



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

POSGRADO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS

INSTITUTO DE ECOLOGÍA

ECOLOGÍA

**Flujo polínico interespecífico y su efecto en el éxito reproductivo de
*Opuntia tomentosa***

TESIS

QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE:

MAESTRA EN CIENCIAS BIOLÓGICAS

PRESENTA:

LINDA MARIANA MARTÍNEZ RAMOS

TUTORA PRINCIPAL DE TESIS:

DRA. MARÍA DEL CARMEN MANDUJANO SÁNCHEZ
INSTITUTO DE ECOLOGÍA, UNAM

COMITÉ TUTOR

DR. ÁNGEL SALVADOR ARIAS MONTES
INSTITUTO DE BIOLOGÍA, UNAM
DRA. SONIA VÁZQUEZ SANTANA
FACULTAD DE CIENCIAS, UNAM

MÉXICO, CD. MX JULIO 2019



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

POSGRADO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS

INSTITUTO DE ECOLOGÍA

ECOLOGÍA

**Flujo polínico interespecífico y su efecto en el éxito reproductivo de
*Opuntia tomentosa***

TESIS

QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE:

MAESTRA EN CIENCIAS BIOLÓGICAS

PRESENTA:

LINDA MARIANA MARTÍNEZ RAMOS

TUTORA PRINCIPAL DE TESIS: DRA. MARÍA DEL CARMEN MANDUJANO SÁNCHEZ
INSTITUTO DE ECOLOGÍA, UNAM

COMITÉ TUTOR DR. ÁNGEL SALVADOR ARIAS MONTES
INSTITUTO DE BIOLOGÍA, UNAM

DRA. SONIA VÁZQUEZ SANTANA
FACULTAD DE CIENCIAS, UNAM

MÉXICO, CD. MX JULIO 2019

OFICIO CPCB/748/2019

Asunto: Oficio de Jurado para Examen de Grado.

M en C. Ivonne Ramírez Wence
Directora General de Administración Escolar, UNAM
Presente

Me permito informar a usted, que el Subcomité de Ecología y Manejo Integral de Ecosistemas, en su sesión ordinaria del día 8 de abril de 2019,, aprobó el jurado para la presentación del examen para obtener el grado de **MAESTRA EN CIENCIAS BIOLÓGICAS**, a la alumna **MARTÍNEZ RAMOS LINDA MARIANA** con número de cuenta **106003112** con la tesis titulada "**FLUJO POLÍNICO INTERESPECÍFICO Y SU EFECTO EN EL ÉXITO REPRODUCTIVO DE *Opuntia tomentosa***", bajo la dirección de la **DRA. MARÍA DEL CARMEN MANDUJANO SÁNCHEZ**:

Presidente:	DR. LUIS ENRIQUE EGUIARTE FRUNS
Vocal:	DR. ISMAEL ALEJANDRO HINOJOSA DÍAZ
Secretario:	DR. ÁNGEL SALVADOR ARIAS MONTES
Suplente:	DR. VINICIO SOSA FERNÁNDEZ
Suplente	DRA. KARINA BOEGE PARÉ

Sin otro particular, me es grato enviarle un cordial saludo.

ATENTAMENTE
"POR MI RAZA HABLARA EL ESPIRITU"
Cd. Universitaria, Cd. Mx., a, 14 de junio de 2019



DR. ADOLFO GERARDO NAVARRO SIGÜENZA
COORDINADOR DEL PROGRAMA



COORDINACIÓN DEL POSGRADO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS
UNIDAD DE POSGRADO

Edificio D, 1º Piso. Circuito de Posgrados, Ciudad Universitaria
Alcaldía Coyoacán. C. P. 04510 CDMX
Tel. (+5255)5623 7002 <http://pcbiol.posgrado.unam.mx/>

AGRADECIMIENTOS INSTITUCIONALES

Al posgrado de Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional Autónoma de México.

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT) por la beca otorgada.

Agradezco a la Dra. Mandujano por el financiamiento de esta investigación a través del proyecto CONACyT 221362 “Estrategias reproductivas en cactáceas, facilitación o interferencia” y el presupuesto operativo del Instituto de Ecología, UNAM.

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

Al Comité tutor conformado por el Dr. Salvador Arias Montes y la Dra. Sonia Vázquez Santana por su contribución a este trabajo.

AGRADECIMIENTOS PERSONALES

A la UNAM

A Meli, por seguir creyendo en mí.

A mi comité tutor: el Dr. Salvador Arias y la Dra. Sonia Vázquez, por sus recurrentes consejos, comentarios y correcciones que contribuyeron a este estudio.

A mi jurado: Dr. Luis Enrique Eguiarte Fruns, Dr. Ismael Alejandro Hinojosa Díaz, Dr. Ángel Salvador Arias Montes, Dr. Vinicio de Jesús Sosa Fernández y Dra. Karina Boege Paré por su valiosa contribución a este trabajo.

Al Laboratorio de Genética y Ecología del Departamento de Ecología de la Biodiversidad del Instituto de Ecología, Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM), donde se realizó este trabajo.

A la Dra. Mariana Rojas Aréchiga, por el apoyo en la logística de las salidas de campo y en la asesoría en los experimentos de germinación.

Al personal del Jardín Botánico Regional de Cadereyta y en especial al Ing. Emiliano Sánchez, director, y M. en C. Beatriz Maruri por el apoyo y las facilidades otorgadas.

Al Dr. Jordan Golubov y al Biól. Armando Bayona por proporcionar información geográfica necesaria para la elaboración del mapa de sitio de estudio.

Agradezco la disposición y tiempo que brindaron en el trabajo de campo y de análisis de datos: P. de Biól. Berenice Morales Medina, Biól. David Alejandro Moyers Rodríguez, M. en C. Diana Cárdenas Ramos, Biól. María Isabel Briseño Sánchez, Biól. Jessica Magdalena Reyes Tovar, Biól. Sandra López Grether, M. en B. Esteban Omar Munguía Soto, M. en E. Oscar Sandino Guerrero Eloísa, M. en C. José Antonio Aranda Pineda, Biól. María Cristina Ramírez Gutiérrez y P. en Biól. Gerardo Manzanez Villasana.

A la Lic. Anabel Domínguez Reyes por el apoyo en la preparación de material en el laboratorio.

A mis padres, Martha S. Ramos y Gerardo Martínez, por ser mis maestros de vida, recordándome que es lo realmente valioso.

A mi hermano Gerardo, por ser el pilar más importante en mi vida.

A mi hermano Mijaíl, por enseñarme a ser resiliente.

A mis amigas, Esther y Ana, que están siempre en mi corazón.

A Bere, la mejor ayudante de campo.

A Fernando Pactli por ser un excelente colega apoyándome en todo.

A mis amiguis de maestría y #teamabeja, por acompañarme en toda esta experiencia.

A mis vecinas de cubículo Nancy y Verito, que me dieron el último empujón.

A mis compañeros y amigos, los tomentosos, por permitirme llorar y reír con ellos.

Índice

Resumen	1
Abstract	2
I. Introducción	3
II. Objetivos	7
a. General	7
b. Específicos	7
III. Materiales y métodos	8
a. Sitio de Estudio	8
b. Especie de Estudio	9
<i>Opuntia tomentosa</i>	10
<i>Opuntia cantabrigiensis</i>	12
<i>Opuntia robusta</i>	12
<i>Opuntia streptacantha</i>	15
Polinizadores	16
c. Diseño Experimental	18
Sincronía en la floración	19
Flujo de polen	20
Formación de frutos y semillas	24
Agamospermia	25
Contaminación por manipulación	26
Germinación	26
IV. Resultados	28
Sincronía en la floración	28
Flujo de polen	33
Formación de frutos y semillas	35
Agamospermia	36
Contaminación por manipulación	36

Germinación	37
V. Discusión	39
Sincronía en la floración.....	39
Flujo de polen	42
Formación de frutos y semillas.....	44
Agamospermia.....	45
Contaminación por manipulación.....	46
Germinación	47
VI. Conclusiones	49
VII. Referencias	50

Resumen

Las condiciones ambientales en una comunidad vegetal pueden provocar que las especies que la componen coincidan en su fenología reproductiva (floración y fructificación). La floración simultánea lleva a establecer interacciones positivas o negativas entre las especies, cambiando así su éxito reproductivo. Así, las especies desarrollan estrategias para garantizar que los agentes polinizadores hagan una transferencia de polen intraespecífico (PHom) y que las plantas presenten mecanismos de protección para que la reproducción pueda llevarse a cabo de manera exitosa cuando reciben polen heteroespecífico (PHet). El flujo de PHet tiene efecto sobre tres etapas de la reproducción: 1) en el viaje del polen hacia los estigmas; 2) en la adherencia y en la interacción polen-pistilo; y 3) en la formación de semillas (híbridas estériles o viables). En el sitio de estudio, *Opuntia tomentosa* coincide en su floración con tres especies del mismo género (*O. robusta*, *O. cantabrigiensis* y *O. streptacantha*), se desea saber si esta coincidencia reproductiva tiene un efecto positivo o negativo sobre el éxito reproductivo de *O. tomentosa* y en qué etapa de su reproducción. En los días en los que coincidieron las cuatro especies se estudió el flujo de polen interespecífico por medio de polvos fluorescentes, midiendo frecuencia y distancia alcanzada. El efecto del PHet sobre la formación y germinación de semillas se evaluó mediante polinizaciones manuales en flores de *O. tomentosa*. Encontramos que *O. tomentosa* tiene una alta sincronía intraespecífica y posee una sincronía interespecífica intermedia con *O. streptacantha* y baja con *O. cantabrigiensis* y *O. robusta*. La cantidad de polen que recibe y dona *O. tomentosa* con las otras especies de *Opuntia* disminuyó conforme aumentó la distancia entre los individuos en floración, evidenciando que los polinizadores de esta comunidad buscan los recursos según su distancia y no discriminan entre las cuatro especies. En las polinizaciones manuales, la presencia de PHet no afectó la producción de frutos, pero disminuyó de 13 a 15% la producción de semillas en comparación a la polinización abierta. Aparentemente, las semillas formadas en los tratamientos de PHet son de autofertilización y no hibridación, por lo que se propone que los efectos observados son causados por interferencia reproductiva. Las semillas con PHet tuvieron una tasa de germinación mayor a 60%, mientras las de polinización abierta de 45%. A pesar de la incidencia de PHet, estrategias como la floración tardía y sincrónica, así como los mecanismos de autocompatibilidad de *O. tomentosa*, amortiguan los efectos negativos del flujo de PHet.

Palabras clave: Competencia por polinizadores, interferencia, polen heteroespecífico, sincronía.

Abstract

The environmental conditions in a plant community can lead species to flower and set fruit at the same time. Co-flowering plants will interact either positively or negatively and it will reflect on species' reproductive success. Thereby, these species will develop strategies that ensure intraspecific pollen (PHom) movement, via pollinators, or protective mechanisms that guarantee their reproduction in spite of interspecific pollen (PHet) presence. Interspecific pollen flow may have an effect on three reproduction stages: 1) in pollen transfer to stigmas; 2) in adhesion and pollen-pistil interactions; and 3) seed set (including viable or sterile hybrids). In the Botanical Garden of Cadereyta de Montes, Querétaro, *Opuntia tomentosa* flowers at the same time for a brief moment with other genus members (*O. cantabrigiensis*, *O. robusta* and *O. streptacantha*), therefore we want to know if this co-occurrence had an effect on *O. tomentosa* reproductive success. The interspecific pollen flow (frequency and distance) was measured with a fluorescent dye. To assess PHet effect on seed set, we perform manual pollinations. In addition, seeds were subjected to germination rate tests. We found that *O. tomentosa* has high intraspecific synchrony, intermediate interspecific synchrony with *O. streptacantha* and low synchrony with *O. cantabrigiensis* and *O. robusta*. *O. tomentosa* frequency of pollen, as a donor and receptor of the pollen from other species, decrease as the distance between flowering plants increase, this shows that pollinators search for resources in accordance with the distance and do not discriminate between *Opuntia* species. PHet presence in manual pollinations did not affect fruits production but decrease 13-15% the production of seeds in comparison with open pollination. We believe that seeds in PHet treatments were from self-fertilization during flower manipulation and not from hybridization. Seeds with PHet had greater germination than open pollination seeds (> 60% versus 45 %). Despite PHet presence, strategies like late synchronous flowering and auto compatibility mechanisms in *O. tomentosa*, dismiss the negative effects of interspecific pollen flow.

Keywords: Pollinators competition, interference, heterospecific pollen, synchrony.

I. Introducción

Las plantas necesitan vectores abióticos (viento, agua) o bióticos para mover sus gametos masculinos (granos de polen) entre y dentro de las poblaciones (Harder y Barrett, 1996; Domínguez y Pérez, 2013). El movimiento polínico de las especies vegetales cuyos vectores son animales —conocidos como polinizadores— dependerá del patrón de forrajeo de dichos polinizadores que a su vez serán influidos por la cantidad y disponibilidad de las recompensas florales, usualmente néctar y en algunos casos el mismo polen (Levin y Anderson, 1970; Richards, 1997).

La producción de flores depende de dos componentes principales, el primero es el genético y el segundo es el conjunto de variables ambientales a las que se encuentran expuestas las plantas, donde el fotoperiodo, la temperatura, la intensidad y calidad de la luz así como las condiciones de humedad son los factores principales que determinan la longitud e intensidad del despliegue floral (Chailakhyan, 1968). Como ninguna especie vegetal está completamente aislada de otra, es de esperarse que en una comunidad más de una especie coincida en su tiempo (fenología) de floración; cuando esto sucede, las especies en floración pueden compartir polinizadores y por ello interactuar de manera positiva (facilitación) o negativa (competencia; Rathcke, 1983; Moeller, 2004; Mesgaran et al., 2017).

La facilitación en estos casos de floración simultánea es causada por un aumento en cantidad y riqueza de las recompensas dadas en un sitio. Este aumento beneficia particularmente a especies cuyas densidades poblacionales son bajas (Ghazoul, 2006; Kobayashi-Kidokoro y Higashi, 2010; Mesgaran et al., 2017) o a aquellas que no poseen recompensas florales (Laverly, 1992; Internicola et al., 2006), pues si se encuentran en combinación con especies atractivas o con abundantes recompensas, aumentará el número y la calidad de las visitas por polinizadores que

reciben y tendrán un efecto positivo sobre la producción de semillas. También se ha reportado que la facilitación en las interacciones planta-planta prevalece cuando las condiciones ambientales son desfavorables (Pistón et al., 2015).

Sin embargo, la floración simultánea podría ser desventajosa, al competir las diferentes especies de plantas por polinizadores, pues en función de las características del despliegue floral de cada especie (incluyendo a la cantidad, longevidad, atractivo y recompensas de las flores, así como la distribución de las plantas dentro un parche, entre otros factores; Arceo-Gómez y Ashman, 2014; Mesgaran et al., 2017), alguna de las especies en floración simultánea podría sufrir una reducción en su éxito reproductivo por compartir polinizadores (Waser, 1978; Campbell, 1985; Morales y Traveset, 2008). Esta competencia entre plantas que florecen sincrónicamente es derivada principalmente de dos mecanismos, el primero es por la preferencia de polinizador, es decir, un polinizador visitará en mayor proporción a una de las especies en floración y la menos visitada sufrirá limitación por polen, y la segunda, es la transferencia de polen heteroespecífico (PHet; Morales y Traveset, 2008).

La transferencia de PHet ocurre cuando un polinizador adquiere polen de una especie y lo deposita en una distinta debido que visita flores de las dos especies (Levin y Anderson, 1970; Rathcke, 1983; Morales y Traveset, 2008; Williams y Adam, 2010). Esta transferencia puede traducirse en una interferencia reproductiva que perjudica la adecuación de al menos una de las especies involucradas (Hochkirch et al., 2007), incluso puede provocar la exclusión de una más fácilmente que la competencia por recursos (Ribeiro y Spielman, 1986; Kuno, 1992).

La interferencia reproductiva en plantas ocurre en cualquiera de estas tres etapas de su reproducción: 1) la transferencia del polen antes de adherirse a los estigmas, 2) las interacciones polen-pistilo, o 3) la formación de semillas por hibridación (Nishida et al., 2014).

En la primera etapa se reconoce la desventaja de la parte masculina de una de las especies que conviven, pues además de que una gran cantidad de polen es perdido en forma de recompensa por el forrajeo de algunos polinizadores (Harder, 2000), la existencia de visitas a diferentes especies provoca que el polen propio de la especie u homoespecífico (PHom) sea transferido a estigmas de una especie diferente, perdiendo la oportunidad de fecundar óvulos homoespecíficos que repercute en su éxito reproductivo (Campbell y Motten, 1985; Burgess et al., 2008; Muchhala y Thomson, 2012).

La segunda etapa es en la interacción polen-pistilo, donde la parte femenina es la perjudicada. El exceso de PHet puede provocar el cierre de los lóbulos del estigma (Waser y Fugate, 1986), evitar la adherencia del polen propio (Brown y Mitchell, 2001), o que el PHet adherido a los estigmas de la especie focal tenga propiedades inhibitoras que interfieran con la fertilización de los óvulos (Thomson et al., 1982). Sin embargo, la intensidad de este tipo de interferencia dependerá de la frecuencia de deposición de PHet, pues los individuos son capaces de tolerar cierta cantidad de polen de otras especies sin que afecte la producción de semillas (Briggs et al., 2015; Huang et al., 2015).

La tercera etapa se da después de la fertilización y se propicia la formación de híbridos, proceso que impone un costo en la fecundidad y sobrevivencia de las especies parentales. La formación de semillas híbridas implica la disminución de oportunidades de formar semillas homoespecíficas, que en el tiempo disminuye el número de individuos “puros” y puede provocar la pronta extinción de las poblaciones parentales (Levin et al., 1996; Wolf et al., 2001; Buerkle et al., 2003; Burgess et al., 2008), este cambio en las abundancias sucedería tanto con individuos híbridos viables (Levin et al., 1996) como debido a la producción de híbridos no viables (Ellstrand, 1992; Ellstrand y Elam, 1993).

El efecto negativo de la floración sincrónica junto con otras especies en el costo reproductivo y por lo tanto del éxito reproductivo de una especie dada, va a depender de factores como cercanía física con sus congéneres, la asimetría en la producción de polen causada por la abundancia de los individuos de las diferentes especies que florezcan al mismo tiempo, la similitud de polinizadores entre especies, la producción de flores en cada especie y el grado en el que la transferencia de PHet reemplaza al PHom (Burgess et al., 2008).

Para disminuir el costo reproductivo en estos escenarios de floración sincrónica, algunas especies han evolucionado características como la autopolinización, ha evolucionado para tener flores con mayor longevidad y/o con morfologías que permitan la polinización por un grupo diverso o diferente de polinizadores (Rathcke, 1988; Huang et al., 2015). También se han observado la evolución de estrategias particulares que permiten la visita simultánea sin que sea comprometida la adecuación de las especies involucradas, como la diferenciación del gremio polinizador (Rocha et al., 2005; Queiroz et al., 2015), la deposición del polen en distintas áreas o estructuras del polinizador y así evitar el contacto con estigmas de otras especies (Huang y Shi, 2013); o como la diferenciación temporal (i.e., a diferentes horas del día) y espacial de la exposición del polen y en la receptividad del estigma de las especies que florecen simultáneamente (Stone et al., 1998; Mesquita-Neto et al., 2018); también impidiendo la germinación de PHet por procesos de incompatibilidad, usualmente moleculares (Boyle y Stimart, 1986).

En la sección de especies silvestres del Jardín Botánico Regional de Cadereyta, Querétaro, se encuentran cuatro especies del género *Opuntia* (Cactaceae): *O. tomentosa*, *O. cantabrigiensis*, *O. robusta*, y *O. streptacantha*. Estas especies coinciden en su tiempo de floración, ofrecen recompensas similares, tanto néctar y polen (Bravo-Hollis, 1978) y comparten polinizadores, donde predomina las abejas solitarias (Munguía-Soto, 2017), por lo que se espera que interactúen en esta etapa reproductiva. Para este estudio la especie focal, en la que se evaluó si existe un efecto

sobre el éxito reproductivo debido a la floración sincrónica dentro del género es *Opuntia tomentosa*. Esta especie tiene un periodo de floración de más de dos meses (Martínez-Ramos, 2016), su altura (en promedio 2 m) permite la manipulación de sus flores y produce una gran cantidad de flores que facilitan la experimentación.

II. Objetivos

a. General

Determinar si hay un efecto sobre el éxito reproductivo de *Opuntia tomentosa* debido a su coincidencia reproductiva (floración simultánea) con otras especies de *Opuntia*.

b. Específicos

- Determinar la proporción y distancia de transferencia polen heteroespecífico.
- Estimar la intensidad de interferencia reproductiva en *Opuntia tomentosa*.
- Determinar los mecanismos que evitan o amortiguan la interferencia reproductiva.
- Estimar la producción de frutos y semillas en presencia de polen heteroespecífico.
- Determinar el efecto de polen heteroespecífico en la viabilidad de semillas.

III. Materiales y métodos

a. Sitio de Estudio

El Jardín Botánico Regional de Cadereyta de Montes “Ing. Manuel González de Cosío” (en adelante JB), ubicado en el municipio de Cadereyta, Querétaro, fue fundado en 1991. Pertenece a la Secretaría de Educación del Gobierno del Estado de Querétaro y está adscrito al Consejo de Ciencia y Tecnología de Estado de Querétaro, México (CONCYTEQ, 2008; Reyes-Santiago, 2011).

Se encuentra al suroeste del municipio a 20° 41' 15.8'' N y 99° 48' 17.7'' O, a una altitud de 2046 msnm y actualmente ocupa una superficie aproximada de 9.13 ha (Figura 1). El JB conserva parte de la vegetación original del municipio (zona silvestre), que es matorral xerófito crasicaule perturbado (Sánchez et al., 2012), sin embargo, esta dependencia está rodeada de casas y campos de cultivo (Figura 1). El clima en la región es semiseco templado con lluvias en verano BS1kw(w), según la clasificación de Köppen modificada por (García, 2004), la temperatura mínima promedio anual es de 6.6°C y la máxima de 24.4°C, con precipitación mínima anual acumulada promedio de 309.3 mm y máxima de 798.6 mm (CONCYTEQ, 2008; SNM, 2017).

El JB está dividido en tres partes principales: una zona de colecciones vegetales, una unidad de propagación de plantas silvestres y una zona silvestre que comprende el área de bordo y senderos (Sánchez y Sanaphre, 2009). La última sección tiene un área aproximada de 7.3 ha y es donde se realizó este estudio.

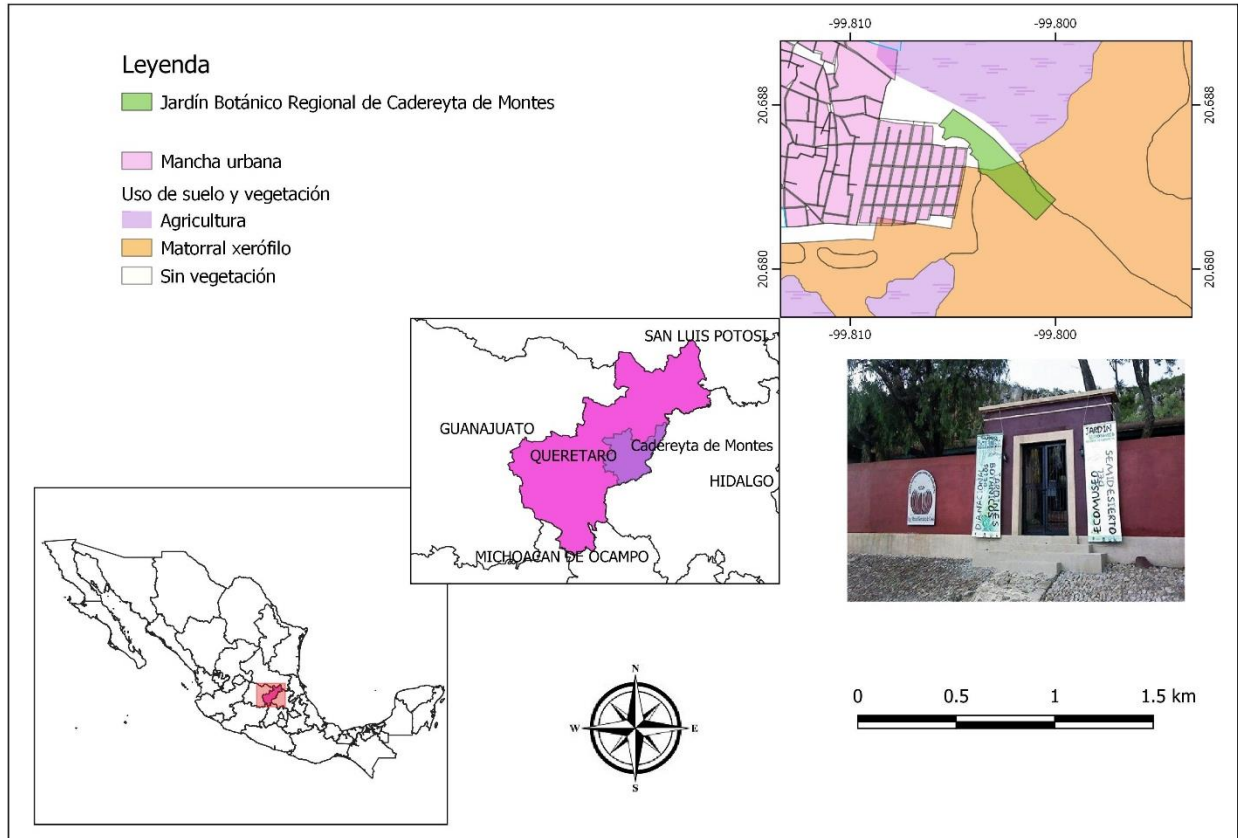


Figura 1. Ubicación del Jardín Botánico Regional de Cadereyta, Querétaro, México. El Jardín se encuentra rodeado de calles (noroeste), cultivos (noreste) y vegetación nativa(sur). Elaborado por Cristina Ramírez Gutiérrez y Linda M. Martínez R. con cartas de CONABIO (2008). 'División Política Estatal. Versión 2. Escala 1:250000.

b. Especie de Estudio

En un listado de especies leñosas para la vegetación remanente del JB, se registraron seis especies de la subfamilia Opuntioideae (Cactaceae): *Cylindropuntia imbricata* (Haw.) F.M. Knuth, *Cylindropuntia leptocaulis* (DC.) F.M. Knuth, *Opuntia cantabrigiensis* Lynch, *O. robusta* Wendland in Pfeiffer, *O. streptacantha* Lemaine y *O. tomentosa* Salm-Dyck (Morón-Torres, 2017). Sin embargo, las dos especies de *Cylindropuntia* tuvieron una frecuencia mucho menor (7.86% del total registrado por Morón-Torres, 2017) que los individuos de *Opuntia* (92.14%), por lo que no se consideraron en este estudio.

Opuntia tomentosa

De las cuatro especies, la focal es *Opuntia tomentosa* Salm-Dyck (Figura 2C), que es una planta arbustiva o arborescente de 1 a 3 m de altura. Presenta ramas abundantes formando una copa amplia. Tiene cladodios oblongos u ovalados, de 15 a 32 cm de longitud (Anderson, 2001) y con pubescencia aterciopelada. Las aréolas son pequeñas, con glóquidas amarillas y las espinas son amarillentas a blancas, de una a tres por aréola. Las flores son hermafroditas, de color anaranjado con tonos amarillo y rojizos, de 4 a 5 cm de longitud; filamentos blancos; estilo rosa, cinco a ocho lóbulos del estigma, cerrados y amarillos (Figura 2D). El fruto es carnoso del tipo bayoide (Jiménez y Vázquez-Santana, 2013), obovoide a subgloboso, rojo, con semillas de 4 mm de ancho (Bravo-Hollis, 1978; Arias et al., 2012) y cerca de 60 semillas por fruto (Galicia, 2013).

Opuntia tomentosa florece de marzo a mayo y fructifica de julio a octubre (ob. pers.). En un estudio realizado por Galicia (2013) se reportó que las flores de esta especie abren un solo día y presentan hercogamia (i.e., 0.35 mm en promedio de separación espacial entre las anteras y el estigma). La especie presenta un sistema de apareamiento mixto, pues a nivel de formación frutos y semillas, esta especie es igualmente exitosa en su reproducción tanto por entrecruza como por autocruza (Galicia, 2013). En las flores de la temporada de 2017 y 2018 no se detectó una separación espacial entre las estructuras reproductivas.

Se puede encontrar desde Guatemala hasta México. En México, se distribuye en el centro y sur del país: en la Ciudad de México, Estado de México, Guanajuato, Guerrero, Hidalgo, Jalisco, Michoacán, Morelos, Oaxaca, Puebla, Querétaro y San Luis Potosí (González-Durán, 1999; Guzmán et al., 2003). En una población de Hidalgo se ha caracterizado como especie tetraploide (Baker et al., 2009).

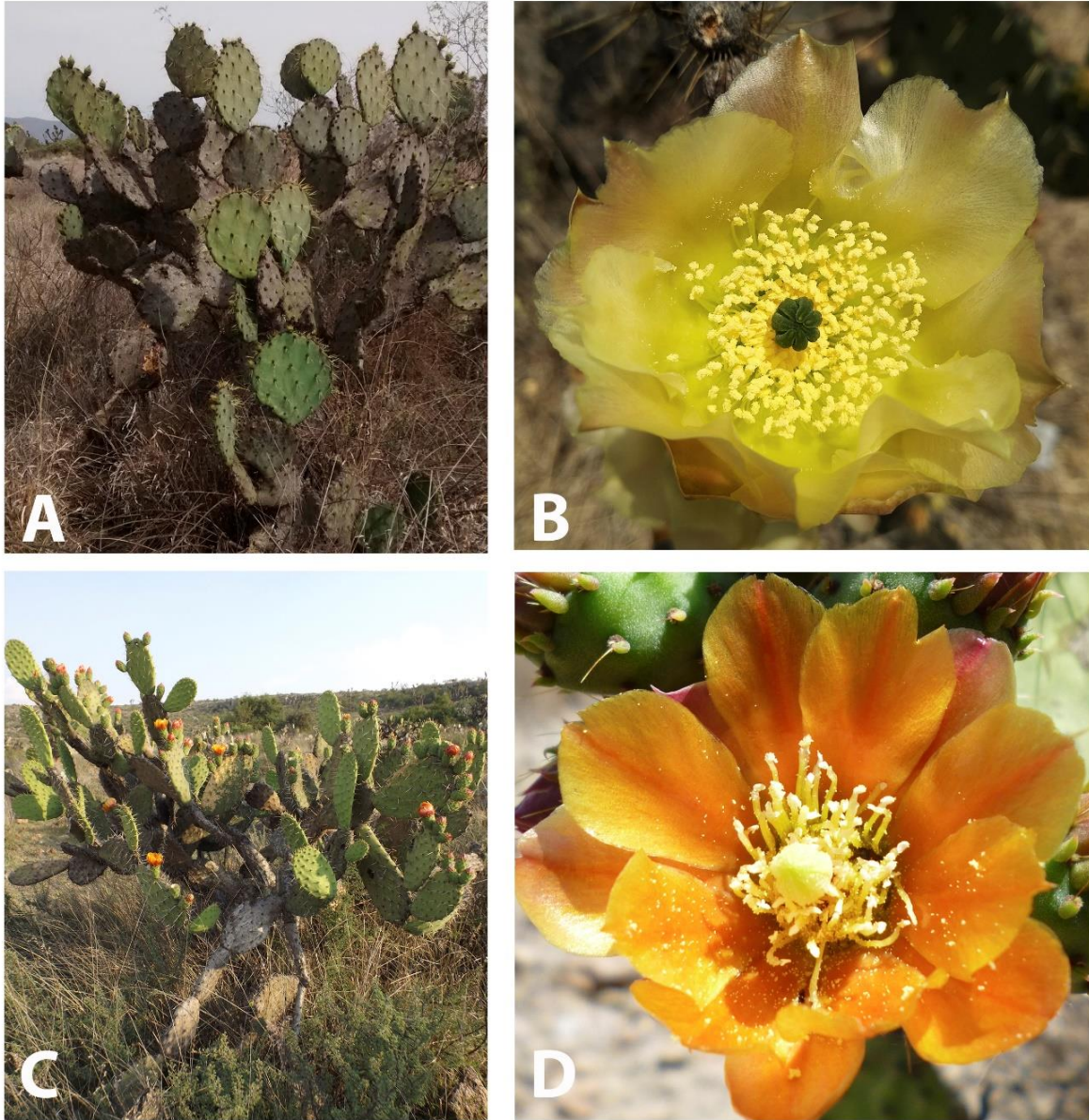


Figura 2. Especies de estudio. A) Individuo y B) flor de *Opuntia cantabrigiensis*; C) individuo y D) flor de *Opuntia tomentosa*. Ambas en el Jardín Botánico Regional de Cadereyta, Querétaro. Las plantas de *O. cantabrigiensis* presentan cladodios redondos, con espinas y numerosas glóquidas amarillas, sus flores son hermafroditas, amarillentas con tonos rojizos, filamentos blancos, estilo amarillo y lóbulos del estigma cerrados y verde brillante. Las plantas de *O. tomentosa* tiene cladodios oblongos a ovalados con pubescencia y espinas blancas, las flores son hermafroditas de color naranja con tonos amarillos y rojizos, filamentos blancos, estilo rosa, lóbulos del estigma cerrados y amarillos. Fotos: Linda M. Martínez R., 2018.

Opuntia cantabrigiensis

Opuntia cantabrigiensis Lynch (Figura 2A) es una planta arbustiva redondeada, de 1 a 1.5 m de altura, con cladodios orbiculares de 12 a 20 cm de longitud, de color verde azulado pálido. Las aréolas son distantes, grandes y con tricomas color café, las espinas son amarillas con la base rojiza y glóquidas numerosas largas y de color amarillo intenso. Las flores son de 5 a 6 cm de largo, amarillentas con tonos rojizos, estilo amarillo, estigma cerrado, verde brillante y con ocho a doce lóbulos (Figura 2B). El fruto es carnoso del tipo bayoide, globoso de color púrpura y pulpa carmesí (Bravo-Hollis, 1978).

Esta especie florece de marzo a principios de abril y fructifica a finales de abril y mayo (ob. pers.). En esta misma población se reportó un sistema de apareamiento xenógamo estricto y autoincompatibilidad parcial, lo impide la formación de frutos y semillas por autogamia, pero es posible por geitonogamia (Hernández, 2016).

Opuntia cantabrigiensis se registra en Estados Unidos y México. En México se distribuye en Guanajuato, Hidalgo, Jalisco, Querétaro, San Luis Potosí. (Bravo-Hollis, 1978; Guzmán et al., 2003). En Guanajuato, San Luis Potosí y Zacatecas se han caracterizado poblaciones diploides (Muñoz-Urias et al., 2008; Baker et al., 2009).

Opuntia robusta

Opuntia robusta Wendland in Pfeiffer (Figura 3A) es una planta arbustiva muy ramificadas, de 1 a 2 m de altura. Tiene cladodios orbiculares o algo oblongos de 15 a 40 cm de longitud, muy robustos y muy gruesos de 1.5 a 2.5 cm de espesor, color verde azulado claro, glauco. Las aréolas distantes y variables en tamaño con glóquidas numerosas, amarillentas a café. Las Flores son funcionalmente dioicas, amarillas, de 5 a 7 cm de largo, lóbulos del estigma amarillos. El fruto es carnoso del tipo bayoide, anchamente subglobosos, verde amarillento a purpurino. La especie es

muy variable y aparentemente se hibrida con frecuencia con *O. streptacantha*, *O. hyptiacantha* y *O. cantabrigiensis* (Bravo-Hollis, 1978).

Esta especie se distribuye en Estados Unidos y México. En México está en Chihuahua, Ciudad de México, Durango, Estado de México, Guanajuato, Hidalgo, Jalisco, Michoacán, Querétaro, San Luis Potosí, Sonora y Zacatecas (Bravo-Hollis, 1978; Guzmán et al., 2003). En Guanajuato, Jalisco y Zacatecas se ha caracterizado como tetraploide (Muñoz-Urias et al., 2008).

En San Luis Potosí se ha reportado una población con individuos masculinos, femeninos y hermafroditas (Castillo y González, 1988) y en Querétaro hay poblaciones funcionalmente dioicas, donde los individuos comienzan el desarrollo de flores bisexuales y posteriormente muere una de las estructuras sexuales (Alfaro, 2007; Hernández, 2008).

La población de sitio de estudio posee individuos femeninos y masculinos. Las flores masculinas (Figura 3B) tienen estambres largos con abundante polen amarillo, estilo funcional pero el estigma cerrado con seis a ocho lóbulos y cámara ovárica vacía o con primordios de óvulo en la parte basal (Hernández, 2008). Las flores femeninas (Figura 3C) tienen los estambres cortos con nada o poco polen blanco no funcional, el estilo es mayor a los estambres, con nueve a diez lóbulos del estigma largos y abiertos, que facilitan el aterrizaje de los polinizadores; las paredes de la cámara ovárica están repletas de óvulos (Alfaro, 2007).

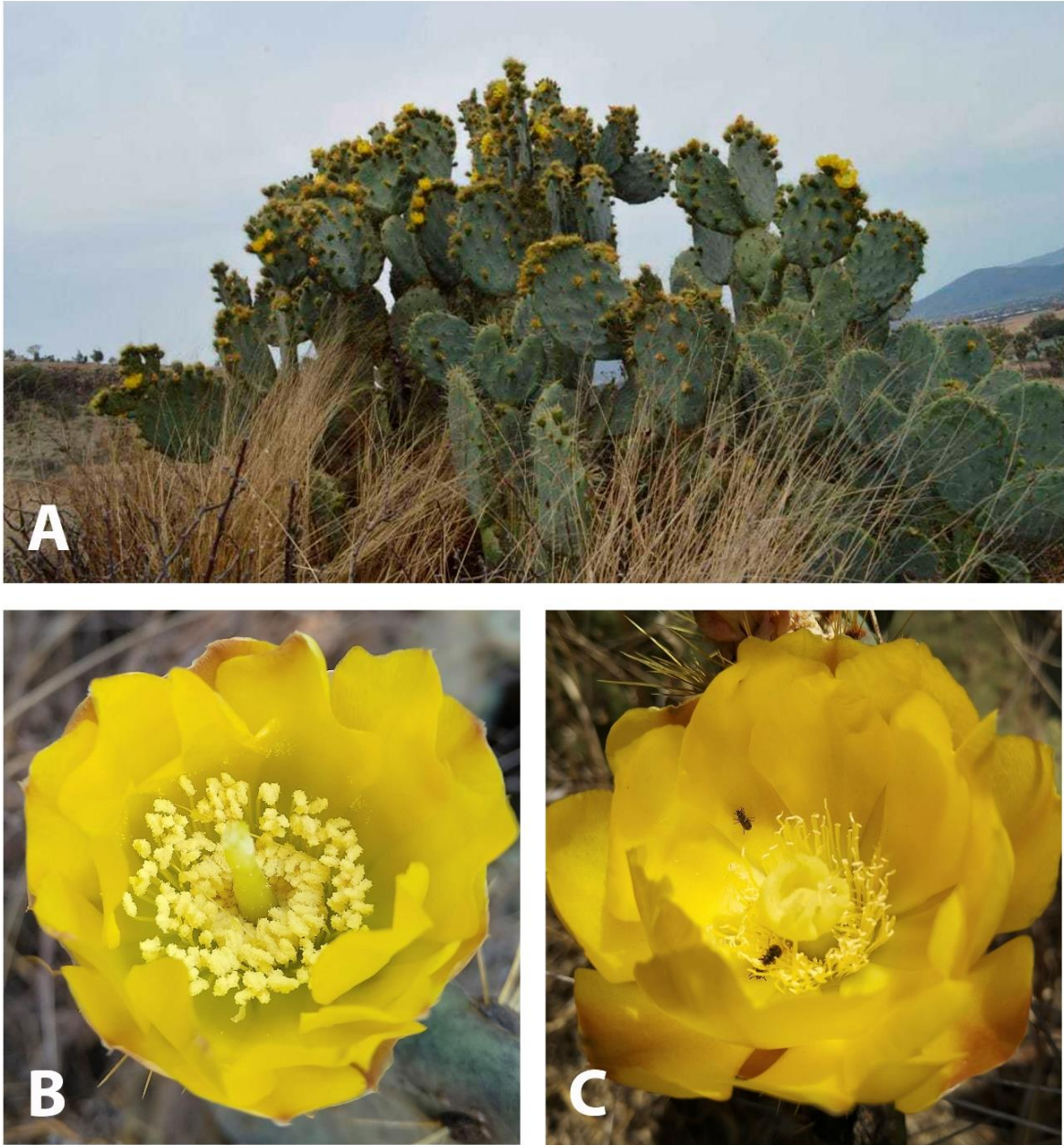


Figura 3. A) Individuo, B) flor masculina y C) flor femenina de *Opuntia robusta* en el Jardín Botánico Regional de Cadereyta, Querétaro. Las plantas de *O. robusta* presenta cladodios redondos muy gruesos, color verde azulado, glauco, con areolas con tricomas café oscuro y espinas amarillas; las flores masculinas tienen numerosos estambres con mucho polen amarillo, lóbulos del estigma cerrados y amarillos; las flores femeninas tienen estambres cortos y amarillos con poco polen blanco y lóbulos del estigma abiertos y amarillos. Fotos: A) Bruno Saldaña, 2017; B) y C) Linda M. Martínez R., 2018.

Opuntia streptacantha

Opuntia streptacantha Lemaine (Figura 4A) es una planta arbustivas o arborescentes muy ramosa de 2 a 4 m de alto. Posee cladodios de 18 a 30 cm de largo, obovados a suborbiculares, glabros y aréolas pequeñas con glóquidas amarillas a rojizas y blancas a grises, negruzcas con la edad. Las flores amarillas cambian a anaranjado, o siempre anaranjadas, de 6 a cm de longitud, estambres con filamentos verdes-amarillentos y estilo blanco-amarillento, estigma verde-amarillento con ocho a diez lóbulos. El fruto es carnoso del tipo bayoide, globoso u obovoide, amarillo a rojo, con pulpa roja o amarilla (Arias et al., 2012).

O. streptacantha florece de marzo a junio y fructifica de junio a septiembre (ob. pers.). En el JB se encuentran dos morfotipos (Figura 4B y C) que se distinguen por el color de la flor: anaranjadas y amarillas (Manzanarez, 2019).

Esta especie es endémica de México y se encuentra en Aguascalientes, Guanajuato, Hidalgo, Oaxaca, Puebla, Querétaro, San Luis Potosí, Tlaxcala, Zacatecas y es cultivada en varias regiones del país (Bravo-Hollis, 1978; Arias et al., 2012). Bravo-Hollis (1978) menciona que existen numerosos híbridos y variedades y Baker *et al.* (2009) reporta un intermedio morfológico cuyos padres putativos son *O. tomentosa* y *O. streptacantha*. En San Luis Potosí y Zacatecas se ha caracterizado como una planta tetraploide (Pinkava y Parfitt, 1982); en Guanajuato, Jalisco, Zacatecas y en el Valle de México como octoploide (Palomino y Heras, 2001; Muñoz-Urias et al., 2008).

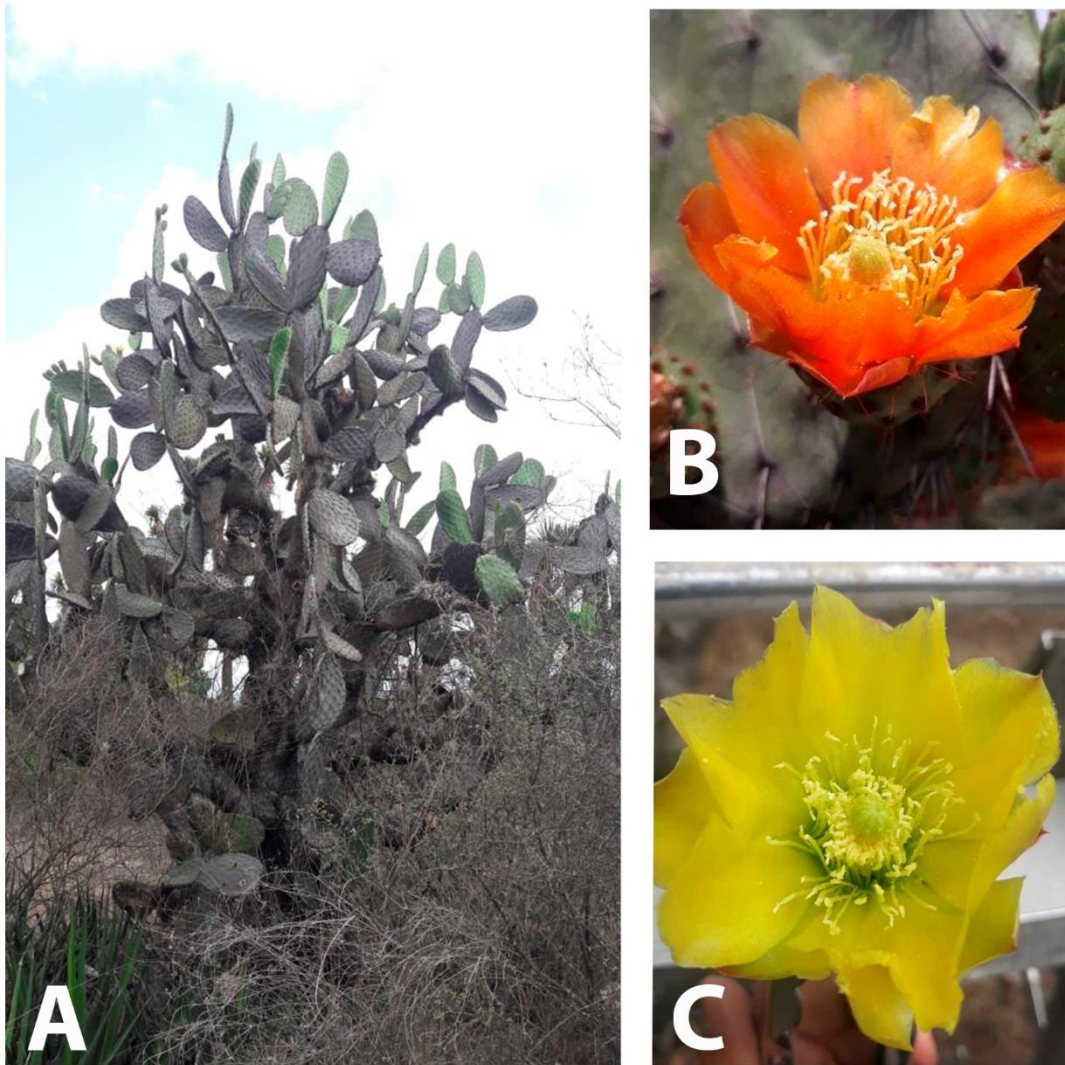


Figura 4. A) Individuo, B) flor naranja y C) flor amarilla de *Opuntia streptacantha* en el Jardín Botánico Regional de Cadereyta, Querétaro. Las plantas de *O. streptacantha* presenta cladodios obovados o suborbiculares glabros, aréolas con espinas blancas a grises; flores amarillas o naranjas con filamentos verde-amarillentos, estilo blanco-amarillento y lóbulos del estigma verde-amarillentos, cerrados. Fotos: A) Yucel Varela, B) y C) Gerardo Manzanarez, 2019.

Polinizadores

La polinización en el género *Opuntia* es realizada principalmente por abejas de las familias Megachilidae, Halictidae y Apidae (Beutelspacher, 1971; Mandujano et al., 2014; Munguía-Soto, 2017; Cárdenas-Ramos, 2019; Saldaña, 2019). En el JB se reportado la ocurrencia de visitantes florales de algunas especies de cactáceas, incluyendo las cuatro especies estudiadas. En estos

estudios se ha observado que las abejas visitantes y polinizadoras pertenecen a las familias Andrenidae, Apidae, Halictidae y Megachilidae (Tabla 1). Las cuatro especies estudiadas comparten la presencia de *Macrotera* sp. (Andrenidae), *Apis mellifera*, *Bombus pensylvanicus*, *Diadasia rinconis* (Apidae), *Augochlora* sp., *Lasioglossum* sp. y *Lasioglossum* (Dialictus; Halictidae). Ninguna de las abejas reportadas visita exclusivamente a *O. tomentosa*.

Tabla 1. Presencia de polinizadores en las cuatro especies de *Opuntia* en el Jardín Botánico Regional de Cadereyta y sólo para *Opuntia tomentosa* se incluyen registros para Reserva del Pedregal de San Ángel.

Familia/Especie	<i>O. tomentosa</i>	<i>O. cantabrigiensis</i>	<i>O. robusta</i>	<i>O. streptacantha</i>
Andrenidae				
<i>Macrotera</i> sp.	X	X	X	X
<i>Macrotera sinaloana</i>		X		
Apidae				
<i>Apis mellifera</i>	X	X	X	X
<i>Bombus pensylvanicus</i>	X	X	X	X
<i>Diadasia rinconis</i>	X	X	X	X
<i>Melissodes</i> sp.		X		X
Halictidae				
<i>Agapostemon</i> sp.	X		X	
<i>Augochlora</i> sp.	X	X	X	X
<i>Augochlorella</i> sp.		X	X	X
<i>Augochloropsis</i> sp.		X		
<i>Ceratina</i> sp.		X	X	X
<i>Lasioglossum</i> sp.	X	X	X	X
<i>Lasioglossum</i> (Dialictus)	X	X	X	X
<i>Lasioglossum</i> (Eickwortia)		X	X	
Megachilidae				
<i>Ashmeadiella opuntiae</i>		X	X	X
<i>Lithurge</i> sp.		X		
<i>Lithurgus</i> sp.			X	
<i>Lithurgus apicalis</i>		X		
<i>Lithurgus littoralis</i>				X
<i>Lithurgus planifrons</i>	X		X	X
<i>Megachile</i> sp.	X	X		

Datos tomados de Mandujano *et al.*, 2014; Hernández, 2016; Munguía-Soto, 2017, Cárdenas, 2019; Manzanarez, 2019; Saldaña, 2019.

c. **Diseño Experimental**

Se visitó el sitio de estudio en las temporadas reproductivas de *Opuntia tomentosa* de marzo a mayo de 2017 y 2018, para hacer los experimentos y medir el flujo de polen con las otras tres especies de *Opuntia* que se encuentran en el mismo sitio y con floración simultánea. Se establecieron dos “vecindarios reproductivos”, el primer vecindario cubrió un área aproximada de 1 ha y el segundo de 0.125 ha (Figura 5). En el primer vecindario se marcaron todos los individuos adultos con estructuras reproductivas (botones, flores y/o frutos); el segundo vecindario se estableció por la poca frecuencia de flores de *O. streptacantha* durante el primer seguimiento de flujo polínico (18 a 25 de abril 2017) y en él sólo se marcaron las plantas de *O. tomentosa* y *O. streptacantha* para el segundo registro de flujo (13 a 15 de mayo de 2017). Para ambos vecindarios se tomaron coordenadas polares para trazar el mapa de distribución (Figura 5). En total se marcaron 170 plantas, 146 plantas en el primer vecindario (46 de *O. cantabrigiensis*, 47 de *O. robusta*, 18 de *O. streptacantha* y 35 de *O. tomentosa*) y 24 en el segundo (14 de *O. streptacantha* y 10 de *O. tomentosa*).

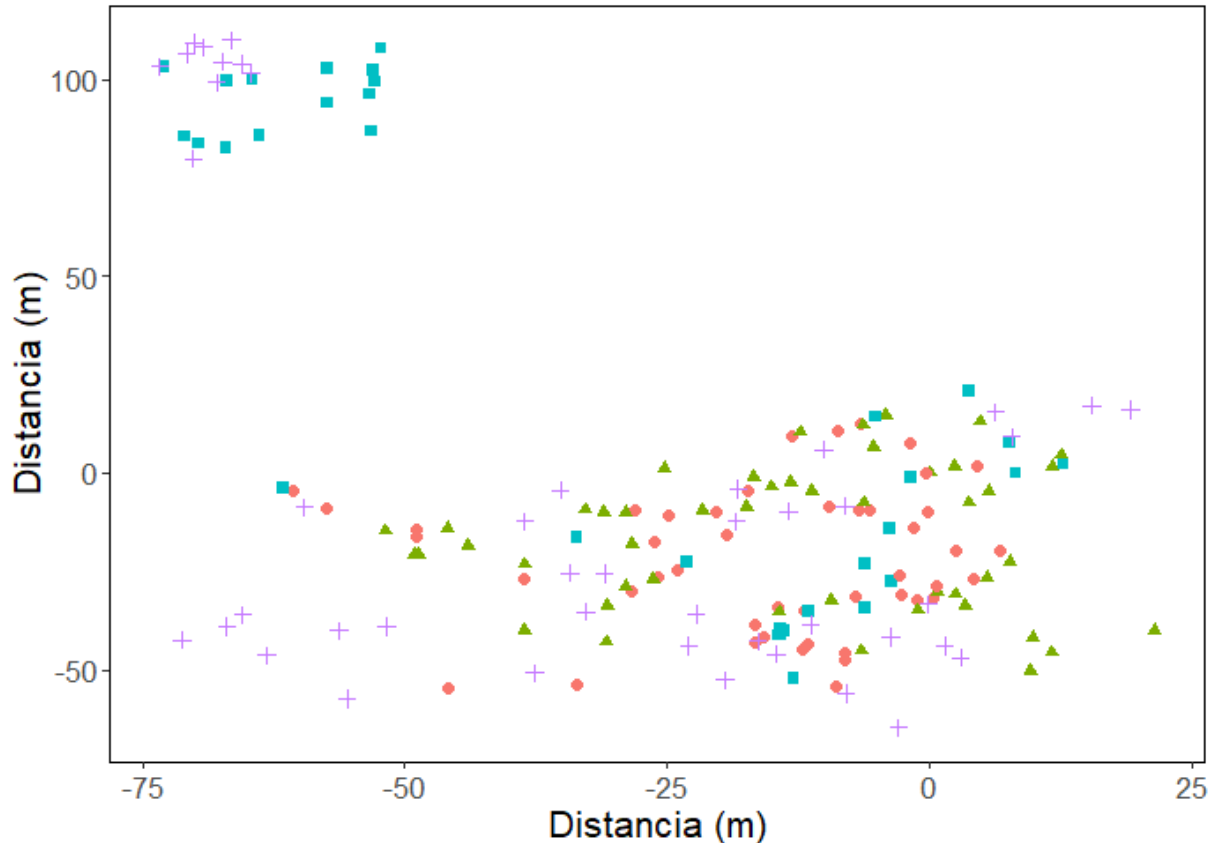


Figura 5. Ubicación de las plantas en el Jardín Botánico Regional de Cadereyta, Querétaro, México. El primer “vecindario” está en la parte inferior y el segundo en la parte superior. Simbología: ○ *O. cantabrigiensis*, Δ *O. robusta*, □ *O. streptacantha* y + *O. tomentosa*.

Sincronía en la floración

Durante 12 días (18 a 25 de abril y 12 a 15 de mayo de 2017) se contó el número de flores abiertas por individuo y por especie en los vecindarios reproductivos. Con estos valores, se determinó el índice de sincronía intra e interespecífica de Mahoro (2002) modificada por Osada et al. (2003).

A diferencia de otros índices de sincronía, donde sólo se toman en cuenta los días de floración (por ejemplo, Augspurger, 1983), el índice de Mahoro (2002) considera el número relativo de flores abiertas en cada individuo y la modificación de Osada et al. (2003) lo traslada a nivel interespecífico.

$$S_i = \frac{1}{2} \left(2 - \sum_{i=1}^n |y_{i,j} - \Psi_{i,j}| \right)$$

[1]

En la ecuación [1] S_i es el grado de sincronía entre dos especies, $y_{i,j}$ es la proporción de flores abiertas de la especie A desde el censo ($j - 1$) hasta el censo j , del total del número de flores que abrieron en la temporada y $\Psi_{i,j}$ es el promedio de flores abiertas de la especie B ($y_{k,j}$). La sincronía intraespecífica también es calculada con la ecuación [1] pero $y_{i,j}$ es la proporción de flores abiertas a nivel individual de un censo a otro y $\Psi_{i,j}$ es el promedio de flores abiertas a nivel individual ($y_{k,j}$; Mahoro, 2002; Osada et al., 2003). Un valor cercano a uno representa sincronía perfecta y un valor cercano a cero representa asincronía.

Para el año 2018, se calculó la sincronía intra e interespecífica con registros de conteo de flores de 26 de febrero a 31 de mayo, con intervalos de 15-20 días, lo que abarca las floraciones de las cuatro especies. En este registro, se tomaron en cuenta las plantas de ambos vecindarios. Los datos de 2017 y 2018 se reportan junto con la variación de temperatura y precipitación de la estación meteorológica (WU, 2019).

Flujo de polen

Esta sección se realizó en 2017 de 18 a 24 de abril para el primer vecindario y de 13 a 15 de mayo para el segundo. Ambos registros de polen se dividieron en dos partes: a) Se determinó la proporción y distancia de flujo de polen de *O. tomentosa* que llega a las otras especies, es decir, cuando *O. tomentosa* es la planta donadora de polen. b) Se determinó la proporción y distancia de flujo de polen de las otras especies que llegan a *O. tomentosa*, que es cuando es receptora de polen. En 2016 se encontró que el flujo de polen de *tomentosa* alcanza en promedio 22.44 m de distancia

durante el pico de floración y que el polvo fluorescente es más frecuente en flores que se encuentran a distancias cortas (Martínez-Ramos, 2016). La primera parte del experimento representa a la pérdida de PHom por transferencia a estigmas heteroespecíficos y la segunda a la transferencia de PHet a estigmas de *O. tomentosa*, que puede causar interferencia reproductiva a nivel polen-pistilo o formación de híbridos. De los diez días de registro de flujo de polen, cuatro fueron enfocados en ver las distancias alcanzadas de *O. tomentosa* como donadora y seis días como receptora.

Para la primera parte (como donadora de polen), se marcó a las 11 h el polen de flores recién abiertas de una planta de *O. tomentosa* (foco) con polvos fluorescentes (Arco colores® rojo ML-FRK-635), espolvoreando el polvo en cada antera de la flor con ayuda de un pincel. Después, a las 18 h se colectaron los estigmas de flores que abrieron de las demás especies (*O. cantabrigiensis*, *O. robusta* y *O. streptacantha*; Figura 6A).

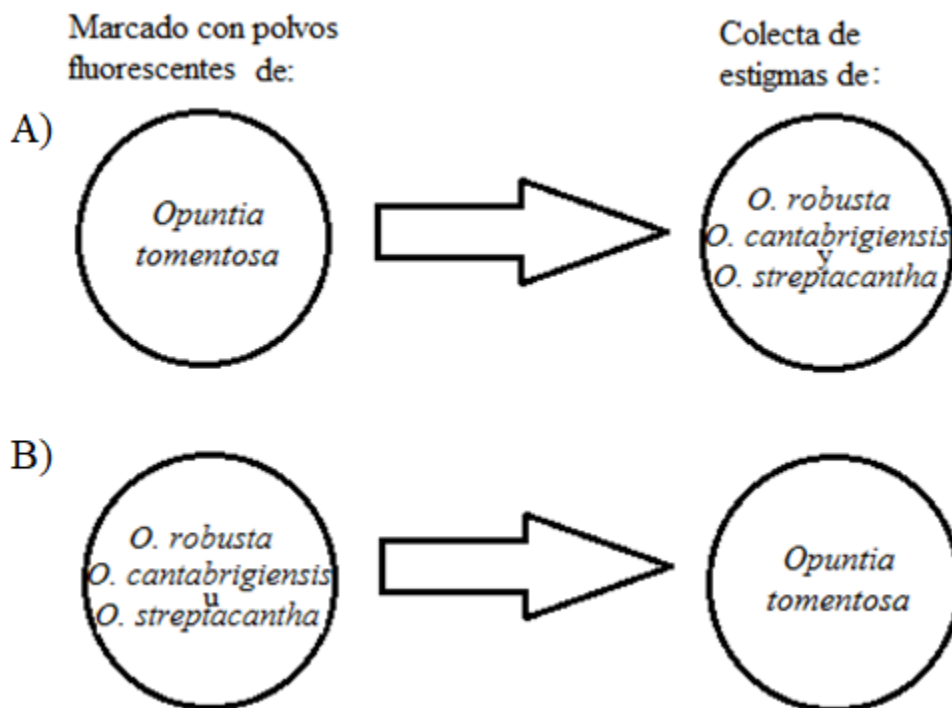


Figura 6. Determinación de flujo de polen. A) Marcado de los granos de polen de *Opuntia tomentosa* para su posterior localización en los estigmas de *O. robusta*, *O. cantabrigiensis* y *O. streptacantha*. B) Marcado

de los estigmas de una especie (*O. robusta*, *O. cantabrigiensis* u *O. streptacantha*) para su posterior localización en los estigmas de *O. tomentosa*.

En la segunda parte, como receptora de polen, en los mismos horarios, pero en días diferentes, se marcó polen de flores que recién abrieron de una planta de *O. cantabrigiensis*, *O. robusta* u *O. streptacantha* (foco), después se colectaron los estigmas de las flores de *O. tomentosa* que abrieron (Figura 6B).

Los estigmas colectados fueron revisados con ayuda de una lámpara de luz negra y la frecuencia de polen marcado con polvos fluorescentes se registró de manera cualitativa con las siguientes categorías: 1) sin polvo, donde no se percibe ningún grano de polen marcado; 2) poco, cuando se logran distinguir menos de 10 granos de polvo; 3) medio, si los granos de polen abarcan del 25 al 50% del estigma (a partir de este punto no se distinguen los polvos fluorescentes como unidades si no como “manchas”); 4) alto, cuando los granos de polen marcados abarcan más del 50% del estigma. La distancia de flujo de cada categoría se calculó con ayuda del mapa de distribución de los vecindarios.

En este análisis se tienen dos variables de respuesta y tres factores o variables explicativas. Las variables respuesta son frecuencia de flores con marcador (polvo) y distancia alcanzada por los marcadores. Las variables explicativas son función que desempeña *O. tomentosa* (donadora/receptora), especie con la que hay intercambio de polen marcado (*O. cantabrigiensis*/*O. robusta*/*O. streptacantha*) y categoría de frecuencia de polen (sin polvo/poco/medio/alto). Con estas variables se corrieron un modelo lineal generalizado (GLM) y dos análisis de varianza (ANOVA) de dos factores en JMP10. Los análisis se enlistan en la Tabla 2.

Tabla 2. Análisis estadísticos del estudio. OC = *Opuntia cantabrigiensis*, OR = *Opuntia robusta*, OS = *Opuntia streptacantha*, PA = polinización abierta, EN = entrecruza, AU = autocruza, EM = emasculación, EC = emasculación y corte de estigma, ECP = emasculación, corte de estigma y polinización de estilo.

Tipo de análisis	Variable respuesta	Variables explicativas	Función liga – distribución del error
Flujo de polen			
GLM	Frecuencia de flores con marcador	1. Función(donadora/receptora) y categoría de polen (sin polvo/poco/medio/alto)	log – Poisson
ANOVA	Distancia de marcador	1. Función(donadora/receptora) y especie de intercambio (OC/OR/OS) 2. Especie de intercambio (OC/OR/OS) y categoría de polen (sin polvo /poco /medio/alto)	– Normal
Formación de frutos y semillas			
GLM	Número de semillas por fruto	1. Tratamiento de polinización (PA/OC/OR/ OS)	log – Poisson
Contaminación por manipulación			
GLM	Número de semillas por fruto	1. Tratamiento de polinización (EN/AU/EM/EC/ECP)	log – Poisson
Germinación			
Modelo tipo “tiempo al evento”	Proporción de germinación t_{50}	1. Tratamiento de polinización (PA/OC/OR/OS/AG) 2. Tratamiento de polinización (PA/OC/OR/OS/AG)	logit – Binomial

Formación de frutos y semillas

Para estudiar si la presencia de polen de las otras especies de *Opuntia* afecta la formación de semillas de *O. tomentosa*, se hicieron polinizaciones manuales en 2017 y 2018. Para ello, se siguieron los siguientes pasos: 1) aislar los botones con bolsas de tul hasta su apertura; 2) emasculación, es decir, aislando los estigmas (para evitar lo mejor posible el contacto con las anteras procurando que fuera antes de la dehiscencia de las anteras y de que el estigma estuviera receptivo), cortar las anteras y humedecer con alcohol los restos de anteras y polen para deshidratarlos; 3) una vez listas las flores, se le aplicó polen de *O. robusta*, *O. cantabrigiensis* u *O. streptacantha*, según fuera el tratamiento y los resultados se compararon con la formación de frutos y semillas de flores de polinización abierta (controles). En total fueron tres tratamientos con polen de *O. robusta*, *O. cantabrigiensis* o de *O. streptacantha* y la polinización abierta. El número de flores y plantas utilizadas se describen en la Tabla 3.

Las flores se mantuvieron embolsadas y se revisaron mensualmente hasta la formación y maduración de frutos. Durante los experimentos, el estigma y las anteras (que en algunas ocasiones ya se encontraban dehiscentes) de la mayoría de las flores al abrir de forma natural, tuvieron algún contacto, por lo que cada tratamiento aplicado mostraba un grado de autopolinización.

Se registró la aborción o formación de frutos y de semillas formados de los tres tratamientos y el control (polinización abierta), además se contó el número de semillas por fruto. Los promedios de semillas por fruto en cada tratamiento se compararon mediante un modelo lineal generalizado (GLM) con función log y distribución del error Poisson (Crawley, 1993) con el programa JMP10.

Tabla 3. Descripción de tratamientos realizados en las secciones *Formación de frutos y semillas* y *Contaminación por manipulación*. Todos los tratamientos fueron aislados con bolsas de tul hasta la formación de frutos. Los experimentos fueron realizados en 2017 y 2018.

Tratamiento	Descripción	No. Flores (No. plantas)
Formación de frutos y semillas		
Polen <i>Opuntia cantabrigiensis</i>	Emasculación y polinización con polen de <i>O. cantabrigiensis</i>	44 flores (26)
Polen <i>Opuntia robusta</i>	Emasculación y polinización con polen de <i>O. robusta</i>	45 flores (28)
Polen <i>Opuntia streptacantha</i>	Emasculación y polinización con polen de <i>O. streptacantha</i>	42 flores (26)
Polinización abierta	Marcado de flores expuestas a polinizadores	38 flores (30)
Contaminación por manipulación		
Entrecruza	Emasculación y polinización de flores con una mezcla de polen de al menos tres plantas diferentes de <i>O. tomentosa</i>	11 flores (11)
Autocruza	Emasculación y polinización con el mismo polen de la flor	9 flores (9)
Emasculación	Sólo emasculación de las flores	10 flores (10)
Emasculación y corte	Emasculación de las flores y corte del estigma	11 flores (11)
Emasculación, corte y polinización	Emasculación de las flores, corte del estigma y posteriormente polinización del estilo con polen de entrecruza	12 flores (12)

Agamospermia

Se realizó este experimento para medir la posibilidad de que *O. tomentosa* forme semillas sin la necesidad de una fertilización. Para esto en flores aisladas con bolsas de tul inmediatamente después de su apertura se les retiraron las anteras y el estigma, para evitar la recepción de polen.

Contaminación por manipulación

Para cuantificar el efecto de la contaminación de los estigmas por autopolinización consecuencia de la manipulación en los experimentos de la sección *Formación de frutos y semillas* y en *Agamospermia*, se realizó un nuevo experimento en 2018 con los tratamientos que se enlistan y describen en la Tabla 3. Al igual que los experimentos de polinización manual, los promedios de semillas por fruto en cada tratamiento se compararon mediante un GLM con función log y distribución del error Poisson (Crawley, 1993) con el programa JMP10.

Germinación

En este trabajo no se realizó un análisis genético del origen de las semillas formadas en los experimentos de polinización; sin embargo, la autocompatibilidad de la especie (Galicia, 2013) y la falta de hercogamia (obs. pers.) sugieren que una proporción de las semillas formadas son producto de la autopolinización, así que se optó por hacer una prueba de germinación esperando ver si la presencia del polen de otras especies de *Opuntia* tiene un efecto sobre la viabilidad de las semillas de *O. tomentosa*. Las semillas de esta especie no germinan inmediatamente después de la colecta (Olvera-Carillo et al., 2003), por lo que se inició este experimento con semillas de 2017 de cinco meses de edad.

Las semillas fueron sembradas en cajas Petri con agar bacteriológico (BD Bioxon) al 1% en cámaras de incubación a temperatura 25 °C y fotoperiodo de 12 h (Rojas-Aréchiga et al., 2008). Antes de la siembra, las semillas se dejaron en remojo por 30 minutos y posteriormente en una solución al 5% de cloro comercial (hipoclorito de sodio 5.40%) por 10 minutos para evitar el crecimiento de hongos. Se colocaron 10 cajas con 10 semillas por tratamiento (excepto en el de agamospermia, en el que se pusieron 9 semillas por caja), con un total de cinco tratamientos: uno

con semillas producto de polinización abierta, tres de las polinizaciones con el polen de las especies de *Opuntia* (PHet), y uno con las semillas de agamospermia.

La germinación fue revisada cada tercer día, durante 107 días (Olvera-Carillo et al., 2003). Se consideró que una semilla germinó cuando emergió la radícula.

El análisis de germinación se realizó ajustado a un modelo de tipo “tiempo al evento”, como propone Ritz et al. (2013), donde considera d , que es la proporción máxima de semillas germinadas durante el experimento, t_{50} que es el lapso de tiempo necesario para que se alcance 50% de la germinación total y b que es la pendiente de la curva de germinación generada (Ritz et al., 2013). El modelo se ajustó como una función log-logística. Para el análisis se usó la paquetería drc (Ritz et al., 2015) en R project 3.5.1 (Core Team 2018), considerando a los cinco tratamientos como niveles, la variable predictora el intervalo de tiempo y la variable respuesta el conteo de semillas germinadas. Al encontrar diferencias entre los tratamientos, se comparó la proporción de semillas germinadas (parámetro d) y el tiempo t_{50} de los tratamientos con una prueba de t .

IV. Resultados

Sincronía en la floración.

En total se registraron 1363 flores en 2017 (938 en el primer vecindario y 425 para el segundo). En la Figura 7 se muestra el número de flores que abrieron junto a la temperatura (°C) y precipitación acumulada (mm) de los días medidos.

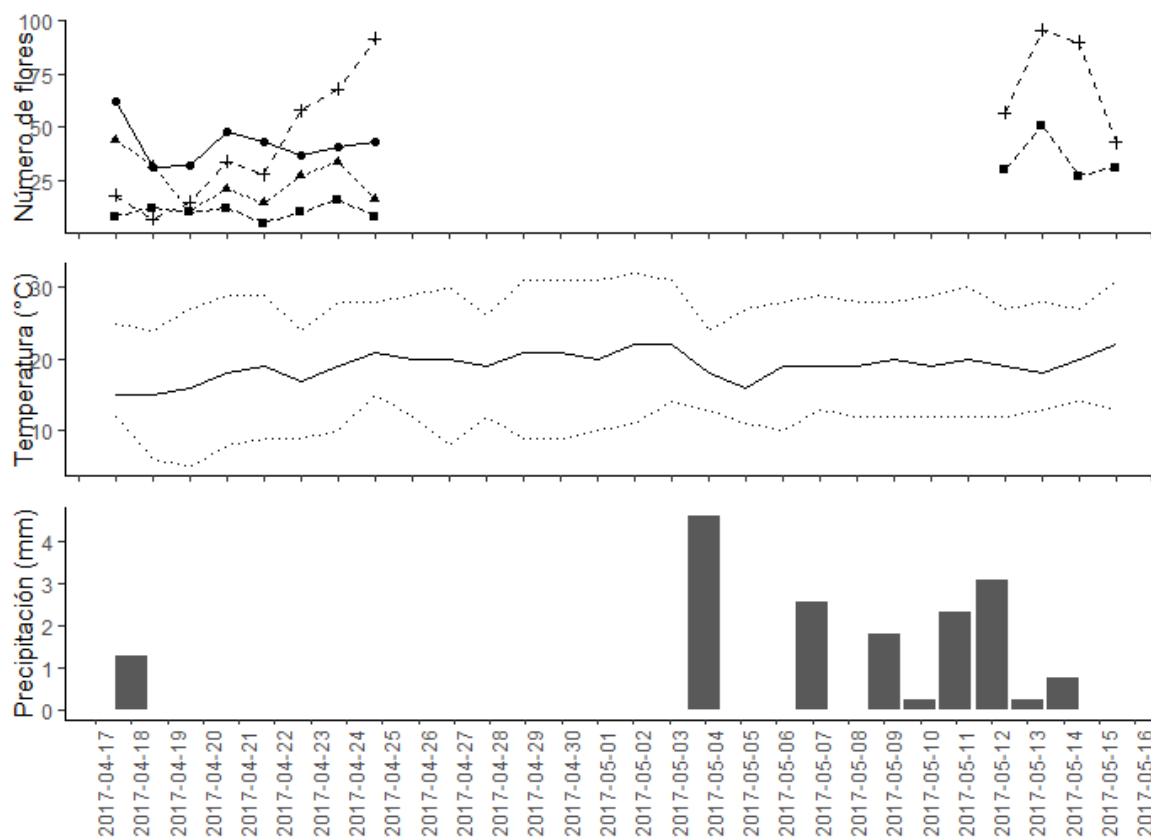


Figura 7. Número total de flores abiertas por especie en los doce días de registro. El primer vecindario se midió de 18 a 25 de abril y el segundo de 12 a 15 de mayo 2017. Simbología: + *Opuntia tomentosa*, ● *Opuntia cantabrigiensis*, ▲ *Opuntia robusta* y ■ *Opuntia streptacantha*. Floración abril y mayo 2017. Debajo se muestra la temperatura diaria promedio, mínima y máxima (líneas punteadas) y la precipitación acumulada diaria (mm), datos obtenidos de Weather Underground®(WU, 2019).

En 2018 los censos de floración en ambos vecindarios se hicieron en las mismas fechas. En total se observaron 1142 flores (Figura 8). En 2018 se observó que *O. robusta* fue la especie que floreció más temprano en el año, seguida *O. cantabrigiensis* y *O. streptacantha* y al último en la temporada fue *O. tomentosa*. Se reporta la temperatura (°C) y precipitación acumulada (mm) de 2018.

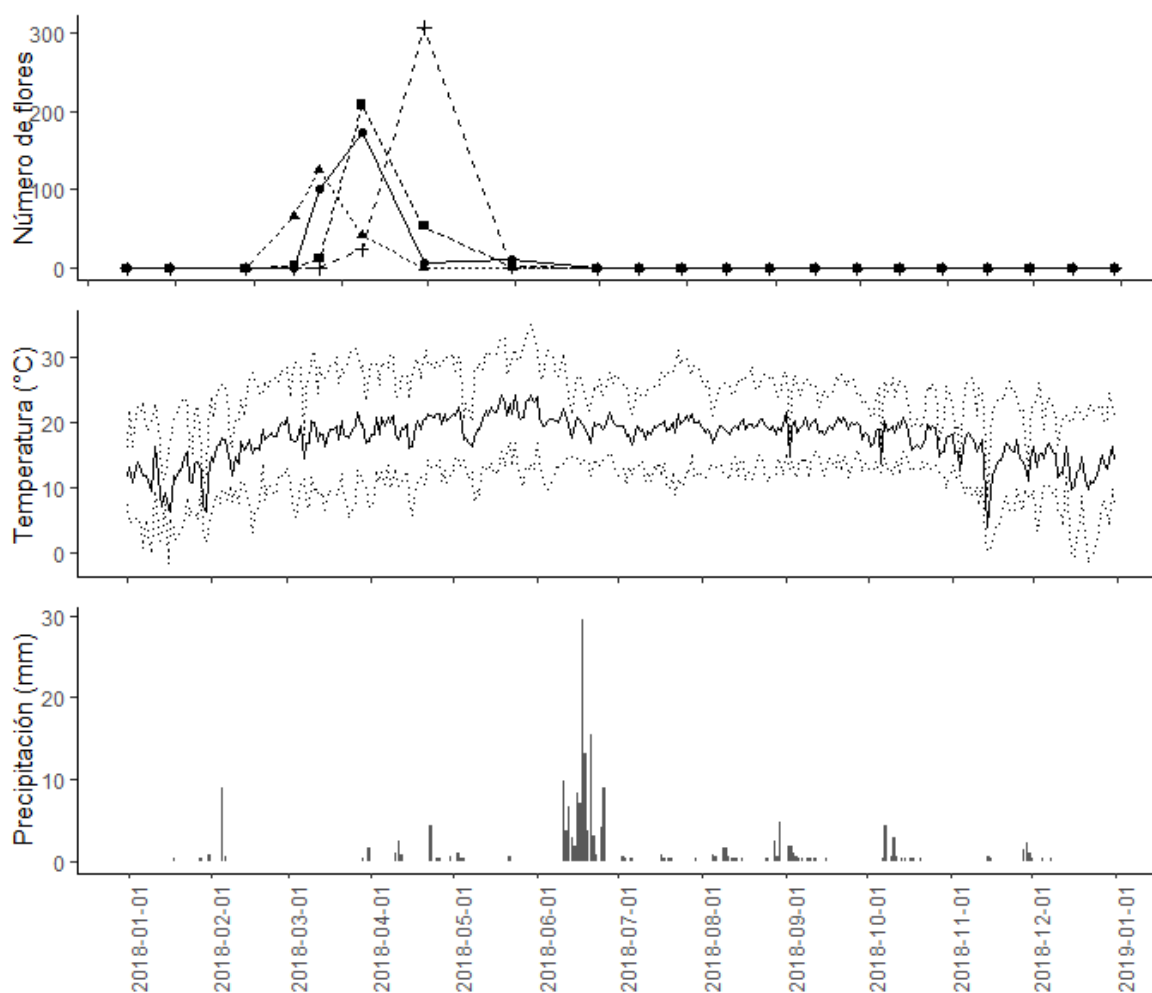


Figura 8. Número total de flores abiertas por especie de 26 de febrero a 31 de mayo 2018. Simbología: + *Opuntia tomentosa*, ● *Opuntia cantabrigiensis* ▲ *Opuntia robusta* y ■ *Opuntia streptacantha*. Debajo se muestra la temperatura diaria promedio, mínima y máxima (líneas punteadas) y la precipitación acumulada diaria (mm), datos obtenidos de Weather Underground®(WU, 2019).

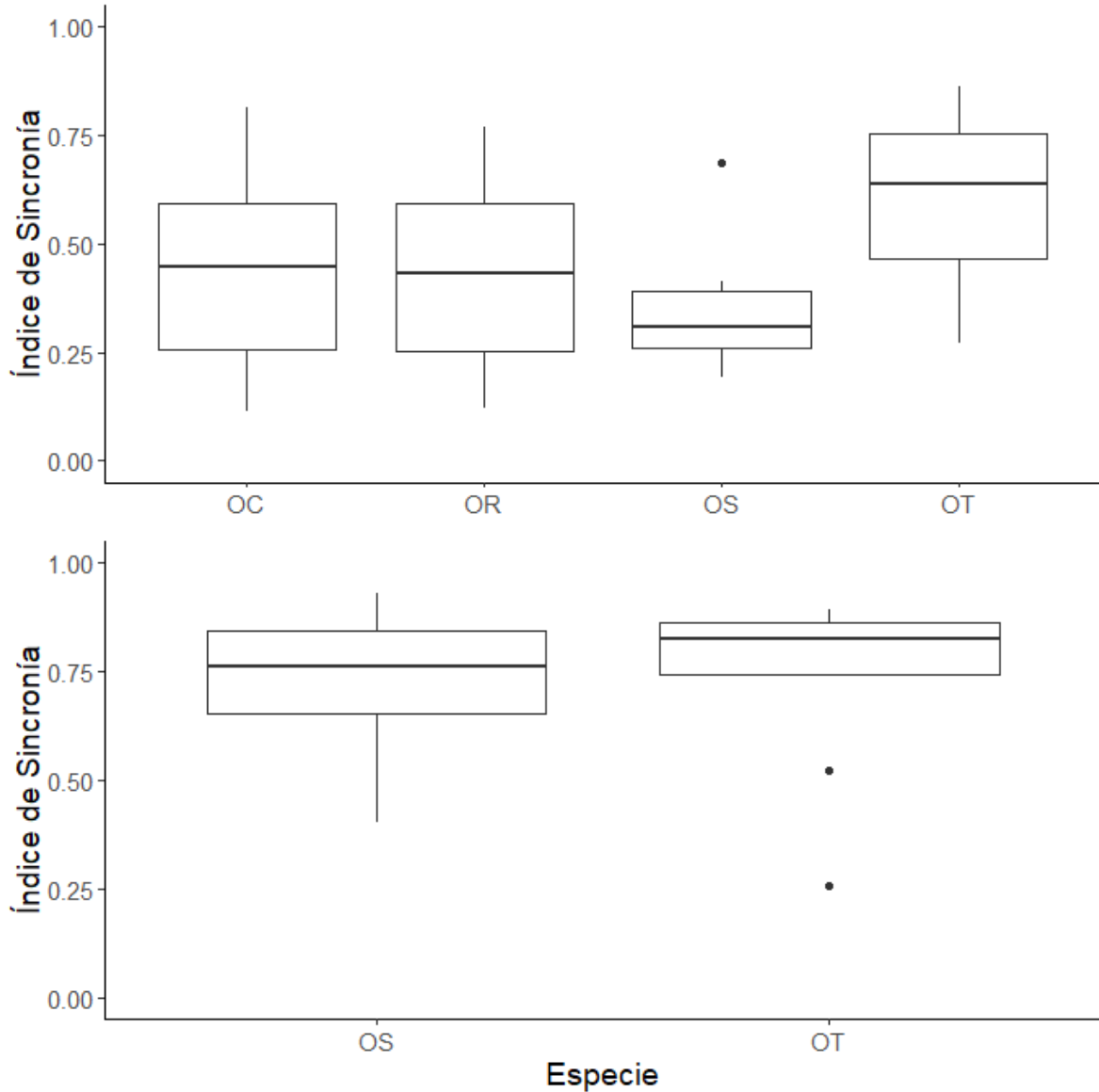


Figura 9. Valores obtenidos en el índice de sincronía intraespecífica de Mahoro (2002) para el primer “vecindario” (arriba) y para el segundo (abajo). Los registros se tomaron de 18 a 25 de abril y de 12 a 15 de mayo 2017. OT = *Opuntia tomentosa*, OC= *O. cantabrigiensis*, OR = *O. robusta*, OS = *O. streptacantha*. En el gráfico, las cajas representan el segundo y tercer cuartil y la línea horizontal dentro de la caja representa la mediana de los datos; las barras representan el primer y cuarto cuartil, junto los valores máximos y mínimos. Tamaño de muestra: 146 plantas en el primer vecindario (46 de *O. cantabrigiensis*, 47 de *O. robusta*, 18 de *O. streptacantha* y 35 de *O. tomentosa*) y 24 en el segundo (14 de *O. streptacantha* y 10 de *O. tomentosa*).

El índice de sincronía intraespecífico es en realidad un conjunto de valores, donde cada valor representa la sincronía floral de un individuo con el resto de la misma especie. Para el primer vecindario de 2017, la especie con mayor sincronía intraespecífica promedio \pm e.e. fue *O. tomentosa* (0.60 ± 0.038) y la menor fue *O. streptacantha* (0.37 ± 0.062), los individuos de *O. cantabrigiensis* y *O. robusta* tuvieron niveles de sincronía similares (0.42 ± 0.032 y 0.42 ± 0.037 , respectivamente); para el segundo vecindario, *O. tomentosa* y *O. streptacantha* tuvieron sincronías altas (0.73 ± 0.079 y 0.72 ± 0.042 , respectivamente; Figura 9).

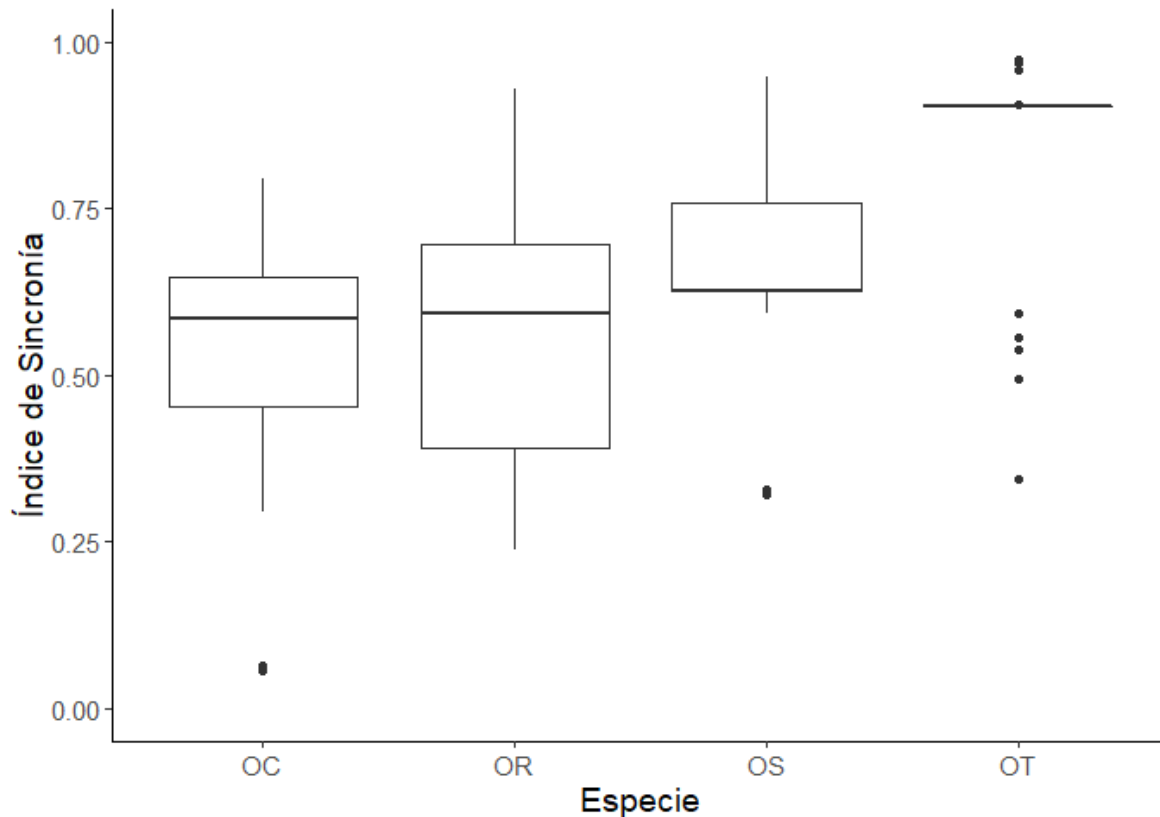


Figura 10. Valores obtenidos en el índice de sincronía intraespecífica de Mahoro (2002) para 2018. OT = *Opuntia tomentosa*, OC= *O. cantabrigiensis*, OR = *O. robusta*, OS = *O. streptacantha*. En el gráfico, las cajas representan el segundo y tercer cuartil y la línea horizontal dentro de la caja representa la mediana de los datos; las barras representan el primer y cuarto cuartil, junto los valores máximos y mínimos. Tamaño de muestra: 170 plantas (46 de *O. cantabrigiensis*, 47 de *O. robusta*, 32 de *O. streptacantha* y 45 de *O. tomentosa*).

En 2018, a diferencia de los registros de 2017, el índice de sincronía intraespecífica considera el inicio y final de las cuatro floraciones. Los promedios \pm e.e. de cada especie son, de mayor a menor: *O. tomentosa* con 0.85 ± 0.035 , *O. streptacantha* con 0.64 ± 0.056 , *O. robusta* con 0.55 ± 0.040 y *O. cantabrigiensis* con 0.53 ± 0.035 (Figura 10).

Se encontró que la sincronía interespecífica (de *O. tomentosa* respecto a las otras *Opuntia*) difiere entre años, en 2017 es más alta (>0.60) y en 2018 es baja con *O. cantabrigiensis* y *O. robusta*, pero intermedia con *O. streptacantha* (Figura 11). Esto es efecto de las temporadas de registro, en 2017 sólo fue un momento de la floración y en 2018 se contó desde inicio hasta el final de todas las floraciones.

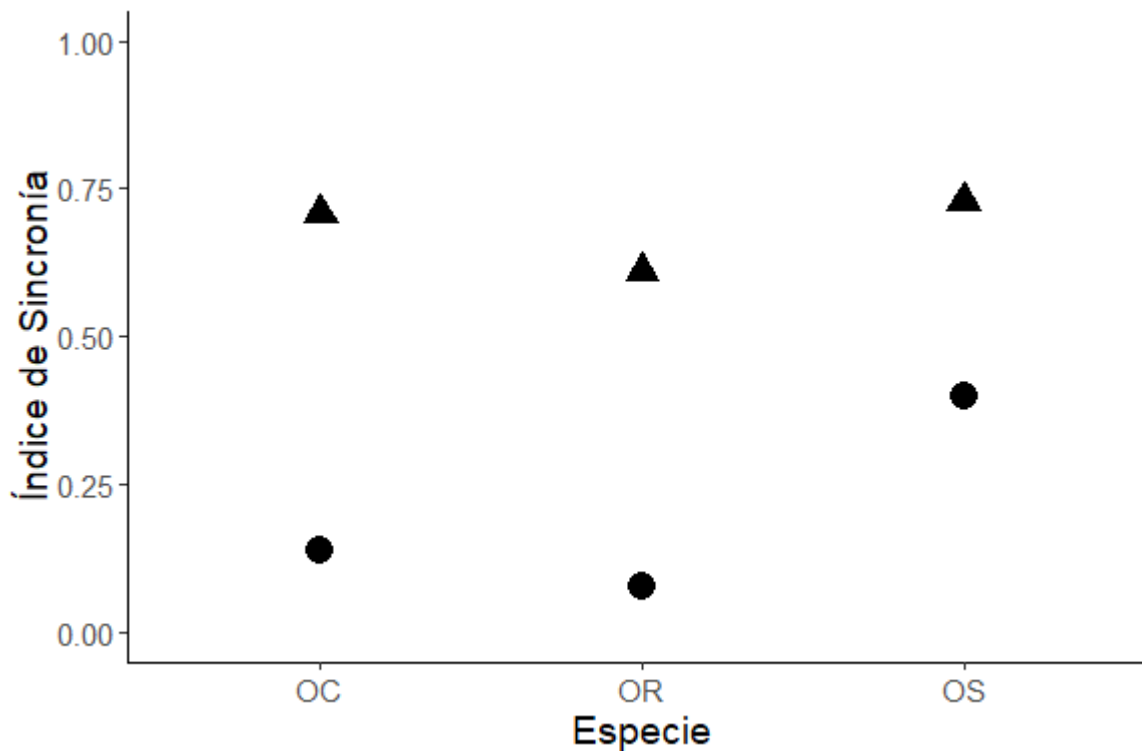


Figura 11. Valores obtenidos en el índice de sincronía interespecífica de Mahoro (2002) de *Opuntia tomentosa* con otras especies de *Opuntia* en 2017(▲) y 2018(●). OC= *O. cantabrigiensis*, OR = *O. robusta*, OS = *O. streptacantha*. Tamaño de muestra: 170 plantas (46 de *O. cantabrigiensis*, 47 de *O. robusta*, 32 de *O. streptacantha*, 45 de *O. tomentosa*).

Flujo de polen

Se colectaron en total 383 flores durante los 10 días (seis días para el primer vecindario y cuatro para el segundo, ambos en 2017). De estas flores, 207 fueron colectadas para medir las distancias alcanzadas por *O. tomentosa* como donadora de polen y 176 se colectaron para medir las distancias a las que recibe el polen. La frecuencia absoluta de las flores examinadas se reporta en la Tabla 4.

Tabla 4. Frecuencia absoluta de las flores colectadas en 2017. Se observaron 382 flores, 176 como receptora y 207 para función donadora.

Función <i>Opuntia tomentosa</i> especie de intercambio	Total	Categoría de polen			
		Sin polvo	Poco	Medio	Alto
Receptora					
<i>O. cantabrigiensis</i>	52	34	7	6	5
<i>O. robusta</i>	30	19	9	1	1
<i>O. streptacantha</i>	94	60	30	3	1
Donadora					
<i>O. cantabrigiensis</i>	87	35	42	7	3
<i>O. robusta</i>	61	36	14	6	5
<i>O. streptacantha</i>	59	42	16	0	1

El GLM reporta un efecto sobre la frecuencia de flores con polen marcado ($\chi^2 = 287.302$, g.l. = 7, $P < 0.001$), donde el primer factor (función donadora/receptora) no tiene efecto ($\chi^2 = 1.237$, g.l. = 1, $P = 0.266$) pero sí tienen efecto el segundo factor, categoría de polen ($\chi^2 = 278.144$, g.l. = 3, $P < 0.001$) y la interacción entre factores ($\chi^2 = 10.834$, g.l. = 3, $P = 0.0127$). Esto nos indica que *O. tomentosa* recibe y dona polen en la misma frecuencia, pero con un patrón particular en la

cantidad de polen: las flores en la categoría sin polvo fueron las más frecuentes, seguidas de las flores con poco polen y con menor frecuencia el grupo de las flores con polen en la categoría medio y alto (detalle en la Tabla 5). La interacción entre los factores indica que la tendencia de la categoría sin polvo cambia respecto a la función donadora/receptora.

Tabla 5. Frecuencia promedio del número de flores contadas según las categorías de polen y la función que desempeña *Opuntia tomentosa* en las 383 flores observadas. Entre paréntesis está el error estándar.

Categoría de polen	Función	Promedio-N flores	Contraste-Categoría de polen
Alto	Receptora	2.3 (1.33)	a
Alto	Donadora	3 (1.15)	a
Medio	Receptora	3.3 (1.45)	a
Medio	Donadora	4.7 (1.85)	a
Poco	Receptora	15.3 (7.35)	b
Poco	Donadora	24 (9.01)	b
Sin polvo	Receptora	37.7 (11.6)	c
Sin polvo	Donadora	28.8 (9.41)	c

El primer ANOVA revela que la distancia alcanzada no es efecto de la función receptora/donadora ($F = 0.567$, g.l. = 1, $P = 0.452$), pero sí de la especie con la que intercambia polen ($F = 26.18$, g.l.=2, $P < 0.001$) y la interacción entre las variables ($F = 7.513$, g.l. = 2, $P = 0.0008$). La distancia promedio que alcanza la función receptora (37.40 m) es similar a la alcanzada por la función donadora (28.36 m); *O. streptacantha* es la especie que alcanza una distancia mayor (44.60 m), a comparación de *O. robusta* (29.16 m) y *O. cantabrigiensis* (24.25 m). La interacción indica que el patrón de respuesta (distancia) se invierte en *O. robusta* según *O. tomentosa* sea donadora o receptora.

En el segundo ANOVA encontramos que tanto la especie con la que hay intercambio de polen ($F = 11.12$, g.l. = 2, $P < 0.001$), como la categoría de polen ($F = 4.56$, g.l. = 2, $P = 0.0119$) tienen efecto sobre las distancias alcanzadas. Al igual que el análisis anterior, el intercambio de

polen con *O. streptacantha* alcanzó mayor distancia que las otras dos especies. Respecto a la categoría de polen, alto alcanzó una distancia de 19.29 m, medio 28.34 m y poco 34.42 m. En las tres especies se observó la misma tendencia: mientras menor es la cantidad de polen (hasta la categoría sin polvo), mayor es la distancia. Detalles ver la Tabla 6.

Tabla 6. Distancia alcanzada por la categoría de polen y la especie de intercambio de polen.

Categoría de polen	Distancia (m)	Contraste-Categoría polen	Especie de intercambio	Distancia (m)	Contraste-especie de intercambio
Alto	19.29 (4.26)	a	OC	24.25 (2.07)	a
Medio	28.34 (3.55)	ab	OR	29.16 (2.61)	a
Poco	34.42 (1.57)	b	OS	44.60 (4.06)	b
Sin polvo	42.98 (1.13)	c			

OC *Opuntia cantabrigiensis*, OR *Opuntia robusta* y OS *Opuntia streptacantha*. Entre paréntesis está el error estándar. Letras compartidas indican que no hay diferencias entre niveles de los tratamientos.

Formación de frutos y semillas

Todas las polinizaciones manuales formaron fruto (Tabla 7) y no se encontraron diferencias significativas entre los años, por lo que hizo un solo análisis.

Tabla 7. Frutos y promedio de semillas en los distintos tratamientos en *O. tomentosa* (entre paréntesis el error estándar). Según los contrastes, se forman 2 grupos (letras compartidas) con diferencias significativas ($P < 0.05$).

Tratamiento	Flores/Frutos formados (2017+2018)	Promedio de semillas por fruto	Contraste
Polen de <i>Opuntia cantabrigiensis</i>	32+12/32+12	53.61 (2.97)	b
Polen de <i>Opuntia robusta</i>	33+12/33+12	52.63 (3.14)	b
Polen de <i>Opuntia streptacantha</i>	32+10/32+10	53.95 (2.33)	b
Polinización abierta	24+14/24+14	62.52 (1.69)	a

Opuntia tomentosa formó en promedio 62.52 semillas por fruto en la polinización abierta, con un máximo 85 y un mínimo de 40 semillas. El GLM indica diferencias significativas de la producción de semillas entre los tratamientos ($\chi^2 = 81.73$, $P < 0.001$). La prueba de contrastes dice

que la polinización abierta formó un mayor número de semillas, seguido de las demás especies, las cuales no difieren entre sí (Tabla 7). Los resultados muestran que la presencia de PHet en las polinizaciones reduce de 13 a 15% la formación de semillas si las comparamos con los resultados de la polinización abierta (control).

Agamospermia

En total se emascularon 30 flores, de la cuales 28 abortaron al mes de realización y sólo dos formaron fruto (con 74 y 16 semillas). Todas las semillas se sometieron al experimento de *Germinación*.

Contaminación por manipulación

En total se hicieron 11 polinizaciones para entrecruza, 10 para autocruza, 11 para emasculación, y 12 polinizaciones tanto para el tratamiento de emasculación y corte como para el de emasculación, corte y polinización. En este análisis también se agregó el tratamiento de polinización abierta pero sólo las polinizaciones de 2018 (14 polinizaciones).

Tabla 8. Frutos y promedio de semillas en los distintos tratamientos en *Opuntia tomentosa* (entre paréntesis el error estándar). Según los contrastes, se forman 2 grupos (letras compartidas) con diferencias significativas ($P < 0.05$).

Tratamiento	Flores/Frutos formados (2018)	Promedio de semillas por fruto	Contraste
Entrecruza	11/11	55.63 (6.52)	a
Autocruza	9/9	65.80 (8.81)	a
Emasculación	10/10	59.27 (7.47)	a
Emasculación y corte	11/1	4.5 (4.5)	b
Emasculación, corte y polinización	12/2	8.25 (5.92)	b
Polinización abierta	14/14	63.64 (1.79)	a

En el experimento de emasculación y corte se formó un fruto (con 54 semillas) y en el de emasculación, corte y polinización se formaron dos frutos (con 33 y 66 semillas). Estos dos tratamientos fueron los únicos que presentaron diferencias significativas respecto a los demás ($\chi^2 = 21.83, P < 0.001$). Los detalles de los promedios se encuentran en la Tabla 8.

Germinación

En total se hicieron 38 observaciones durante 107 días de experimento. La proporción de semillas germinadas en el grupo de polinización abierta fue estadísticamente diferente a los demás tratamientos; no hubo diferencia entre los grupos de polinización abierta y agamospermia. El tratamiento con polen de *O. streptacantha* tuvo mayor porcentaje de germinación y los de menor porcentaje fueron el de polinización abierta y de agamospermia.

Tabla 9. Parámetros estimados (error estándar entre paréntesis) a partir del modelo log-logístico de Ritz (2013). El parámetro *d* denota la proporción de semillas germinadas durante el experimento (a partir del total presente al inicio del experimento). El parámetro *b* es proporcional (sin signo) a la pendiente de la curva de germinación en el tiempo *t*₅₀ (días) que es el número de días en que el 50% de las semillas habían germinado. Contraste1 describe los grupos formados comparando los valores del parámetro *d* y Contraste2 comparando los valores de *t*₅₀. Las letras compartidas entre tratamientos indican que no hay diferencias entre dichos tratamientos.

Tratamiento	<i>b</i>	<i>d</i>	<i>t</i> ₅₀ (días)	Contraste1	Contraste2
Polen de <i>Opuntia cantabrigiensis</i>	-3.56 (1.33)	0.70 (0.15)	29.67 (7.39)	b	a
Polen de <i>Opuntia robusta</i>	-3.46 (2.55)	0.64 (0.25)	36.24 (14.08)	b	b
Polen de <i>Opuntia streptacantha</i>	-3.53 (2.31)	0.76 (0.20)	36.70 (15.14)	b	b
Polinización abierta	-3.58 (0.66)	0.45 (0.25)	24.69 (3.52)	a	a
Agamospermia	-2.18 (6.58)	0.47 (1.83)	48.50 (208.48)	a	b

Respecto al t_{50} , el grupo de polinización abierta y *O. cantabrigiensis* fueron significativamente diferentes a los demás tratamientos, pues los dos alcanzaron 50% de semillas germinadas (del total que germinaron) en menor tiempo (entre 25 y 29 días). Los parámetros estimados para cada tratamiento se presentan en la Tabla 9. Las curvas de germinación se muestran en la Figura 12.

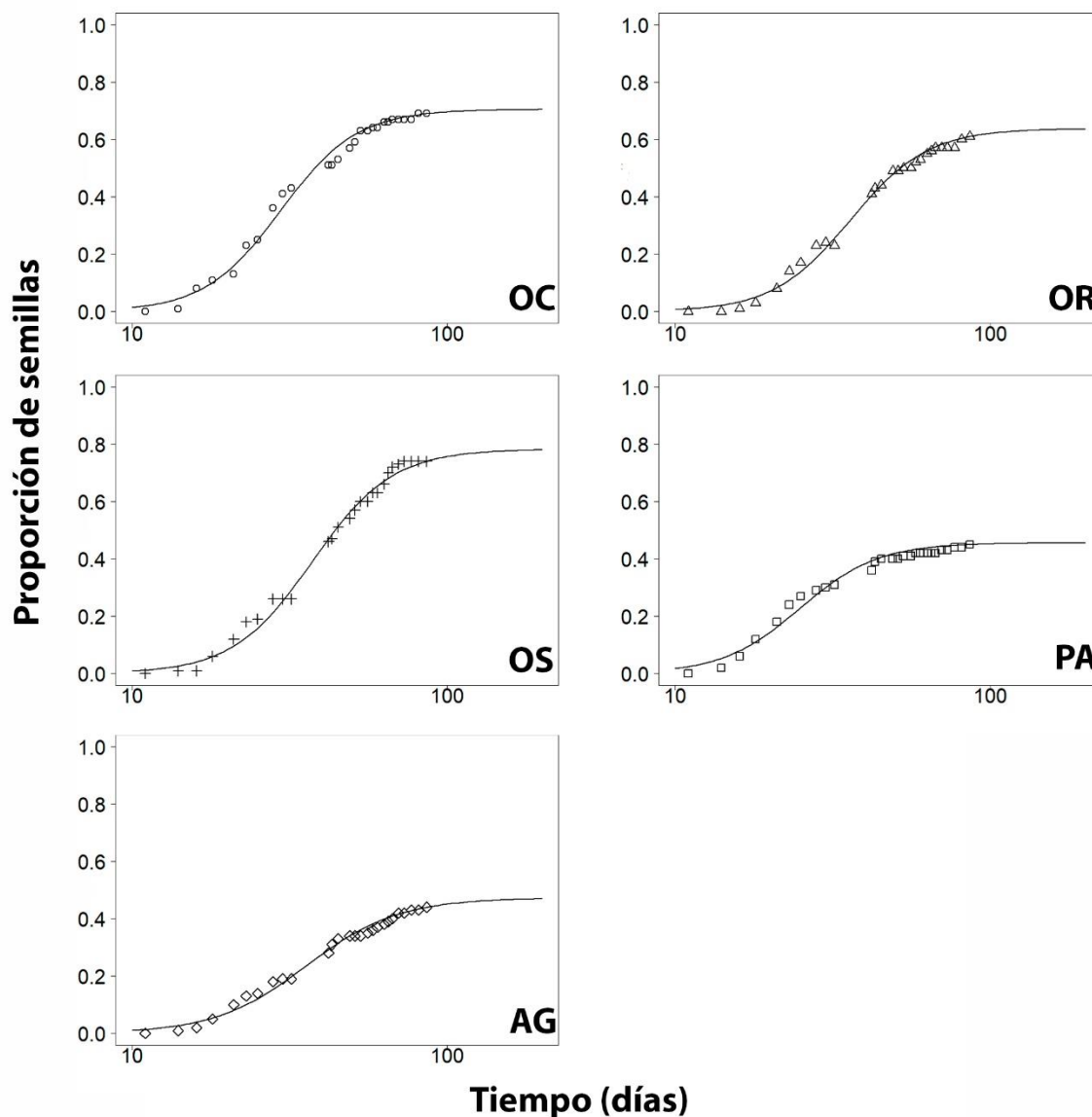


Figura 12. Proporción de semillas germinadas respecto al tiempo de siembra, de *Opuntia tomentosa* bajo cinco tratamientos de origen de polen: OC-con polen de *Opuntia cantabrigiensis*, OR-con polen de *Opuntia robusta*, OS-con polen de *Opuntia streptacantha*, PA-polinización abierta, AG-agamospermia. Se muestra la curva de germinación ajustada con el modelo log-logístico

V. Discusión

La floración simultánea puede tener consecuencias importantes sobre la reproducción de las especies que interactúan y llevar a un proceso de diferenciación en la reproducción temporal, espacial o en casos más extremos, de extinción de una de las poblaciones. En este estudio se evaluaron los efectos de florecer simultáneamente en la reproducción de *O. tomentosa*, planta que comparte espacio con tres especies más: *O. cantabrigiensis*, *O. robusta* y *O. streptacantha*.

Sincronía en la floración

Las floraciones de las especies de estudio siguen este orden: *O. robusta* (febrero-mayo), *O. cantabrigiensis* y *O. streptacantha* (marzo-mayo) y al final *O. tomentosa* (abril-mayo). Esto es similar a otras especies del género, cuya floración puede durar un solo mes como *O. microdasys* (abril; Piña et al., 2007) o más de dos meses como sucede en *O. rastrera* (marzo a junio; Mandujano et al., 1996), *O. macrocentra* y *O. huajuapensis* (ambas de mayo a junio; Mandujano et al., 2013; Anna-Aguayo et al., 2017).

En ambientes como los desiertos y semidesiertos, eventos reproductivos como la floración y fructificación suelen ser limitados por la disponibilidad de agua. Las cuatro especies estudiadas florecen durante la temporada seca, como sucede en algunas especies de zonas áridas y semiáridas de México, cactáceas como *Stenocereus thurberi* (Bustamante y Búrquez, 2008), *Isolatocereus dumortieri* (Cruz y Pavón, 2013), *Neobuxbaumia tetetzo*, *Cephalocereus columna-trajani* o la leguminosa *Prosopis laevigata*, (Pavón y Briones, 2001). Este patrón permite que la dispersión de semillas y el reclutamiento de plántulas ocurran durante la temporada de lluvias (Pavón y Briones, 2001).

La cactáceas suelen tener un solo pico de floración (unimodal; Bustamante y Búrquez, 2008; Lenzi y Orth, 2012; Salomón-Montijo et al., 2016; Anna-Aguayo et al., 2017), sin embargo, se han reportado patrones bimodales o con dos picos (Ruiz et al., 2000; McIntosh, 2002; Salomón-

Montijo et al., 2016) o multimodales (Ruiz et al., 2000; Petit, 2001; Fonseca et al., 2008). En especies con un solo pico de floración se espera baja sincronía intraespecífica al inicio y final de la floración y una alta sincronía durante el pico. Sin embargo, los valores de sincronía pueden variar según la especie, por ejemplo: los miembros de género *Ariocarpus* suelen tener una alta sincronía toda su floración y durar hasta ocho días (Martínez-Peralta y Mandujano, 2012). En contraste, *Opuntia monacantha* florece durante 100 días y sólo presenta una alta sincronía en el pico de floración (Lenzi y Orth, 2012) y *Pilosocereus leucocephalus* una baja sincronía en toda su floración que se extiende hasta 150 días (Munguía-Rosas y Sosa, 2010).

Comparando entre las especies de estudio, *O. robusta* tuvo la floración más larga (95 días) y una sincronía intraespecífica intermedia, *O. cantabrigiensis* tuvo valores intermedios tanto en duración (78 días) como en sincronía, *O. streptacantha* una floración intermedia (78 días) pero alta sincronía y *O. tomentosa* tuvo la menor duración de floración (54 días) pero la mayor sincronía intraespecífica. La floración larga de *O. robusta* podría ser una estrategia para repartir el riesgo de fracaso reproductivo en el tiempo (Michalski y Durka, 2007) y la sincronía intermedia de *O. robusta* y *O. cantabrigiensis* podría favorecer la frecuencia de polinizaciones cruzadas entre individuos lejanos (Lenzi y Orth, 2012; Salomón-Montijo et al., 2016). La floración corta y sincrónica de *O. tomentosa* asegura altas tasas de visita de polinizadores y podría amortiguar los efectos de los depredadores (Janzen, 1976; Martínez-Peralta y Mandujano, 2012; Matias-Palafox et al., 2017).

En nuestros resultados, la sincronía interespecífica varía entre 2017 y 2018. En 2017 hubo una sincronía interespecífica alta ($S_i > 0.60$) y en 2018 una sincronía baja ($S_i < 0.40$). Esta variación es principalmente efecto de las fechas en las que se hicieron los censos florales. La intención del trabajo de campo del primer año fue evaluar el tiempo en el que las cuatro especies de *Opuntia* coincidieran y sólo se hicieron censos florales al comienzo del pico de floración de *O. tomentosa*

y al final de las demás floraciones, por lo que el índice de sincronía consideró que en todos los censos hubo flores de las cuatro especies y, por tanto, alta sincronía. En cambio, en 2018 se contaron flores cada 15-20 días de febrero a julio, así, se agregaron censos en los que una o varias especies del género no tuvieron flores, lo que en el índice interpreta como una baja sincronía. En 2018, *O. tomentosa* tuvo la mayor sincronía interespecífica con *O. streptacantha* ($S_i = 40$) y la menor fue con *O. robusta* ($S_i = 0.08$). Esta sincronía puede favorecer el flujo de polen entre *O. tomentosa* y *O. streptacantha*.

La temporada de floración también es acotada por las interacciones con otras especies vegetales, principalmente las mediadas por polinizadores (Rathcke, 1988; Kuno, 1992; Elzinga et al., 2007; Devaux y Lande, 2009; Mesgaran et al., 2017). Así, estas interacciones podrían moldear la secuencia y duración de los despliegues florales, donde las especies florecen simultáneamente (con un nivel alto de sincronía) o tienen un desfase temporal entre ellas.

La floración simultánea podría ser ventajosa cuando las densidades poblacionales son muy bajas (Moeller, 2004; Kobayashi-Kidokoro y Higashi, 2010; Mesgaran et al., 2017), las especies que florecen tienen una alta diversidad morfológica (Ghazoul, 2006) o cuando tienen poca o ninguna recompensa (Laverly, 1992; Internicola et al., 2006). Por otra parte, varios autores proponen que florecer simultáneamente podría perjudicar el éxito reproductivo de alguna de las especies, principalmente por una competencia por polinizadores (Campbell, 1985; Rathcke, 1988; Muchhala y Thomson, 2012; Ashman y Arceo-Gómez, 2013; Temeles et al., 2016).

Opuntia tomentosa alcanza su pico de floración la última semana de abril (2018), teniendo un desfase temporal de al menos 15 días con el pico de floración de las demás especies. La diferenciación temporal en la floración de *O. tomentosa* podría ser reflejo de una competencia por polinizadores con las demás especies del género, ya que ninguna de las abejas que la visita (por ejemplo, *Macrotera* sp., *Apis mellifera*, *Bombus pensylvanicus*, *Diadasia rinconis* y *Lasioglossum*

(*Dialictus*) sp.; Tabla1) es su polinizador exclusivo. Desde esta perspectiva, se ha propuesto que el desplazamiento fenológico es causado principalmente por una fuerte limitación por polen (Ribeiro y Spielman, 1986; Kuno, 1992; Devaux y Lande, 2009), y una alta producción de semillas inviables consecuencia de hibridación (Fonseca et al., 2008; Devaux y Lande, 2009). La competencia por polinizadores no podría separar las temporadas de floración más allá de los límites impuestos por las restricciones filogenéticas de las especies vegetales (Kochmer y Handel, 1986; Carvalheiro et al., 2014), por lo que *O. tomentosa* siempre coincidiría parcialmente con las demás especies y esto representa una oportunidad para que ocurra flujo de PHet.

Flujo de polen

Cuando se evalúa el flujo polínico interespecífico, se suele hacer énfasis en su efecto sobre la parte femenina, es decir, en las implicaciones de la recepción de PHet en la formación de frutos y semillas (Barrett, 2002; Ashman y Arceo-Gómez, 2013; Luca et al., 2015) y se ha prestado menor atención en la parte masculina y a la pérdida de polen por este mecanismo, que podría imponer fuertes presiones de selección en las especies competidoras (Muchhala y Thomson, 2012) o podría no tener algún efecto (Mesquita-Neto et al., 2018).

En el mismo sitio de estudio, se encontró que el flujo de polen intraespecífico de *O. tomentosa* alcanza 22.44 m en promedio, con un máximo de 30 m y la mayor frecuencia de polen marcado fue a distancias cortas (Martínez-Ramos, 2016). Cuando *O. tomentosa* coincide con las demás especies (18 a 24 de abril y 13 a 15 de mayo, 2017) encontramos que sí dona polen a las otras *Opuntia* y también recibe PHet. Ambos viajes de polen suceden en la misma proporción. De las categorías de frecuencia de análogos de polen, la que se encontró en mayor frecuencia y que alcanzó una mayor distancia promedio fue “poco”, seguida de la categoría “medio” y al último “alto”. La deposición de polen sustancial a distancias cortas y ocasional a distancias largas es

común en especies polinizadas por animales (Olesen y Warncke, 1989; Richards, 1997; Holmquist et al., 2012; Zhang y Lou, 2018).

Los visitantes más frecuentes de las cuatro especies de *Opuntia* son abejas solitarias (Tabla 1); estos himenópteros hacen visitas subsecuentes a flores cercanas, sean o no de la misma planta (Schmid-hempel, 1985; Kobayashi-Kidokoro y Higashi, 2010; Brunet et al., 2019) y este patrón que se relaciona con la eficiencia de forrajeo.

Se ha reportado que las abejas visitan de manera constante a un tipo de flor (Wilson y Stine, 1996; Kobayashi-Kidokoro y Higashi, 2010; Song y Feldman, 2014), lo que promueve el flujo de polen intraespecífico; sin embargo esta “fidelidad” no es uniforme en el tiempo y se vuelve difusa cuando las especies floreciendo tienen morfologías similares, cuyas recompensas podrían complementar las necesidades de sus visitantes (García-Sánchez, 1984; Gross, 1992).

Las cuatro especies de *Opuntia* tienen flores actinomorfas, en forma de copa y tienen recompensas similares, esto podría promover la visita simultánea de las abejas y por tanto aumentar el flujo de polen interespecífico a distancias cortas en las fechas de coincidencia. Sólo el flujo de polen con *O. streptacantha* alcanzó mayores distancias que el flujo con *O. cantabrigiensis* y *O. robusta*. Este resultado podría estar relacionado con la alta sincronía interespecífica que tienen *O. tomentosa* y *O. streptacantha*, como ambas especies se encuentran disponibles para los polinizadores, sus patrones de forrajeo podrían estar mayormente influidos por la frecuencia y distancia de las flores (Grindeland et al., 2005; Nattero et al., 2011; Essenberg, 2012) y no de la especie que está particularmente floreciendo.

Formación de frutos y semillas

Todos los tratamientos de polinización formaron frutos. Sin embargo, los frutos producto de polinización abierta produjeron un mayor número de semillas en comparación de los tratamientos con PHet. Debido a la poca separación entre el estigma y a las anteras, así como su maduración simultánea (dehiscencia de las anteras y receptividad de los estigmas, ob. pers.), no se descartó la posibilidad de que las semillas se formaran de autopolinización (ver sección *Contaminación por autopolinización*).

Las plantas con flores tienen varios mecanismos para prevenir la hibridación entre las especies (Rieseberg y Willis, 2007; Widmer et al., 2009; Matallana et al., 2016), los cuales suelen estar separados en antes y después de la polinización. Antes de que ocurra la polinización, se encuentran las barreras temporales como asincronía en la temporada de floración (Petit, 2001; McIntosh, 2002) y la diferenciación en el momento de maduración de las estructuras reproductivas (dehiscencia de anteras y receptividad de estigmas; Stone et al., 1998; Queiroz et al., 2015; Mesquita-Neto et al., 2018); barreras espaciales como la separación geográfica (Levin y Anderson, 1970; Husband y Sabara, 2004; Rocha et al., 2005; Christie y Strauss, 2019); o una diferenciación en los grupos polinizadores (Carrió y Güemes, 2014; Queiroz et al., 2015).

Después de la polinización, un mecanismo que disminuye la interferencia sexual es la inhibición de la germinación o crecimiento del tubo polínico heteroespecífico (Waser, 1978; Ashman y Arceo-Gómez, 2013; Luca et al., 2015) y la priorización del crecimiento de tubos polínicos homoespecíficos. Cuando se hicieron las polinizaciones manuales con PHet, la mayoría de las flores tratadas abrieron un segundo día (ob. pers.), posiblemente estas flores se mantuvieron abiertas para aumentar la probabilidad de recepción de PHom de otras plantas. Este comportamiento floral se ha reportado para otras especies polinizadas con PHet de especies del

mismo género (Luca et al., 2015; Matallana et al., 2016) y posteriormente la germinación del polen de las mismas flores se pudo favorecer (autofertilización; Eckert, 2000). A pesar de que no se observó el crecimiento de tubos polínicos de PHet como en otros estudios (Boyle y Stimart, 1986; Nishida et al., 2014; Huang et al., 2015; Matallana et al., 2016), el experimento de *Contaminación por polinización* nos hace sospechar que la autopolinización fue el tipo polinización dominante en la formación de semillas.

Los tratamientos con PHet formaron 13-15% menos semillas que los frutos de polinización abierta. La presencia de PHet pudo tener un efecto inhibitorio en el crecimiento de tubos polínicos conoespecíficos (Sukhada y Sukhada, 1980; Brown y Mitchell, 2001) y tuvo consecuencias en el número de semillas formadas.

Agamospermia

La apomixis es la reproducción asexual de las plantas con flores. Este tipo de reproducción puede ser a través de estructuras vegetativas como estolones o tallos, o por semillas sin fertilización, proceso llamado agamospermia (McCauley, 2013). La agamospermia se ha relacionado con la ploidía de las especies, siendo las poliploides las especies con mayor número de casos de apomixis (Stebbins, 1979). Se ha reportado que en el género *Opuntia* es común la generación de semillas asexuales (Trujillo y González, 1991; García y Pimienta-Barrios, 1996; Reyes-Agüero et al., 2006), sobre todo en especies cultivadas y con importancia económica. Sin embargo, tres especies silvestres, *O. rastrera*, *O. microdasys* y *O. monacantaha*, no forman semillas por agamospermia (Mandujano et al., 1996; Piña et al., 2007; Lenzi y Orth, 2012, respectivamente) y en *O. spinosissima* se requiere de un estímulo como la recepción de polen para producir este tipo de semillas (Negrón-Ortiz, 1998). El 7% de las flores sometidas al experimento de agamospermia formaron fruto, lo que quiere decir que *O. tomentosa* no suele formar semillas por la vía asexual y

cabe la posibilidad que necesite un estímulo como recepción de polen para formar semillas apomíticas. Es necesarios un análisis genético (como: Mondragon, 2001) para dilucidar el origen de las semillas que se formaron.

Contaminación por manipulación

Como se mencionó en la sección *Formación de frutos y semillas*, los frutos y semillas que se formaron pudieron ser producto de la contaminación de los estigmas durante la emasculación de las flores utilizadas. Según los resultados de esta sección, *O. tomentosa* es capaz de formar semillas por autocruza, y entrecruza, sin encontrar diferencias con los frutos formados en las polinizaciones abiertas; lo que refuerzan lo reportado por Galicia (2013), que menciona que la especie presenta un sistema de cruce mixto. Los resultados también nos indican que la autopolinización durante la emasculación de flores es suficiente para que *O. tomentosa* forme el mismo número de semillas que la autocruza manual, la entrecruza y la polinización abierta. En esta sección, 12.5% de los experimentos de corte de estigma formaron frutos con semillas probablemente apomíticas y la polinización de los estilos pudo ser el estímulo que disparó la formación de dichas semillas, originadas de tejidos somáticos como el tejido nucelar (García y Pimienta-Barrios, 1996; Mondragon, 2001; Reyes-Agüero et al., 2006).

Se ha mencionado que las plantas con flores han desarrollado mecanismos que favorecen la entrecruza y disminuyen la autocruza (Barrett, 2003); sin embargo, en una revisión con 857 especies de angiospermas se observó que los sistemas de autocompatibilidad han prevalecido en 5.02% de las especies y 50.66% posee un sistema de autoincompatibilidad parcial, que permite la autopolinización en ausencia de polinización cruzada (Ramírez y Nassar, 2017), así, en condiciones de bajas densidades y limitación de polinizadores, la autopolinización y la autogamia pueden ser favorecidas. La ocurrencia de la autocompatibilidad en *O. tomentosa* puede ser una

herramienta para garantizar la formación de frutos y semillas en presencia de competidores o de pocos polinizadores. Además, por la poliploidía de *O. tomentosa*, *O. robusta* (ambas tetraploides; Muñoz-Urias et al., 2008; Baker et al., 2009) y *O. streptacantha* (tetraploide, octaploide; Palomino y Heras, 2001; Muñoz-Urias et al., 2008), el riesgo de depresión por endogamia es menor, ya que la poliplodia puede enmascarar la expresión de mutaciones deletéreas recesivas, logrando que las especies poliploides toleren mayores tasas de autocruza (Soltis y Soltis, 2000).

Germinación

Las semillas de polinización abierta tuvieron una germinación de 45%, similar a lo germinado en el experimento de agamosperma (47%). La facultad de producir progenie por apomixis y por reproducción sexual podría ser ventajosa en condiciones adversas y para mantener genotipos por generaciones (Richards, 2003; Hojsgaard y Hörandl, 2019).

A partir de los resultados de tasa de germinación, pareciera que las semillas de origen asexual y las semillas originadas de polinización abierta tienen una contribución de plántulas similar, sin embargo, sólo 7% de las flores sometidas al experimento de agamosperma formaron frutos y semillas, por lo que en realidad estas semillas tienen una contribución muy pequeña en la reproducción de esta población de *Opuntia tomentosa*.

La germinación de las semillas de los tres tratamientos con PHet fue mayor (> 60%) que la germinación de las semillas de polinización abierta. En poblaciones silvestres y en cultivos se ha reportado que existe una relación positiva entre el tamaño de las semillas y la probabilidad de germinación (Charlesworth, 1988; Mohan Mandal et al., 2008). Las semillas con PHet fueron más grandes que las semillas de la polinización abierta (Martínez-Ramos, datos no publicados), este aumento de tamaño pudo ser efecto de la disminución de 13-15% de producción de semillas en la

sección *Formación de frutos y semillas*, así las que sí se establecieron tuvieron una mayor cantidad de recursos disponibles y probablemente esto aumentó su vigor, reflejado en la tasa de germinación (Aker, 1982).

En este trabajo utilizamos el tiempo de floración y experimentos de polinización manual sobre *O. tomentosa* para ver si esta especie es perjudicada por la presencia de flores de otras tres especies del género. Aquí sólo se incluyó el efecto unilateral de PHet sobre la producción de frutos, semillas y germinación en *O. tomentosa*, pero aún falta cuantificar el aislamiento reproductivo entre las cuatro especies, usando también como receptoras a *O. cantabrigiensis*, *O. robusta* y *O. streptacantha*, especies que reportan sistemas de apareamiento diferentes (Alfaro, 2007; Hernández, 2008, 2016; Galicia, 2013) a *O. tomentosa* y posiblemente tengan estrategias distintas para favorecer sus adecuaciones.

Un acercamiento más preciso de la contribución de las barreras reproductivas particulares de estas cuatro especies sería a través métodos de cuantificación de aislamiento reproductivo (como: Carrió y Güemes, 2014; Sobel y Chen, 2014; Díaz-Infante et al., 2016; Matallana et al., 2016). La medición de estos aspectos permitiría responder qué factores permiten que estas cuatro especies sigan compartiendo hábitat, polinizadores y temporadas reproductivas.

VI. Conclusiones

En este estudio encontramos que *O. tomentosa* es una especie sincrónica cuya floración dura 54 días (2018). Esta especie tiene una sincronía interespecífica intermedia con *O. streptacantha* y una baja con *O. cantabrigiensis* y *O. robusta*. Por esta sincronía interespecífica, hay una mayor probabilidad de recibir PHet de *O. streptacantha* que de las demás especies.

Cuando las cuatro especies estuvieron en floración, *O. tomentosa* donó polen y recibió polen de las demás especies. La cantidad de PHet más frecuente fue poco y no dependió de la especie en floración sino de sus distancias. *O. tomentosa* comparte localmente todos sus polinizadores con las tres especies, principalmente *Macrotera* sp., *Apis mellifera*, *Bombus pensylvanicus*, *Diadasia rinconis*, *Augochlora* sp., *Lasioglossum* sp. y *Lasioglossum* (*Dialictus*)., pero aún el flujo de polen está principalmente en la categoría poco.

Aunque *O. tomentosa* es capaz de formar semillas en presencia de PHet, estas semillas parecen ser producto de autofertilización, pues aparentemente basta con un tratamiento de emasculación de las flores para que estas se contaminen con su propio polen y formen el mismo número de semillas que una polinización abierta. La presencia de PHet redujo la formación de semillas por fruto de 13 a 15% comparando con las semillas de polinización abierta. Parece que la producción de semillas por agamosperma no tiene una contribución importante en *O. tomentosa*.

La tasa de germinación mayor de las semillas con presencia de PHet es efecto de la inversión de recursos de la planta madre y no del origen de las semillas.

Sumando los resultados, parece que el desfase de la floración de *O. tomentosa* y la mayor germinación de PHom (autofertilización) son los principales factores que limitan el flujo de polen interespecífico.

VII. Referencias

- Aker, C. L. 1982. Regulation of flower, fruit and seed production by a monocarpic perennial, *Yucca whipplei*. *The Journal of Ecology* 70: 357.
- Alfaro, A. 2007. Estudio de muerte celular programada durante el desarrollo de las anteras en flores pistiladas de *Opuntia stenopetala* Engelman y *Opuntia robusta* Wendland (Cactaceae). Tesis de licenciatura. Facultad de Ciencias UNAM.
- Anderson, E. F. 2001. The Cactus Family. Timber Press, Inc., Portland, Oregon.
- Anna-Aguayo, A. I. S., C. M. Schaffner, J. Golubov, J. López-Portillo, J. García-Franco, G. Herrera-Meza, y A. J. Martínez. 2017. Behavioral Repertoires and Interactions between *Apis mellifera* (Hymenoptera: Apidae) and the Native Bee *Lithurgus littoralis* (Hymenoptera: Megachilidae) in Flowers of *Opuntia huajuapensis* (Cactaceae) in the Tehuacán Desert. *Florida Entomologist* 100: 396–402.
- Arceo-Gómez, G., y T.-L. Ashman. 2014. Coflowering community context influences female fitness and alters the adaptive value of flower longevity in *Mimulus guttatus*. *The American Naturalist* 183: E50–E63.
- Arias, S., S. Gama-López, L. U. Guzmán-Cruz, y B. Vázquez- Benítez. 2012. Flora del Valle de Tehuacán-Cuicatlán. R. Medina [ed.],. CONABIO/Instituto de Biología-UNAM, Ciudad de México.
- Ashman, T. L., y G. Arceo-Gómez. 2013. Toward a predictive understanding of the fitness costs of heterospecific pollen receipt and its importance in co-flowering communities. *American Journal of Botany* 100: 1061–1070.
- Augspurger, C. 1983. Phenology, flowering synchrony, and fruit set of six neotropical shrubs. *Biotropica*: 257–267.
- Baker, M. A., J. P. Rebman, B. D. Parfitt, D. J. Pinkava, y A. D. Zimmerman. 2009. Chromosome numbers in some cacti of Western North America-VIII. *Haseltonia* 15: 117–134.
- Barrett, S. C. H. 2003. Mating strategies in flowering plants: the outcrossing-selfing paradigm and beyond. *Philosophical transactions of the Royal Society of London. Series B, Biological sciences* 358: 991–1004.
- Barrett, S. C. H. 2002. Sexual interference of the floral kind. *Heredity* 88: 154–159.
- Beutelspacher, C. R. 1971. Polinización en *Opuntia tomentosa* Salm-Dyck y *O. robusta*, Wendland en el Pedregal de San Ángel. *Cactáceas y Suculentas Mexicanas* 16: 84–86.
- Boyle, T. H., y D. P. Stimart. 1986. Self-incompatibility and interspecific incompatibility : relationships in intra- and interspecific crosses of *Zinnia elegans* Jacq . and *Z. angustifolia* HBK (Compositae). *Theoretical and Applied Genetics* 73: 305–315.
- Bravo-Hollis, H. 1978. Las Cactáceas de México. Universidad Nacional Autónoma de México, México.
- Briggs, H. M., L. M. Anderson, L. M. Atalla, A. M. Delva, E. K. Dobbs, y B. J. Brosi. 2015. Heterospecific pollen deposition in *Delphinium barbeyi* : linking stigmatic pollen loads to reproductive output in the field. *Annals of Botany* 117: mcv175.

- Brown, B. J., y R. J. Mitchell. 2001. Competition for pollination: Effects of pollen of an invasive plant on seed set of a native congener. *Oecologia* 129: 43–49.
- Brunet, J., Y. Zhao, y M. K. Clayton. 2019. Linking the foraging behavior of three bee species to pollen dispersal and gene flow K. Del-Claro [ed.],. *PLOS ONE* 14: e0212561.
- Buerkle, C., D. Wolf, y H. Rieseberg. 2003. The origin and extinction of species through hibridization. En C. Brigham, y M. Schwartz [eds.], *Hybridization Population Viability in Plants*, 117–141. Springer, New York.
- Burgess, K. S., M. Morgan, y B. C. Husband. 2008. Interspecific seed discounting and the fertility cost of hybridization in an endangered species. *New Phytologist* 177: 276–284.
- Bustamante, E., y A. Búrquez. 2008. Effects of plant size and weather on the flowering phenology of the organ pipe cactus (*Stenocereus thurberi*). *Annals of Botany* 102: 1019–1030.
- Campbell, D., y A. Motten. 1985. The mechanism of competition for pollination between two forest herbs. *Ecology* 66: 554–563.
- Campbell, D. R. 1985. Pollinator sharing and seed set of *Stellaria pubera*: competition for pollination. *Ecology* 66: 544–553.
- Cárdenas-Ramos, D. 2019. Florivoría en *Opuntia cantabrigiensis* Lynch (Cactaceae), en Cadereyta de Montes, Querétaro. Tesis de maestría. Instituto de Ecología UNAM.
- Carrió, E., y J. Güemes. 2014. The effectiveness of pre- and post-zygotic barriers in avoiding hybridization between two snapdragons (*Antirrhinum* L.: Plantaginaceae). *Botanical Journal of the Linnean Society* 176: n/a-n/a.
- Carvalho, L. G., J. C. Biesmeijer, G. Benadi, J. Fründ, M. Stang, I. Bartomeus, C. N. Kaiser-Bunbury, et al. 2014. The potential for indirect effects between co-flowering plants via shared pollinators depends on resource abundance, accessibility and relatedness. *Ecology Letters* 17: 1389–1399.
- Castillo, R. del, y E. González. 1988. Una interpretación evolutiva del polimorfismo sexual de *Opuntia robusta* (Cactaceae). *Agrociencia* 71: 185–196.
- Chailakhyan, M. 1968. Internal factors of plant flowering. *Annual Review of Plant Physiology* 19: 1–36.
- Charlesworth, D. 1988. Evidence for pollen competition in plants and its relationship to progeny fitness: A comment. *The American Naturalist* 132: 298–302.
- Christie, K., y S. Y. Strauss. 2019. Reproductive isolation and the maintenance of species boundaries in two serpentine endemic Jewelflowers. *Evolution*: evo.13767.
- CONCYTEQ. 2008. Jardín Botánico Regional de Cadereyta-Historia. *Consejo de Ciencia y Tecnología del Estado de Querétaro*. Website <http://www.concyteq.edu.mx/JB/historia.html> [consultado el 15 de mayo de 2017].
- Crawley, M. 1993. *GLIM for Ecologist*. Oxford University Press.
- Cruz, P. E., y N. P. Pavón. 2013. Reproductive phenology of *Isolatocereus dumortieri* (Cactaceae) in semiarid scrub in central Mexico: Effect of rain during the dry season. *Journal of Arid Environments* 92: 53–58.

- Devaux, C., y R. Lande. 2009. Displacement of flowering phenologies among plant species by competition for generalist pollinators. *Journal of Evolutionary Biology* 22: 1460–1470.
- Díaz-Infante, S., C. Lara, M. del C. Arizmendi, L. E. Eguiarte, y J. F. Ornelas. 2016. Reproductive ecology and isolation of *Psittacanthus calyculatus* and *P. auriculatus* mistletoes (Loranthaceae). *PeerJ* 4: e2491.
- Domínguez, C., y J. Pérez. 2013. La biología de la polinización. En J. Márquez-Guzmán, M. Collazo-Ortega, M. Martínez, A. Orozco, y S. Vázquez [eds.], *Biología de Angiospermas*, 78–109. Universidad Nacional Autónoma de México.
- Eckert, C. G. 2000. Contributions of autogamy and geitonogamy to self-fertilization in a mass-flowering, clonal plant. *Ecology* 81: 532–542.
- Ellstrand, N. C. 1992. Gene flow by pollen: Implications for plant conservation genetics. *Oikos* 63: 77.
- Ellstrand, N. C., y D. R. Elam. 1993. Population genetic consequences of small population size: Implications for plant conservation. *Annual Review of Ecology and Systematics* 24: 217–242.
- Elzinga, J. A., A. Atlan, A. Biere, L. Gigord, A. E. Weis, y G. Bernasconi. 2007. Time after time: flowering phenology and biotic interactions. *Trends in Ecology and Evolution* 22: 432–439.
- Essenberg, C. J. 2012. Explaining variation in the effect of floral density on pollinator visitation. *The American Naturalist* 180: 153–166.
- Fonseca, R. B. S., L. S. Funch, y E. L. Borba. 2008. Reproductive phenology of *Melocactus* (Cactaceae) species from Chapada Diamantina, Bahia, Brazil. *Revista Brasileira de Botânica* 31: 237–244.
- Galicia, A. 2013. Estudios sobre los sistemas de autoincompatibilidad presentes en *Opuntia tomentosa* Salm-Dyck (Cactaceae). Tesis de Maestría. Universidad Autónoma Metropolitana.
- García-Sánchez, R. 1984. Patrones de polinización y fenología floral en poblaciones de *Opuntia* en San Luis Potosí y Zacatecas. Tesis de licenciatura. Facultad de Ciencias UNAM.
- García, E. 2004. Modificaciones al sistema de clasificación climática de Köppen. 5th ed. Instituto de Geografía, UNAM, México, México.
- García, M., y E. Pimienta-Barrios. 1996. Cytological evidences of agamospermy in *Opuntia* (Cactaceae). *Haseltonia*: 39–42.
- Ghazoul, J. 2006. Floral diversity and the facilitation of pollination. *Journal of Ecology* 94: 295–304.
- González-Durán, A. 1999. Las especies del género *Opuntia* en Jalisco. Tesis de licenciatura. Centro Universitario de Ciencias Biológicas y Agropecuarias UdeG.
- Grindeland, J. M., N. Sletvold, y R. A. Ims. 2005. Effects of floral display size and plant density on pollinator visitation rate in a natural population of *Digitalis purpurea*. *Functional Ecology* 19: 383–390.
- Gross, C. L. 1992. Floral traits and pollinator constancy: Foraging by native bees among three sympatric legumes. *Austral Ecology* 17: 67–74.
- Guzmán, U., S. Arias, y P. Dávila. 2003. Catálogo de cactáceas mexicanas. CONABIO/UNAM, Ciudad de México.
- Harder, L. 2000. Pollen dispersal and the floral diversity of Monocotyledins. En K. Wilson, y D.

- Morrison [eds.], *Monocots: Systematics and Evolution*, 243–257. CSIRO Publishing, Australia.
- Harder, L., y S. Barrett. 1996. Pollen dispersal and mating patterns in animal-pollinated plants. *En* D. Lloyd, y S. Barrett [eds.], *Floral Biology: Studies on Floral Evolution in Animal-Pollinated Plants*, 140–190. Chapman & Hall.
- Hernández, R. 2016. Biología reproductiva de *Opuntia cantabrigensis* Lynch (Cactaceae) en la localidad de Cadereyta de Montes, Querétaro, México. Tesis de licenciatura. Facultad de Ciencias UNAM.
- Hernández, R. 2008. Estudio de la muerte celular programada en el gineceo de flores masculinas de *Opuntia robusta* J. C. Wendl. (Cactaceae). Tesis de licenciatura. Facultad de Ciencias UNAM.
- Hochkirch, A., J. Gröning, y A. Bücker. 2007. Sympatry with the devil: Reproductive interference could hamper species coexistence. *Journal of Animal Ecology* 76: 633–642.
- Hojsgaard, D., y E. Hörandl. 2019. The rise of apomixis in natural plant populations. *Frontiers in plant science* 10: 358.
- Holmquist, K. G., R. J. Mitchell, y J. D. Karron. 2012. Influence of pollinator grooming on pollen-mediated gene dispersal in *Mimulus ringens* (Phrymaceae). *Plant Species Biology* 27: 77–85.
- Huang, S. Q., y X. Q. Shi. 2013. Floral isolation in *Pedicularis*: How do congeners with shared pollinators minimize reproductive interference? *New Phytologist* 199: 858–865.
- Huang, Z. H., H. Le Liu, y S. Q. Huang. 2015. Interspecific pollen transfer between two coflowering species was minimized by bumblebee fidelity and differential pollen placement on the bumblebee body. *Journal of Plant Ecology* 8: 109–115.
- Husband, B. C., y H. A. Sabara. 2004. Reproductive isolation between autotetraploids and their diploid progenitors in fireweed, *Chamerion angustifolium* (Onagraceae). *New Phytologist* 161: 703–713.
- Internicola, A. I., N. Juillet, A. Smithson, y L. D. B. Gigord. 2006. Experimental investigation of the effect of spatial aggregation on reproductive success in a rewardless orchid. *Oecologia* 150: 435–441.
- Janzen, D. H. 1976. Why Bamboos Wait So Long to Flower. *Annual Review of Ecology and Systematics* 7: 347–391.
- Jiménez, J., y S. Vázquez-Santana. 2013. Fruto. *En* J. Marquez-Guzman, M. Collazo, M. Martínez, A. Orozco, y S. Vázquez-Santana [eds.], *Biología de Angiospermas*, 124–136. Universidad Nacional Autónoma de México, Ciudad de México.
- Kobayashi-Kidokoro, M., y S. Higashi. 2010. Flower constancy in the generalist pollinator *Ceratina flavipes* (Hymenoptera: Apidae): An evaluation by pollen analysis. *Psyche* 2010: 1-8.
- Kochmer, J. P., y S. N. Handel. 1986. Constraints and competition in the evolution of flowering phenology. *Ecological Monographs* 56: 303–325.
- Kuno, E. 1992. Competitive exclusion through reproductive interference. *Researches on Population Ecology* 34: 275–284.
- Laverty, T. M. 1992. Plant interactions for pollinator visits: a test of the magnet species effect. *Oecologia* 89: 502–508.

- Lenzi, M., y A. I. Orth. 2012. Mixed reproduction systems in *Opuntia monacantha* (Cactaceae) in Southern Brazil. *Brazilian Journal of Botany* 35: 49–58.
- Levin, D. A., J. Francisco-Ortega, y R. K. Jansen. 1996. Hybridization and the extinction of rare plant species. *Conservation Biology* 10: 10–16.
- Levin, D., y W. Anderson. 1970. Competition for pollinators between simultaneously flowering species. *The American Naturalist* 104: 455–467.
- Luca, A., A. M. Palermo, F. Bellusci, y G. Pellegrino. 2015. Pollen competition between two sympatric *Orchis* species (Orchidaceae): The overtaking of conspecific of heterospecific pollen as a reproductive barrier. *Plant Biology* 17: 219–225.
- Mahoro, S. 2002. Individual flowering schedule, fruit set, and flower and seed predation in *Vaccinium hirtum* Thunb. (Ericaceae). *Canadian Journal of Botany* 80: 82–92.
- Mandujano, M. C., J. Golubov, y L. Huenneke. 2013. Reproductive ecology of *Opuntia macrocentra* (Cactaceae) in the Northern Chihuahuan Desert. *The American Midland Naturalist* 169: 274–285.
- Mandujano, M. C., C. Montaña, y L. E. Eguiarte. 1996. Reproductive ecology and inbreeding depression in *Opuntia rastrera* (Cactaceae) in the Chihuahuan Desert: Why are sexually derived recruitments so rare? *American Journal of Botany* 83: 63–70.
- Mandujano, M. C., L. Plasencia, G. Aguilar, G. Jiménez, R.-A. M, y C. Martínez-Peralta. 2014. Sistema sexual de *Opuntia tomentosa* Salm-Dyck (Cactaceae, Opuntioideae) en un pedregal de origen volcánico. *Cactáceas y Suculentas Mexicanas* 59: 100–120.
- Manzanarez, G. 2019. Morfología y biología floral en los morfos florales de *Opuntia streptacantha* Lem. (Cactaceae), en Cadereyta de Montes, Querétaro. Tesis de licenciatura. Facultad de Ciencias UNAM. Inédito.
- Martínez-Peralta, C., y M. Mandujano. 2012. Biología de la polinización y fenología reproductiva del género *Ariocarpus* Scheidweiler (Cactaceae). *Cactáceas y Suculentas Mexicanas* 57: 114–127.
- Martínez-Ramos, L. 2016. Flujo de polen de *Opuntia tomentosa* Salm-Dick en Cadereyta de Montes, Querétaro, México. Tesis de licenciatura. Facultad de Ciencias UNAM.
- Matallana, G., P. Eugênio Oliveira, P. R. R. da Silva, y T. Wendt. 2016. Post-pollination barriers in an assemblage of Bromeliaceae in south-eastern Brazil. *Botanical Journal of the Linnean Society* 181: 521–531.
- Matias-Palafox, M. L., C. L. Jiménez-Sierra, J. Golubov, y M. C. Mandujano. 2017. Reproductive ecology of the threatened “star cactus” *Astrophytum ornatum* (Cactaceae): A strategy of continuous reproduction with low success. *Botanical Sciences* 95: 245–258.
- McCauley, R. 2013. Apomixis. En J. Marquez-Guzmán, M. Collazo, M. Martínez, A. Orozco-Segovia, y S. Vázquez-Santana [eds.], *Biología de Angiospermas*, 154–158. Universidad Nacional Autónoma de México, México.
- McIntosh, M. E. 2002. Flowering phenology and reproductive output in two sister species of *Ferocactus* (Cactaceae). *Plant Ecology* 159: 1–13.
- Mesgaran, M. B., J. Bouhours, M. A. Lewis, y R. D. Cousens. 2017. How to be a good neighbour: Facilitation and competition between two co-flowering species. *Journal of Theoretical Biology* 422: 72–83.

- Mesquita-Neto, J. N., J. P. R. Borges, T. F. F. de Sá, T. P. de Oliveira Teixeira, I. N. M. Ferreira, M. T. R. Furtado, H. Consolaro, y E. V. Franceschinelli. 2018. Pollen flow and pollinator sharing among synchronopatric species of *Psychotria* (Rubiaceae). *Plant Systematics and Evolution* 304: 943–953.
- Michalski, S. G., y W. Durka. 2007. Synchronous pulsed flowering: analysis of the flowering phenology in *Juncus* (Juncaceae). *Annals of Botany* 100: 1271–1285.
- Moeller, D. 2004. Facilitative interactions among plants via shared pollinators. *Ecology* 85: 3289–3301.
- Mohan Mandal, S., D. Chakraborty, y K. Gupta. 2008. Seed size variation: Influence on germination and subsequent seedling performance in *Hyptis suaveolens* (Lamiaceae). *Research Journal of Seed Science* 1: 26–33.
- Mondragon, C. 2001. Verification of the apomictic origin of cactus pear (*Opuntia* spp. Cactaceae) seedlings of open pollinated and crosses from central Mexico. *Journal of the Professional Association for Cactus Development* 4: 49–56.
- Morales, C. L., y A. Traveset. 2008. Interspecific Pollen Transfer: Magnitude, prevalence and consequences for plant fitness. *Critical Reviews in Plant Sciences* 27: 221–238.
- Morón-Torres, D. 2017. Diagnóstico y control de la infestación de *Tillandsia recurvata* (L.)L. como plaga de leñosas, en el Jardín Botánico de Cadereyta de Montes, Querétaro, México. Tesis de licenciatura. Facultad de Ciencias UNAM.
- Muchhala, N., y J. D. Thomson. 2012. Interspecific competition in pollination systems: Costs to male fitness via pollen misplacement. *Functional Ecology* 26: 476–482.
- Munguía-Rosas, M. A., y V. J. Sosa. 2010. Phenology of *Pilosocereus leucocephalus* (Cactaceae, tribe Cereeae): A columnar cactus with asynchronous pulsed flowering. *Plant Ecology* 211: 191–201.
- Munguía-Soto, E. 2017. Facilitación en la polinización por abejas generalistas y especialistas de catáceas del semidesierto de Querétaro. Tesis de Maestría. Universidad Autónoma Metropolitana.
- Muñoz-Urias, A., G. Palomino-Hasbach, T. Terrazas, A. García-Velázquez, y E. Pimienta-Barrios. 2008. Variación anatómica y morfológica en especies y entre poblaciones de *Opuntia* en la porción sur del Desierto Chihuahuense. *Boletín de la Sociedad Botánica de México*: 1–11.
- Nattero, J., R. Malerba, R. Medel, y A. Cocucci. 2011. Factors affecting pollinator movement and plant fitness in a specialized pollination system. *Plant Systematics and Evolution* 296: 77–85.
- Negrón-Ortiz, V. 1998. Reproductive biology of a rare cactus, *Opuntia spinosissima* (Cactaceae), in the Florida keys: Why is seed set very low? *Sexual Plant Reproduction* 11: 208–212.
- Nishida, S., M. M. Kanaoka, K. Hashimoto, K. Takakura, y T. Nishida. 2014. Pollen-pistil interactions in reproductive interference: comparisons of heterospecific pollen tube growth from alien species between two native *Taraxacum* species. *Functional Ecology* 28: 450–457.
- Olesen, J. M., y E. Warncke. 1989. Temporal changes in pollen flow and neighbourhood structure in a population of *Saxifraga hirculus* L. *Oecologia* 79: 205–211.
- Olvera-Carillo, Y., J. Marquez-Guzman, V. Barradas, E. Sanchez-Coronado, y A. Orozco-Segovia. 2003. Germination of hard seed coated *Opuntia tomentosa* S D; a cacti from the México Valley. *Journal of Arid Environments* 55: 29–42.

- Osada, N., S. Sugiura, K. Kawamura, M. Cho, y H. Takeda. 2003. Community-level flowering phenology and fruit set : Comparative study of 25 woody species in a secondary forest in Japan. *Ecological Research* 18: 711–723.
- Palomino, G., y H. M. Heras. 2001. Karyotypic studies in *Opuntia cochineria*, *O. hyptiacantha*, and *O. streptacantha* (Cactaceae). *Caryologia* 54: 147–154.
- Pavón, N. P., y O. Briones. 2001. Phenological patterns of nine perennial plants in an intertropical semi-arid Mexican scrub. *Journal of Arid Environments* 49: 265–277.
- Petit, S. 2001. The reproductive phenology of three sympatric species of columnar cacti on Curaçao. *Journal of Arid Environments* 49: 521–531.
- Piña, H. H., C. Montaña, y M. D. C. Mandujano. 2007. Fruit abortion in the Chihuahuan-Desert endemic cactus *Opuntia microdasys*. *Plant Ecology* 193: 305–313.
- Pinkava, D. J., y B. D. Parfitt. 1982. Chromosome numbers in some cacti of Western North America. IV. *Bulletin of the Torrey Botanical Club* 109: 121–128.
- Pistón, N., C. Armas, C. Schöb, P. Macek, y F. I. Pugnaire. 2015. Phylogenetic distance among beneficiary species in a cushion plant species explains interaction outcome. *Oikos* 124: 1354–1359.
- Queiroz, J. A., Z. G. M. Quirino, y I. C. Machado. 2015. Floral traits driving reproductive isolation of two co-flowering taxa that share vertebrate pollinators. *AoB PLANTS* 7: 1–13.
- Ramírez, N., y J. M. Nassar. 2017. Breeding systems in Angiosperms: novel inferences from a new analytical approach. *Plant Systematics and Evolution* 303: 119–137.
- Rathcke, B. 1983. Competition and Facilitation among plants for pollination. *En L. Real* [ed.], *Pollination Biology*, 305–329. Academic Press, Inc, London.
- Rathcke, B. 1988. Flowering phenologies in a shrub community : competition and constraints. *Journal of Ecology* 76: 975–994.
- Reyes-Agüero, J. A., J. R. R. Aguirre, y A. Valiente-Banuet. 2006. Reproductive biology of *Opuntia*: A review. *Journal of Arid Environments* 64: 549–585.
- Reyes-Santiago, J. 2011. Conservación y restauración de cactáceas y otras plantas suculentas mexicanas: Manual práctico. SEMARNAT, México.
- Ribeiro, J., y A. Spielman. 1986. The Satyr Effect: A model predicting parapatry and species extinction. *The American Naturalist* 128: 513–528.
- Richards, A. J. 2003. Apomixis in flowering plants: an overview. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences* 358: 1085–1093.
- Richards, A. J. 1997. *Plant breeding systems*. Second Ed. Springer, London, UK.
- Rieseberg, L. H., y J. H. Willis. 2007. Plant speciation. *Science (New York, N.Y.)* 317: 910–914.
- Ritz, C., F. Baty, J. C. Streibig, y D. Gerhard. 2015. Dose response analysis using R. *PLOS ONE* 10: e0146021.
- Ritz, C., C. B. Pipper, y J. C. Streibig. 2013. Analysis of germination data from agricultural experiments. *European Journal of Agronomy* 45: 1–6.

- Rocha, M., A. Valera, y L. Eguiarte. 2005. Reproductive ecology of five sympatric *Agave Littaea* (Agavaceae) species in central Mexico. *American Journal of Botany* 92: 1330–1341.
- Rojas-Aréchiga, M., J. Golubov, O. Romero, y M. C. Mandujano. 2008. Efecto de la luz y la temperatura en la germinación de dos especies de cactáceas en CITES I. *Cactáceas y succulentas mexicanas* 53: 51–57.
- Ruiz, A., M. Santos, J. Cavelier, y P. Soriano. 2000. Estudio fenológico de cactaceas en el Enclave Seco de la Tatacoa, Colombia. *Biotropica* 32: 397–407.
- Saldaña, B. 2019. Diferenciación de nicho en especies de abejas dentreo de la flor de *Opuntia robusta* (microhábitat efímero) en Cadereyta de Montes, Querétaro. Tesis de licenciatura. Facultad de Ciencias UNAM. Inédito.
- Salomón-Montijo, B., Á. Reyes-Olivas, y B. H. Sánchez-Soto. 2016. Fenología reproductiva de *Stenocereus thurberi* (Cactaceae) en una región de transición del norte de Sinaloa, México. *Gayana. Botánica* 73: 381–390.
- Sánchez, E., B. Maruri, M. Hernández, y F. Hernández. 2012. Acciones y respuestas del Jardín Botánico de Cadereyta ante la Estrategia Global para la Conservación Vegetal. En J. Caballero [ed.], Jardines Botánicos contribución a la conservación vegetal de México, 43–53. CONABIO.
- Sánchez, E., y S. Sanaphre. 2009. Plan de manejo integral del Jardín Botánico Regional de Cadereyta “Ing. Manuel González de Cosío”. Secretaría de Educación. Gobierno del Estado de Querétaro, Cadereyta.
- Schmid-hempel, P. 1985. How do bees choose flight direction while foraging? *Physiological Entomology* 10: 439–442.
- SNM. 2017. Sistema Nacional Meteorológico. Website <http://whois.domaintools.com/cna.gob.mx> [consultado el 15 de mayo de 2017].
- Sobel, J. M., y G. F. Chen. 2014. Unification of methods for estimating the strength of reproductive isolation. *Evolution* 68: 1511–1522.
- Soltis, P. S., y D. E. Soltis. 2000. The role of genetic and genomic attributes in the success of polyploids. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 97: 7051–7.
- Song, Z., y M. W. Feldman. 2014. Adaptive foraging behaviour of individual pollinators and the coexistence of co-flowering plants. *Proceedings. Biological sciences / The Royal Society* 281.
- Stebbins, G. L. 1979. Polyploidy in plants: unsolved problems and prospects. En W. H. Lewis [ed.], *Polyploidy: Biological relevance*, 495–520. Plenum Press, New York.
- Stone, G. N., P. A. T. Willmer, y J. A. Rowe. 1998. Partitioning of Pollinators during Flowering in an African *Acacia* Community. *Ecology* 79: 2808–2827.
- Sukhada, K., y J. Sukhada. 1980. Pollen Allelopathy - A new phenomenon. *New Phytologist* 84: 739–746.
- Temeles, E. J., J. T. Newman, J. H. Newman, S. Y. Cho, A. R. Mazzotta, y W. J. Kress. 2016. Pollinator competition as a driver of floral divergence: An experimental test S.-Q. Huang [ed.]. *PLOS ONE* 11: e0146431.
- Thomson, D., B. Andrews, y C. Plowright. 1982. The effect of a foreign pollen on ovule development

- in *Diervilla lonicera* (Caprifoliaceae). *The New Phytologist* 90: 777–783.
- Trujillo, S., y M. González. 1991. Hibridación, aislamiento reproductivo y formas de reproducción en *Opuntia* spp. *Agrociencia* 1: 39–58.
- Waser, N., y M. Fugate. 1986. Pollen precedence and stigma closure: a mechanism of competition for pollination between *Delphinium nelsonii* and *Ipomopsis aggregata*. *Oecologia* 70: 573–577.
- Waser, N. M. 1978. Interspecific pollen transfer and competition between co-occurring plant species. *Oecologia* 37: 223–236.
- Widmer, A., C. Lexer, y S. Cozzolino. 2009. Evolution of reproductive isolation in plants. *Heredity* 102: 31–38.
- Williams, G., y P. Adam. 2010. Spatial and temporal structure of rainforest: general mechanisms that influence pollination and reproductive ecology. The flowering of Australia's rainforests: A plant and pollination, 69–73. CSIRO Publishing, Collingwood.
- Wilson, P., y M. Stine. 1996. Floral constancy in bumble bees: Handling efficiency or perceptual conditioning? *Oecologia* 106: 493–499.
- Wolf, P., D. Campbell, N. Waser, S. Sipes, T. Toler, y J. Archibald. 2001. Tests of pre- and postpollination barriers to hybridization between sympatric species of *Ipomopsis* (Polemoniaceae). *American Journal of Botany* 88: 213–219.
- WU, T. W. C. 2019. CEA-CONCYTEQ Weather. Website https://www.wunderground.com/weather/mx/la-boveda/IQUERETA15?cm_ven=pwsdash_cityforecast [consultado el 20 de marzo de 2019].
- Zhang, L. J., y A. R. Lou. 2018. Patterns of pollen dispersal in an invasive population of *Solanum rostratum* (Solanaceae) in China. *Russian Journal of Ecology* 49: 517–523.