Andrenidae, siendo estas últimas los posibles polinizadores efectivos.
3. Los valores obtenidos de la relación P/O, el índice de entrecruza (OCI) y la morfometría floral indicaron que el sistema de apareamiento de *S. arrigens* es xenógamo obligado.
4. El sistema de cruce de *S. arrigens* es mixto, ya que se produjeron frutos y semillas a partir de la autocruza y de la entrecruza. Asimismo, esta especie presenta poca limitación por polen y un coeficiente de endogamia ( $\delta = -0.02$ ) reducido.
5. Debido a que todos los tratamientos de polinización controlada tuvieron éxito reproductivo, se establece que *S. arrigens* no presenta mecanismos de autoincompatibilidad.
6. La endogamia se hizo evidente en los bajos porcentajes de germinación provenientes de los tratamientos de autocruza y en la adecuación de este tratamiento.

## 7. LITERATURA CITADA

- Anderson, E. (2001). The cactus family. Timber Press. EUA. 776 p.
- Argueta-Guzmán M. P., Barrales-Alcalá D. A, García-Pérez A., Golubov J. y Mandujano M. C. (2013). Sistema reproductivo y visitantes florales de *Zephyranthes carinata* Herb (Asparagales: Amaryllidaceae). *Cactáceas y Suculentas Mexicanas*. **58**: 100-117.
- Barret, S.C.H. y Harder, L.D. (2006). D. Lloyd and the evolution of floral biology; from natural history to strategic analysis. En: *Ecology and Evolution of Flowers*, ed. L.D. Harder y S.C.H. Barret, 1-21. Oxford University Press. Oxford.
- Barrett, S. (2002). The evolution of plant sexual diversity. *Nature reviews*, **3**:274-284.
- Barrett, S.C.H. y Eckert, C.G. (1990) . Variation and evolution of mating systems in seed plants. En: *Biological approaches and evolutionary trends in plants*, ED. S. Kawano, 229-254. Academic Press. Tokyo.
- Bravo- Hollis, H. (1978). Las cactáceas de México. Universidad Nacional Autónoma de México, México.745 p.
- Bravo- Hollis, H. y Scheinvar, L. (1995). El interesante mundo de las cactáceas. Fondo de Cultura Económica, México. 233 p.
- Burd, M. (1994). Bateman´s principle and plant reproduction: The role of pollen limitation in fruit and seed set. *The Botanical Review*, **60**: 83- 139.
- Bustamante, E. y Búrquez, A. (2005). Fenología y biología reproductiva de las cáctáceas columnares. *Cactáceas y Suculentas Mexicanas*. **50**: 58-88.
- Caswell H., Nisbet ,R.M, de Ross, A.M. y Tuljapurkar S. (1996). Structured population models: many methods a few basic concepts. En: *Structured-population models in marine, terrestrial and freshwater system*, ed. Tuljapurkar S. y H. Caswell. 3-17. Springer. Londres.
- Charlesworth, D. y Charlesworth, B. (1979). The evolution and breakdown of S-allele systems. *Heredity*, **43**:41–55.

- Consejo de Ciencia y Tecnología Del Estado de Querétaro CONCYTEC. (2016). Recuperado de [www.concyteq.edu.mx](http://www.concyteq.edu.mx)
- Crawley, M. (1993). *GLIM for Ecologists (Ecological Methods and Concepts)*. Blackwell. Londres. 392p.
- Cruden, R. (1977). Pollen-ovule ratios: a conservative indicator of breeding systems in flowering plants. *Evolution*, **31**: 32-46.
- Elzinga, J.A., Atlán, A., Biere, J., Gigord, G., Weis, A.E. y Bernasconi, G. (2007). Time after time: flowering phenology and biotic interactions. *Trends in Ecology and Evolution*, **22**: 432-439.
- Flores- Martínez, A., Manzanero, G., Golubov, J. y Mandujano, M. (2013). Biología floral de *Mammillaria huitzilopochtli*, una especie rara que habita en acantilados. *Botanical Sciences*, **91**: 349-356.
- Flores, D. y Navarro, M. (2009). Estudio demográfico de *Stenocactus crispatus* (Cactaceae) en Los Ángeles Tetela, Puebla, México. *Cactáceas y Suculentas Mexicanas*, **4**: 100-112.
- Fuentes, V. (2012). Atributos demográficos y biología reproductiva en *Coryphantha cornífera* y *Stenocactus anfractuosus* con fines de conservación. (Tesis doctoral). Institución de Enseñanza e Investigación en Ciencias Agrícolas: México. 99p.
- Galicia Pérez, A. (2013). Estudios sobre los sistemas de autoincompatibilidad presentes en *Opuntia tomentosa* Salm-Dyck (Cactaceae). (Tesis de maestría). Universidad Autónoma Metropolitana. México. 94p.
- Gibson, A. y Nobel, P. (1986). *The cactus primer*. Harvard University Press .Londres. 298p.
- Godínez- Álvarez, H., Valverde, T. y Ortega-Baes, P. (2003). Demographic trends in the Cactaceae. *The Botanical Review*, **69**,173-203
- Goettsch, B., Hilton- Taylor, C., Cruz-Piñon, G., Duffy, J., Frances, A., Hernández, H. y Taylor, N. (2015). High proportion of cactus species threatened with extinction. *Nature Plants*, **1**: 142-151.

- Gonzales, E.M. y Navarro, M. C. (2011). Fenología reproductiva de *Ferocactus robustus* en San Mateo Tlaíxpan, Tecamachalco, Puebla, México. *Cactáceas y Suculentas Mexicanas* **56**:100-111.
- Guzmán, U., Arias S. y Dávila P. (2003). Catálogo de Cactáceas Mexicanas. CONABIO. México. 175-195 p.
- Hernández, J., Chávez, R. y Sánchez, E. (2010). Diversidad y estrategias para la conservación de cactáceas en el semidesierto Queretano. *Biodiversitas*, **70**: 6-9.
- Huerta, V. y Escobar, V.E. (1998). Notas sobre la ecología de *Stenocactus dichroacanthus* var.*violaciflorus* en los llanos de Ojuelos. *Cactáceas y Suculentas Mexicanas*. **43**: 16 -28.
- Jaramillo, J. (2006). La flor y otros órganos derivados. Universidad de Caldas. Colombia. 192 p.
- Jausoro, M. y Galetto, L. (2001). Producción de flores y frutos en una especie andromonoica: *Caesalpinia gilliesii* (Fabaceae). *Kurtziana*, **29**: 15-25.
- Kearns, C. y Inouye D. (1993). Techniques for Pollination Biologist.. University Press of Colorado. EUA.133-151p.
- Larson, B.M.H. y Barrett S.C.H. (2000). A comparative analysis of pollen limitation in flowering plants. *Biological Journal of the Linnaean Society*, **69**:503 – 520.
- Lloyd, D. G. (1992). Self and cross-fertilization in plants. II. The selection of self-fertilization. *International Journal of Plant Sciences*, **153**: 370-380.
- Lloyd, D. G. y Webb, C. J. (1986) The avoidance of interference between the presentation of pollen and stigmas in angiosperms. I. Dichogamy. New Zelanda. *Journal of Botany*. **24**:135–162.
- Mandujano M. C. Plasencia- López, , L., Aguilar- Morales, G., Jiménez – Guzmán, G., Galicia – perez, A., Rojas- Aréchiga, M. y Martínez- Peralta, C. . (2014). Sistema sexual de *Opuntia tomentosa* Salm-Dyck en la Reserva Ecológica del Pedregal de San Ángel (REPSA), México. *Cactáceas y Suculentas Mexicanas*. **58**:100-120.

- Mandujano M., C. Montaña, C. y Eguiarte, L. (1996). Reproductive ecology and breeding depression in *Opuntia rastrera* (Cactaceae) in the Chihuahuan Desert: why are sexually derived recruitments so rare? *American Journal Botany*. **83**: 63-70.
- Mandujano, M. C. (2007). La clonalidad y sus efectos en la biología de poblaciones. En: *Biología Molecular: perspectivas y aplicaciones*, coord. (s). L. E. Eguiarte, V. Souza y X. Aguirre. 215-250. Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad (CONABIO). México.
- Mandujano, M.C, Carrillo- Ángeles I., Martínez,- Peralta, C. y Golubov J. (2010). Reproductive biology of Cactaceae. En: *Ramawat K, ed. Desert Plants: Biology and Biotechnology*. Springer. Berlín.
- Martínez- Peralta, Molina- Freaner, F., Vázquez- Lobo, A., Golubov, J. y Mandujano, M. C. (2014). A comparative study of the reproductive traits and floral morphology of a genus of geophytic cacti. *International Journal of Plant Sciences*. **175**: 663-680.
- Martínez- Peralta, C. y Mandujano, M, C. (2012). Biología de la polinización y fenología reproductiva del género *Ariocarpus* Scheidweiler (Cactaceae). *Cactáceas y Suculentas Mexicanas*. **57**: 114-127.
- Martínez- Peralta, C., Márquez- Guzmán, J. y Mandujano, M.C. (2014). How common is self-incompatibility across species of the herkogamous genus *Ariocarpus*? *American Journal of Botany*. **101**: 1-9.
- Martínez- Ramos, M., Arroyo, Cosultchi, G., Mandujano, M.C y Golubov, J. (2016). Dinámica poblacional de *Mammillaria humboldtii* una cactácea endémica de Hidalgo, México. *Botanical Sciences*. **94**: 199-208.
- Martínez-Peralta, C. y Mandujano, M.C. (2011). Reproductive ecology of the endangered living rock cactus, *Ariocarpus fissuratus* (Cactaceae). *Journal of the Torrey Botanical Society*. **138**: 145-155.
- Matías- Palafox, L. (2007). Estructura poblacional y biología reproductiva de *Turbinicarpus horripilus* (Lem.) Vác. John y Riha (Cactaceae). (Tesis de Maestría). Universidad Autónoma Metropolitana. México.

- McIntosh, M.E. (2002) Plant size, breeding system, and limits to reproductive success in two sister species of *Ferocactus* (Cactaceae). *Plant Ecology*. **162**:273–288
- Meyrán, J. (2003). Clave de identificación de las especies de *Stenocactus*. Consideraciones sobre sus características. *Cactáceas y Suculentas Mexicanas*. **48**: 90-96.
- Nassar J.M. Ramírez N. y Linares O. (1996). Comparative pollination biology of Venezuelan columnar cacti and the role of nectar-feeding bats in their sexual reproduction. *American Journal of Botany*. **84**: 918-927.
- Ornduff, R. (1969). Reproductive biology in relation to systematics. *Taxon* .**18**:121-123.
- Otero- Arnaiz, A., Casas, A., Bartolo, C., Pérez- Negrón, E. y Valiente- Banuet, A. (2003). Evolution of *Polaskia chichipe* (Cactaceae) under domestication in the Tehuacán Valley, Central Mexico: reproductive biology. *American Journal of Botany*. **90**:593–602.
- Pearson, R.G. y Dawson, T. P. (2003). Predicting the impacts of climate change on the distribution on species: are bioclimate envelope models useful. *Global Ecology y Biogeography*. **12**: 361-371.
- Piña, H. y Flores- Martínez, A. (2012). Demografía floral de *Ferocactus robustus*. *Cactáceas y Suculentas Mexicanas*. **57**: 36-46.
- Primack, R., Rozzi, R., Feisinger, P. Dirzo, R. y Massardo, F. (eds). (2001). Fundamentos de conservación biológica: perspectivas latinoamericanas. Fondo de Cultura Económica. México. 797 p.
- Rangel-Becerril, L.P. 2009. *Contribución al conocimiento de las cactáceas del género Stenocactus* (México). (Tesis de licenciatura). Facultad de Estudios Superiores Iztacala, Universidad Nacional Autónoma de México. México.
- Rea A.C. y Nasrallah J. B. (2008). Self-incompatibility systems: barriers to self-fertilization in flowering plants. The *International Journal Developmental Biology*. **52**: 627-636.
- Richards A. (1986). *Plant breeding systems*. Chapman y Hall. Londres. 535 p.
- Rivera- Marchand, B. y Ackerman J.D. (2006). Bat pollination breakdown in the Caribbean columnar cactus *Pilosocereus royenii*. *Biotropica*. **38**: 635–642.
- Rojas- Aréchiga, M. y Batis, A. (2001). Las semillas de cactáceas... ¿Forman bancos en el suelo? *Cactáceas y Suculentas Mexicanas*. **46**:76-83.

- Rojas-Aréchiga M, Vázquez-Yanes, C. (2001) Seed germination of wild and cultivated *Stenocereus stellatus* (Cactaceae) from the Tehuacán Cuicatlán Valley Central, Mexico. *Journal of Arid Enviroments*. **49**: 279-287
- Waser, N. y Price, M .(1993). Crossing distance effects on prezygotic performance in plants: an argument for female choice. *Oikos*. **68**: 303–308.

## 8. ANEXOS

### Anexo 1. Comparación de la producción de frutos (*fruit set*) entre tratamientos.

#### Generalized Linear Model Fit

Response: production fruit

Distribution: Binomial

Link: Logit

Estimation Method: Maximum Likelihood

Observations (or Sum Wgts) = 125

#### Whole Model Test

| Model    | -<br>LogLikelihood | L-R<br>ChiSquare | DF | Prob>ChiSq |
|----------|--------------------|------------------|----|------------|
| Differen | 2.09470605         | 4.1894           | 3  | 0.2417     |

### Anexo 2. Comparación del peso de los frutos entre tratamientos.

Response pesog

Whole Model

Actual by Predicted Plot

#### Analysis of Variance

| Source   | DF | Sum<br>Squares | of Mean Square | F Ratio            |
|----------|----|----------------|----------------|--------------------|
| Model    | 3  | 0.00756054     | 0.002520       | 0.3437             |
| Error    | 75 | 0.54996406     | 0.007333       | <b>Prob &gt; F</b> |
| C. Total | 78 | 0.55752460     |                | 0.7938             |

### **Anexo 3. Comparación de la producción de semillas (*seed set*) entre tratamientos.**

#### **Generalized Linear Model Fit**

Response: Semillas/fruto

Distribution: Poisson

Link: Log

Estimation Method: Maximum Likelihood

Observations (or Sum Wgts) = 80

#### **Whole Model Test**

| <b>Model</b> | <b>-LogLikelihood</b> | <b>L-R<br/>ChiSquare</b> | <b>DF</b> | <b>Prob&gt;ChiSq</b> |
|--------------|-----------------------|--------------------------|-----------|----------------------|
| Difference   | 47.9862256            | 95.9725                  | 3         | <.0001*              |
| Full         | 1192.53517            |                          |           |                      |
| Reduced      | 1240.52139            |                          |           |                      |

### **Anexo 4. Comparación del peso de los frutos entre los tratamientos de entrecruza y polen suplementario.**

#### **Generalized Linear Model Fit**

Response: frutos entre/polen supple.

Distribution: Binomial

Link: Logit

Estimation Method: Maximum Likelihood

Observations (or Sum Wgts) = 55

#### **WholeModel Test**

| <b>Model</b>   | <b>-<br/>LogLikelihood</b> | <b>L-R<br/>ChiSquare</b> | <b>DF</b> | <b>Prob&gt;ChiSq</b> |
|----------------|----------------------------|--------------------------|-----------|----------------------|
| Differenc<br>e | 1.93361375                 | 3.8672                   | 1         | 0.0492*              |

**Anexo 5. Comparación de los porcentajes de germinación de los frutos entre los tratamientos de polinizaciones controladas.**

**Generalized Linear Model Fit**

Response: germination

Distribution: Binomial

Link: Logit

Estimation Method: Maximum Likelihood

Observations (or Sum Wgts) = 28

**Whole Model Test**

| <b>Model</b> | <b>-LogLikelihood</b> | <b>L-R<br/>ChiSquare</b> | <b>DF</b> | <b>Prob&gt;ChiSq</b> |
|--------------|-----------------------|--------------------------|-----------|----------------------|
| Difference   | 25.147251             | 50.2945                  | 3         | <.0001*              |
| Full         | 73.7474113            |                          |           |                      |
| Reduced      | 98.8946624            |                          |           |                      |