



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
POSGRADO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS

FACULTAD DE CIENCIAS
BIOLOGÍA EXPERIMENTAL

Biología reproductiva de *Strombocactus* (Cactaceae)

TESIS

QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE:
DOCTOR EN CIENCIAS

PRESENTA:

M. en C. ALDEBARAN CAMACHO VELÁZQUEZ

TUTORA PRINCIPAL DE TESIS: DRA. SONIA VÁZQUEZ SANTANA
FACULTAD DE CIENCIAS

COMITÉ TUTOR: DRA. GUADALUPE JUDITH MÁRQUEZ GUZMÁN
FACULTAD DE CIENCIAS

DR. ÁNGEL SALVADOR ARIAS MONTES
INSTITUTO DE BIOLOGÍA



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
POSGRADO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS

FACULTAD DE CIENCIAS
BIOLOGÍA EXPERIMENTAL

Biología reproductiva de *Strombocactus* (Cactaceae)

TESIS

QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE:
DOCTOR EN CIENCIAS

PRESENTA:

M. en C. ALDEBARAN CAMACHO VELÁZQUEZ

TUTORA PRINCIPAL DE TESIS: DRA. SONIA VÁZQUEZ SANTANA
FACULTAD DE CIENCIAS

COMITÉ TUTOR: DRA. GUADALUPE JUDITH MÁRQUEZ GUZMÁN
FACULTAD DE CIENCIAS

DR. ÁNGEL SALVADOR ARIAS MONTES
INSTITUTO DE BIOLOGÍA

COORDINACIÓN DEL POSGRADO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS

FACULTAD DE CIENCIAS
DIVISIÓN ACADÉMICA DE INVESTIGACIÓN Y POSGRADO

OFICIO FCIE/DAIP/0052/2020

ASUNTO: Oficio de Jurado

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


Me permito informar a usted que en la reunión ordinaria del Subcomité de Biología Experimental y Biomedicina del Posgrado en Ciencias Biológicas, celebrada el día **12 de agosto de 2019** se aprobó el siguiente jurado para el examen de grado de **DOCTOR EN CIENCIAS** del estudiante **CAMACHO VELÁZQUEZ ALDEBARAN** con número de cuenta **300004595** con la tesis titulada: "**Biología reproductiva de *Strombocatus* (Cactaceae)**", realizada bajo la dirección de la **DRA. SONIA VÁZQUEZ SANTANA**:

Presidente:	DRA. MARÍA DEL CARMEN MANDUJANO SÁNCHEZ
Vocal:	DRA. MARTHA JUANA MARTÍNEZ GORDILLO
Secretario:	DRA. GUADALUPE JUDITH MÁRQUEZ GUZMÁN
Suplente:	DRA. ESTELA SANDOVAL ZAPOTITLA
Suplente:	DRA. FLORENCIA TIBERIA AUCÁN GARCÍA CAMPUSANO

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

ATENTAMENTE
"POR MI RAZA HABLARA EL ESPIRITU"
Ciudad Universitaria, Cd. Mx., a 16 de enero de 2020

COORDINADOR DEL PROGRAMA


DR. ADOLFO GERARDO NAVARRO SIGÜENZA



AGNS/VMVA/ASR/ipp

AGRADECIMIENTOS INSTITUCIONALES

- Al Posgrado en Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional Autónoma de México, por la formación y motivación de mis estudios de posgrado.
- Al Consejo Nacional de Ciencias y Tecnología (CONACYT), por haberme otorgado la beca de mis estudios de doctorado.
- Por el financiamiento otorgado por parte del Programa de Apoyos a Proyectos de Investigación e Innovación Tecnológica (DGAPA-PAPIIT, proyecto IN-223814) y del CONACYT (proyecto 101771) bajo la coordinación de la Dra. Sonia Vázquez Santana, proyectos del cual tomo parte.
- A los miembros del Comité Tutorial: Dra. Sonia Vázquez Santana, Dra. Guadalupe Judith Márquez Guzmán y Dr. Ángel Salvador Arias Montes, por su apoyo académico, sugerencias y observaciones.

AGRADECIMIENTOS A TÍTULO PERSONAL

A la Dra. Guadalupe Judith Márquez Guzmán y al Dr. Ángel Salvador Arias Montes, por formar parte del comité tutorial de esta investigación.

A los miembros del jurado, Dra. María del Carmen Mandujano Sánchez, Dra. Martha Juana Martínez Gordillo, Dra. Judith Márquez Guzmán, Dra. Estela Sandoval Zapotitla y Dra. Florencia Tiberia Aucán García Campusano, por sus observaciones y comentarios al revisar este trabajo.

A mi asesora la Dra. Sonia Vázquez Santana por la orientación y apoyo que me brindó para la realización de este trabajo, asimismo por sus consejos y amistad que me permitieron aprender muchas cosas más de lo realizado en esta investigación.

A la Dra. Silvia Espinosa Matías, por su apoyo en el procesamiento y toma de fotografías en el Microscopio Electrónico de Barrido.

A la M. en F. P. Ana Isabel Bieler Antolín del laboratorio de Microcine, por su ayuda en la toma de microfotografías.

A la M. en C. Mónica Karina Pérez Pacheco y al M. en C. José Gonzalo Ricardo Wong, por su asesoría durante el trabajo de laboratorio para la realización de esta investigación.

A la Dra. María del Carmen Mandujano Sánchez y a la M. en C. Leticia Bonilla Valencia, por su ayuda en el análisis estadístico.

A la M. en C. Sandra Rios Carrasco por su apoyo tanto en el campo y laboratorio, así como por compartir tu entusiasmo y conocimiento por las plantas.

Al M. en C. Pactli Fernando Ortega García por su ayuda en la identificación de los insectos.

Al Dr. Daniel Sánchez, Biól. Jerónimo Reyes, Biól. Gabriel Olalde, Omar Zorzano (JB-IB-UNAM), Emiliano Sánchez y Magdalena Hernández (JBR Cadereyta) y M. en C. Patricia Olguín (Invernadero-FC-UNAM), por su ayuda con las colecciones biológicas.

A los M. en C. Rocío Hernández Cruz, Nadia Castro Cárdenas, Cesar Adrián González Martínez y a los Biól. Alberto Carrasco, María Fernanda Rodríguez e Ikal Paredes, por su ayuda en el trabajo de campo.

DEDICATORIAS

A mis padres por siempre ayudarme y cuidarme con mucho amor. Gracias por cada consejo, palabra y sacrificio para que yo cumpliera cada uno de mis logros. Los amo y quiero mucho.

A mi hermano por siempre apoyarme en cada momento de mi vida. Gracias por tu tiempo y cariño. Te quiero mucho.

A toda mi familia por su apoyo y cariño. Gracias por ser parte de mi vida.

A mi asesora Sony por brindarme sus conocimientos y contagiarme su pasión por las plantas y la ciencia. Gracias por todo el apoyo, consejos y cariño.

A las profesoras y profesores de DESPLAN por sus comentarios, pláticas y enseñanzas. Gracias.

A mis amigos y compañeros de laboratorio, quienes compartieron sus conocimientos, alegrías, risas y todas esas reuniones, comidas y salidas a campo que fueron muy divertidas. Gracias chic@s.

Índice

Resumen	1
Abstract	3
Introducción general	5
Biología Reproductiva	7
Género <i>Strombocactus</i>	14
Organización de la tesis	16
Literatura citada	18
Capítulo 1. Artículo: Biología reproductiva de la subfamilia Cactoideae (Cactaceae)	22
Capítulo 2. Manuscrito: Mating and incompatibility systems in <i>Strombocactus</i> (Cactaceae): an evidence that supports their status as endangered taxa	51
Capítulo 3. Artículo: The structure of nectaries in the genus <i>Strombocactus</i> (Cactaceae)	82
Capítulo 4. Artículo: Seed development and germination of <i>Strombocactus</i> species (Cactaceae): A comparative morphological and anatomical study	93
Discusión general	107
Biología floral y sistemas de apareamiento	107
Sistemas de cruce y de incompatibilidad y su implicación en la vulnerabilidad de los taxones	108
Visitantes florales	113
Dispersión de semillas	114
Conclusiones	117
Perspectivas	119
Literatura citada	120

RESUMEN

El género *Strombocactus* (*S. disciformis* ssp. *disciformis*, *S. disciformis* ssp. *esperanzae* y *S. corregidora*) es endémico de la zona árida Queretano-Hidalguense, México. Actualmente, los taxones de este género se encuentran incluidos en algunas de las listas de especies amenazadas (NOM-059-SEMARNAT, IUCN y CITES); su vulnerabilidad se debe al bajo reclutamiento de plántulas, reducción del número de individuos por población como resultado del saqueo de plantas y destrucción de sus hábitats por actividades humanas. Con base en este contexto, comprender las diversas estrategias reproductivas utilizadas por cada taxón de *Strombocactus* que les permite el reclutamiento de nuevos individuos en sus poblaciones, para persistir en el tiempo. Permitiría identificar elementos que podrían limitar su regeneración natural, lo que ayudaría a promover programas de restauración y conservación para cada uno de los taxones. El objetivo de este estudio consistió en describir diferentes aspectos de la biología reproductiva del género *Strombocactus*. Bajo las siguientes interrogantes: ¿Qué sistema de cruce tiene cada taxón? ¿Presentan algún sistema de incompatibilidad? ¿Qué implicaciones tienen los sistemas de cruce e incompatibilidad en la vulnerabilidad de los taxones? ¿Qué recompensas florales presentan? y ¿Cuál es la naturaleza del apéndice seminal en *S. disciformis* y qué papel tiene durante la dispersión?

Con base en los resultados del cociente polen/óvulo, los tres taxones de *Strombocactus* tienen un sistema de apareamiento de autogamia facultativa; sin embargo, de acuerdo con el índice de entrecruza son xenógamos. No obstante, *S. disciformis* ssp. *esperanzae* es autocompatible y tiene un sistema de cruce mixto, con niveles bajos de depresión por endogamia a nivel de frutos y semillas. Mientras que *S. disciformis* ssp. *disciformis* y *S. corregidora* son autoincompatibles y presentan entrecruza estricta. Los atributos florales de *Strombocactus* son típicos de plantas melitófilas, con anthesis diurna, colores brillantes, infundibuliformes, con polen y néctar ofrecidos como recompensas. Este último se produce en

un nectario floral de tipo anular. Con base en observaciones preliminares los potenciales polinizadores en *S. disciformis* ssp. *disciformis* son abejas solitarias, de acuerdo a su conducta y visitas constantes. La dispersión de las diásporas es restringida, los frutos secos son transportados por hormigas *Atta* sp, asimismo, corrientes fuertes de aire pueden llegar a desprenderlos. Las semillas de las subespecies de *S. disciformis* presentan un arilo aerenquimático que puede funcionar como una estructura de flotación, que les permite ser transportadas por corrientes de agua provocadas por las lluvias. Las semillas de *S. corregidora* también flotan, aunque no presentan un arilo, probablemente a la presencia de espacios de aire en el lumen de las células de la cubierta seminal.

Los resultados señalan que los tres taxones de *Strombocactus* tienen caracteres florales que favorecen la entrecruza como la protandria, hercogamia, presencia de néctar y alta producción de polen como recompensa. En el caso de *S. disciformis* ssp. *disciformis* y *S. corregidora* que presentan un sistema de incompatibilidad ovárico, requieren de polinizadores para que se lleve a cabo la polinización cruzada. Por lo que, una disminución en sus poblaciones debido a algún evento como deslaves, colecta ilegal de plantas, destrucción y/o fragmentación de sus hábitats, limita las posibilidades de cruzarse, poniendo en riesgo su sobrevivencia. Con respecto a *S. disciformis* ssp. *esperanzae* que tiene un sistema de cruza mixto y una población pequeña, si hubiera una reducción mayor, podría aumentar la tasa de autofecundación, disminuyendo la adecuación de la población, sin embargo, proporciona seguridad reproductiva en ausencia de parejas o polinizadores. Por lo tanto, la información aquí generada sobre la biología reproductiva de *Strombocactus* junto con estudios demográficos que se realicen, permitirá diseñar programas concretos de conservación y propagación para cada uno de los taxones.

ABSTRACT

The genus *Strombocactus* (*S. disciformis* ssp. *disciformis*, *S. disciformis* ssp. *esperanzae*, and *S. corregidora*) is endemic to the arid zones of Queretaro-Hidalgo, Mexico. Currently, taxa of this genus are included in some of the lists of threatened species (NOM-059-SEMARNAT, IUCN y CITES); its vulnerability is due to low seedlings recruitment, reduction in the number of individuals per population; as a result looting of plants and destruction of their habitats by human activities. Based on this context, there were understanding the various reproductive strategies used by each of the *Strombocactus* taxa that allows them to recruit new individuals into their populations, to persist over time. It would allow identifying elements that could limit their natural regeneration, which would help to promote restoration and conservation programs for each of the taxa. The objective of this study was to describe different aspects of the reproductive biology of the genus *Strombocactus*. Under the following questions: What cross-system does each taxon have? Do they present any incompatibility system? What implications do mating and incompatibility systems have on taxa vulnerability? What floral rewards do they present? and What is the nature of the seed appendage in *S. disciformis*, and what is its role during dispersal?

Based on the results of the pollen/ovule ratio, the three taxa of *Strombocactus* reflect a facultative autogamy breeding system; however, according to the outcrossing index, the taxa are xenogamous. Notwithstanding, *S. disciformis* ssp. *esperanzae* is self-compatible and has a mixed mating system, with low levels of inbreeding depression at the level of fruits and seeds. Whereas *S. disciformis* ssp. *disciformis* and *S. corregidora* are self-incompatible and present a strict outcrossing system. The floral attributes of *Strombocactus* are typical of melitophilous plants, with diurnal anthesis, bright colors, infundibuliform, pollen, and nectar offered as rewards. The latter is produced in a floral nectary of annular type. Based on preliminary observations, the potential pollinators in *S. disciformis* ssp. *disciformis* are solitary bees, in

accordance with their behavior and frequent visits. The dispersion of diasporas is restricted, *Atta* sp. ants transport dried fruits; also, strong air currents can remove them. The seeds of the subspecies of *S. disciformis* present an aerenchymatic aril that can function as a flotation structure, which allows them to be transported by water currents caused by the rains. The seeds of *S. correjidorae* also float, although they do not present a seed appendage, probably due to the presence of air spaces in the lumen of the seed coat cells.

The results indicate that the three of *Strombocactus* taxa have floral characters that favor outcrossing such as protandry, herkogamy, presence of nectar and high pollen production as a reward. In the case of *S. disciformis* ssp. *disciformis* and *S. correjidorae*, which present an ovarian incompatibility system, require pollinators to cross-pollinate. Therefore, a decrease in their populations due to some event such as landslides, illegal extraction of plants, habitat destruction and fragmentation, limits the chances of outcrossing, putting their survival at risk. With respect to *S. disciformis* ssp. *esperanzae* that has a mixed mating system and a small population, if it were to present a major reduction, it could increase the self-fertilization rate, decreasing the fitness of the population, however, provides reproductive security in the absence of mates or pollinators. Therefore, the information generated here about the reproductive biology of *Strombocactus*, together with demographic studies that will be carried out, will allow the design of specific conservation and propagation programs for each of the taxa.

INTRODUCCIÓN GENERAL

La sobrevivencia y mantenimiento de las poblaciones vegetales en su hábitat, dependen del éxito de las estrategias reproductivas que presenta una determinada especie, ya sea mediante la reproducción sexual por medio de la fecundación o la reproducción asexual, que implica propagación vegetativa y/o apomixis (Reyes-Agüero y Valiente-Banuet, 2006; Godínez-Álvarez *et al.*, 2008). En el caso de la familia Cactaceae la versatilidad reproductiva en algunos de sus géneros es considerablemente amplia, lo que puede representar un papel trascendental en la estrategia ecológica de adaptación a la aridez (Mandujano *et al.*, 2010; Arias y Flores, 2013). Por ejemplo, especies del género *Opuntia* tienen el potencial de reproducirse sexual y asexualmente. Estos sistemas reproductivos versátiles son continuamente mediados por factores ambientales, sugiriendo que los sistemas genéticos pueden presentar plasticidad fenotípica (Arias y Flores, 2013).

Desafortunadamente la familia Cactaceae es uno de los grupos de angiospermas con mayor vulnerabilidad (Goettsch *et al.*, 2015) debido a las presiones de la actividad antropogénica, principalmente por la conversión de terrenos para usos agrícolas y/o pecuarios, y la extracción ilegal de plantas, frutos y semillas para el comercio (Sánchez-Mejorada, 1982; Anderson *et al.*, 1994; Arias *et al.*, 2005). Además, están los factores intrínsecos de cada especie, como la alta especificidad del hábitat, distribución limitada, tamaño de la población, los ciclos de vida largos con bajas tasas tanto de reclutamiento como de crecimiento (Sánchez-Mejorada, 1982; Arias *et al.*, 2005; Mandujano *et al.*, 2010). Estos factores han propiciado que varios miembros de la familia Cactaceae se encuentren incluidos en listas de especies amenazadas, tanto nacionales (SEMARNAT, 2010) como internacionales (CITES, 2017; IUCN, 2019). Por lo que recientemente, ha aumentado el interés en la investigación sobre la ecología de poblaciones y la biología reproductiva de especies de cactáceas con cierto grado de vulnerabilidad (Strong y Williamson, 2007; Martínez-Peralta *et al.*, 2014a; Matias-Palafox *et al.*,

2017; Zepeda *et al.*, 2017), como un marco necesario para conocer los elementos que establecen la dinámica poblacional, los requisitos reproductivos y los factores que podrían limitar la regeneración natural, así como para comprobar el estado de conservación de sus poblaciones.

El género *Strombocactus* se encuentra amenazado debido al bajo reclutamiento de plántulas (ob. pers.; Olmos-Lau, 2016), así como a la disminución general del número de individuos por población, como resultado de las actividades humanas, por el cambio de uso de suelo para la agricultura y por la colecta ilegal de plantas y semillas para su venta en el mercado nacional e internacional (Lüthy, 2001; Arias y Sánchez-Martínez, 2010; Olmos-Lau y Mandujano, 2016). Actualmente, *Strombocactus disciformis* está incluido como especie amenazada en la NOM-059 (SEMARNAT, 2010) y como vulnerable en la Lista Roja (IUCN, 2019), aunque *S. disciformis* ssp. *disciformis* (DC.) Britton & Rose y *S. disciformis* ssp. *esperanzae* Glass & S. Arias no se tratan por separado. *Strombocactus corregidora* S. Arias & E. Sánchez no está incluida en ninguna de estas dos listas. Todas las especies de *Strombocactus* están en el Apéndice I de CITES (2017). Ante esta situación es necesario obtener información sobre las diversas estrategias reproductivas utilizadas por cada taxón de *Strombocactus* que les permite el reclutamiento de nuevos individuos en sus poblaciones para persistir en el tiempo; lo cual es de gran importancia para comprender la dinámica de sus poblaciones e identificar los elementos que podrían limitar su regeneración natural y promover programas de restauración y conservación de sus poblaciones a futuro.

Por esta razón, el objetivo general de este trabajo consistió en describir diferentes aspectos de la biología reproductiva de los taxones de *Strombocactus*. Con los siguientes objetivos particulares: 1) Realizar una revisión sobre los aspectos relacionados con la biología reproductiva de la subfamilia Cactoideae, donde está incluido *Strombocactus*, 2) Conocer la biología floral, los visitantes florales, los sistemas de apareamiento y de cruce de cada taxón

de *Strombocactus*, así como determinar si presentan un sistema de incompatibilidad, 3) Estudiar la morfo-anatomía y secreción de néctar en los nectarios florales de *Strombocactus* y 4) Estudiar la ontogenia de las semillas, con énfasis en el apéndice seminal presente en *S. disciformis*, determinar los mecanismos de dispersión de las semillas y la germinación.

Biología reproductiva

El estudio de la biología reproductiva en angiospermas explora diversos procesos involucrados en la formación de flores, frutos y semillas que son clave para el reclutamiento de nuevos individuos en una población, lo que permite su persistencia a lo largo del tiempo (Matias-Palafox *et al.*, 2017). La biología reproductiva abarca los aspectos de propagación vegetativa, apomixis, biología floral, expresión del sexo, los sistemas de apareamiento, de cruza y de incompatibilidad, la relación con los polinizadores y otros visitantes florales, los atrayentes y recompensas ofrecidas por parte de las flores hacia los visitantes y por parte de frutos y semillas para los dispersores (Dafni, 1992; Richards, 1997; Mandujano *et al.*, 2010).

La reproducción sexual en angiospermas se puede evaluar a dos niveles. El primero es el estudio de los sistemas de apareamiento (*breeding systems*), se refieren a la forma en la cual el gineceo y el androceo se posicionan espacial (hercogamia), temporal (dicogamia) y funcionalmente (expresión del sexo) a nivel de flor, individuo o población y tienen una consecuencia directa sobre los sistemas de cruza (Cruden, 1977; Richards 1997; Neal y Anderson, 2005; Mandujano *et al.*, 2010). El segundo nivel de estudio son los sistemas de cruza (*mating systems*), se refieren a cómo y con quién se unen los gametos para efectuar la fecundación, es decir, el patrón en la transmisión de genes entre generaciones a través de la formación de semillas, éstos son: la entrecruza, la autocruza y el sistema mixto, este último involucra a los dos anteriores (Richards, 1997; Neal y Anderson, 2005; Barrett, 2014). La forma

en la cual se unen los gametos de una especie determinará las características genéticas y la adecuación de la descendencia (Charlesworth y Charlesworth, 1987; Barrett, 2014).

La entrecruza promueve el intercambio genético, lo que genera un aumento en la heterocigosidad y la adecuación de los individuos (Charlesworth y Charlesworth, 1987; Barrett, 2014), además de solventar los estragos que pueden inducir ciertos cambios en el ambiente; sin embargo, la mayoría dependen de polinizadores y de una floración sincrónica y masiva para la fecundación (Richards, 1997). Por otra parte, la autocruza se presenta en especies que carecen de sistemas de incompatibilidad, lo cual asegura la fecundación y formación de semillas de un individuo aun cuando los polinizadores son escasos o están ausentes (Barrett, 2014). Asimismo, evita las recombinaciones con genotipos mal adaptados a un determinado ambiente (Kephart *et al.*, 1999); no obstante, provoca la homocigosidad y la descendencia puede manifestar depresión por endogamia (reducción en la viabilidad y/o fertilidad de la descendencia autógena) debido a mutaciones deletéreas (Charlesworth y Charlesworth, 1987; Kephart *et al.*, 1999). Por último, la presencia de un sistema mixto en una población mantiene las ventajas de una mayor diversidad genética vía entrecruza, o bien asegura su permanencia producto de la autofecundación (Goodwillie *et al.*, 2005; Barrett, 2014).

Los sistemas de cruza en la familia Cactaceae se relacionan, en parte, con la forma de vida y longevidad de las especies concernientes a cada subfamilia, así como sus interacciones bióticas y abióticas. Dentro de las especies pertenecientes a la subfamilia Pereskioideae prevalece la entrecruza, en cambio en Opuntioideae y Cactoideae existe la autocruza, entrecruza y sistemas mixtos (Mandujano *et al.*, 2010). La tribu Cacteeae de la subfamilia Cactoideae, a la cual pertenece *Strombocactus*, tiene especies que presentan entrecruza obligada, por ejemplo, *Astrophytum asterias* (Zucc.) Lem. (en Starr, Texas, USA; Strong y Williamson, 2007), *Coryphantha cornifera* (DC.) Lem., *Stenocactus anfractuosus* (Mart.) A. Berger ex A.W. Hill (Fuentes, 2012) y *Mammillaria grahamii* Engelm. (Bowers, 2002); con

sistema mixto *Astrophytum asterias* (en Nuevo León y Tamaulipas, México; Martínez, 2007), varias especies de *Ariocarpus* (Martínez-Peralta *et al.*, 2014a), *Ferocactus cylindraceus* (Engelm.) Orcutt y *F. wislizeni* (Engelm.) Britton & Rose (McIntosh, 2002); sin embargo, en estas especies predomina la entrecruza. Los sistemas de cruza están relacionados con los sistemas sexuales, sistemas de apareamiento, la presencia o ausencia de un sistema de incompatibilidad (Barrett, 2002, 2014) y la conducta de los visitantes florales (Kephart *et al.*, 1999).

Los sistemas sexuales (*sexual systems*) se refieren a la forma en la cual los órganos reproductivos se posicionan funcionalmente en los individuos de una población. Estos sistemas se expresan como hermafroditas, monoicos, dioicos, entre otros, y tiene una consecuencia directa sobre la diversidad genética de las poblaciones (Barrett, 2002; Neal y Anderson, 2005; Orozco-Arroyo y Vázquez-Santana, 2013). La mayoría de las especies de la familia Cactaceae son hermafroditas; sin embargo, se han reportado 26 especies que presentan flores unisexuales con sistemas sexuales tales como el dioico, ginodioico, trioico o subdioico (Rebman, 2001, Rebman *et al.*, 2002; Orozco-Arroyo *et al.*, 2012; Sánchez y Vázquez-Santana, 2018; Martínez, 2018). En la subfamilia Cactoideae por ejemplo, *Echinocereus coccineus* Engelm., *E. mombergerianus* G.Frank y *E. polyacanthus* Engelm. (Hernández-Cruz *et al.*, 2018) presentan poblaciones dioicas; *Mammillaria dioica* K. Brandegees, *M. neopalmeri* R.T. Craig (Lindsay y Dawson, 1952) y *Pachycereus pringlei* (S.Watson) Britton & Rose (Fleming *et al.*, 1994) tienen poblaciones ginodioicas y trioicas; *Mammillaria blossfeldiana* Boed. (Rebman, 2001; Rebman *et al.*, 2002) y *Coryphantha elephantidens* (Lem.) Lem. (Martínez, 2018) presentan sistemas ginodioicos.

La presencia de ambos órganos sexuales en una flor hermafrodita incrementa las probabilidades de autopolinización, lo que compromete la variabilidad genética de las especies (Kuusk, 2003). Las angiospermas presentan diversos mecanismos reproductivos para evitar

los efectos deletéreos de la endogamia, promover la heterocigosis y la variabilidad genética, lo cual tiene efectos ventajosos en la supervivencia de las poblaciones (Barrett, 2002). Entre las estrategias utilizadas se encuentran la dicogamia, la hercogamia y los sistemas de incompatibilidad (Lloyd y Webb, 1986; Webb y Lloyd, 1986; de Nettancourt, 1997; Barrett, 2002). La dicogamia es la separación temporal entre las funciones sexuales, mediante dos tipos, la protoginia cuando los estigmas son receptivos antes de la liberación del polen y la protandria, cuando el polen se libera antes de que los estigmas sean receptivos (Lloyd y Webb, 1986; Barrett, 2002). En la subfamilia Cactoideae se han reportado casos de protandria con separación temporal corta (horas) como en *Hylocereus* spp. (Pimienta-Barrios y Del Castillo, 2002) y *Pilosocereus royenii* (L.) Byles & G.D.Rowley (Rivera-Marchand y Ackerman, 2006) o larga (días) en *Ferocactus histrix* (DC.) G.E.Linds. (Del Castillo, 1994). En el caso de las especies de *Ariocarpus* se menciona que presentan protandria incompleta (Martínez-Peralta *et al.*, 2014a), es decir, que las funciones sexuales se sobrelapan en algún punto (Lloyd y Webb, 1986).

La hercogamia es la separación espacial entre las anteras y el estigma (Webb y Lloyd, 1986). Esta diferencia espacial generalmente está vinculada a un sistema de incompatibilidad genético, lo cual ha sugerido que la hercogamia disminuye la interferencia entre las funciones masculinas y femeninas, pero no evita por completo la endogamia (Webb y Lloyd, 1986), debido a que la autopolinización mediada por polinizadores o autónoma sigue siendo posible (Barrett, 2014). Algunos ejemplos de especies de Cactoideae que presentan hercogamia y un sistema de incompatibilidad son: *Pilosocereus lanuginosus* (L.) Byles & G.D.Rowley (Nassar *et al.*, 1997, 2003), *Cleistocactus baumannii* (Lem.) Lem., *C. smaragdiflorus* (F.A.C.Weber) Britton & Rose (Gorostiague y Ortega-Baes, 2016) y especies de *Ariocarpus* (incompatibilidad parcial; Martínez-Peralta *et al.*, 2014b). Otras especies son autocompatibles y tienen hercogamia, por ejemplo, *Echinocactus platyacanthus* Link & Otto (Jiménez, 2008), *Melocactus*

curvispinus Pfeiff. (Nassar *et al.*, 2001) y *Weberbauerocereus weberbaueri* (K. Schum. ex Vaupel) Backeb. (Sahley, 1996).

El sistema de incompatibilidad sexual es un mecanismo genético-bioquímico de reconocimiento y rechazo específico del polen, es decir, el gineceo reconoce y rechaza el polen propio y el de parientes inmediatos que presenten los mismos alelos, aceptando el polen de plantas genéticamente relacionadas, pero que presentan diferentes alelos, evita la endogamia y fomenta la entrecruza (de Nettancourt, 1997). Algunos autores han reportado la presencia de autoincompatibilidad total o parcial en especies de Cactoideae, debido a la nula formación de frutos y a la observación del comportamiento de tubos polínicos en experimentos de autopolinización controlada como en *Echinopsis chamaecereus* H.Friedrich & Glaetzle (Boyle e Idnurm, 2001), *Schlumbergera truncata* (Haw.) Moran, *Hatiora rosea* (Lagerh.) Barthlott, *H. gaertneri* (Regel) Barthlott (Boyle, 2003) y especies de *Ariocarpus* (Martínez-Peralta *et al.*, 2014b). La presencia de un sistema de incompatibilidad en especies vulnerables con poblaciones pequeñas limita el número de cruzas compatibles y disminuye la reproducción sexual, lo que reduce aún más el tamaño efectivo de la población (Busch y Schoen, 2008). Además, las especies autoincompatibles dependen de vectores que transporten el polen entre los individuos, para llevar a cabo la polinización cruzada, por lo que la atracción de polinizadores puede determinar el éxito reproductivo (Aguilar *et al.*, 2006; Vervoort *et al.*, 2011).

Con base en las características florales, Cruden (1977) propuso dos métodos para categorizar a los sistemas de apareamiento: 1) *Índice de entrecruza*, que toma en consideración el diámetro de la flor y la presencia/ausencia de hercogamia y dicogamia, los cuales se califican para dar un puntaje a la especie y clasificarla como cleistógama, autógena, autógena facultativa, xenógama facultativa o xenógama, y 2) *Cociente polen/óvulos*, bajo el supuesto de que las especies autógenas no necesitan producir una gran cantidad de polen por cada óvulo, mientras que las xenógamas sí lo requieren. Se ha sugerido que el sistema de

apareamiento, definido a partir de atributos florales, es un aproximado al sistema de cruce de una especie, debido a que participa en la contribución genética relativa de los individuos de una población (Dafni, 1992).

A lo largo de la evolución las plantas han desarrollado una gran diversidad de estrategias y atributos florales para llevar a cabo una transferencia exitosa de sus gametos (Castillo *et al.*, 1999; Domínguez y Pérez, 2013). En el caso de la polinización zoófila, los atributos florales como el tamaño, forma, color, fragancias y la presencia de recompensas (aceites, néctar, polen) están estrechamente relacionados con la atracción de polinizadores, lo cual favorece que la flor reciba y/o done polen cuando es visitada (Grajales-Conesa *et al.*, 2011; Domínguez y Pérez, 2013). Las especies con entrecruza estricta y polinización zoófila, dependen de la actividad de sus polinizadores para tener éxito reproductivo, por lo que un descenso en el número de polinizadores pone en peligro la formación de semillas (Wilcock y Neiland, 2002), por consiguiente, el reclutamiento de nuevos individuos en la población. En cambio, especies con autopolinización autónoma, al no depender de polinizadores aseguran la producción de semillas, siempre y cuando sean autocompatibles (van Kleunen *et al.*, 2008).

Las cactáceas son polinizadas generalmente por abejas, aves, mariposas y murciélagos (Pimienta-Barrios y Del Castillo, 2002; Mandujano *et al.*, 2010; Arias y Flores, 2013). También, son visitadas por avispas, escarabajos, hormigas y saltamontes, los cuales se pueden considerar florívoros, polinívoros, nectarívoros, polinizadores ocasionales o con una conducta indeterminada (Mandujano *et al.*, 2010; Martínez-Peralta y Mandujano, 2012). En particular, la florivoría puede reducir en última instancia la adecuación de las plantas (McCall e Irwin, 2006; Mandujano *et al.*, 2010). El néctar como recompensa para los polinizadores se produce en los nectarios florales (Richards, 1997; Irwin *et al.*, 2004) y los estudios de estas estructuras en Cactaceae han proporcionado información sobre su ubicación, morfología, anatomía, secreción y composición química del néctar, asimismo su relación con la polinización (Molina-

Freaner *et al.*, 2004; Almeida *et al.*, 2013; Gudiño *et al.*, 2015, 2018). Se han propuesto tres tipos de nectarios para cactáceas: a) cámara nectarial, b) disco y c) surco (Buxbaum, 1953). Sin embargo, esta clasificación no se acopla del todo bien a los diferentes nectarios de la familia (por ejemplo, Fuentes-Pérez *et al.*, 2009).

Junto con el transporte de polen, la dispersión de semillas es el factor individual más importante que promueve el flujo de genes a través de una población o hacia nuevas poblaciones (Van Der Pijl, 1972; Willson y Traveset, 2000). Por lo tanto, el patrón de dispersión de las semillas contribuye a la estructura y diversidad genética de las poblaciones (Willson y Traveset, 2000; Levin *et al.*, 2003). Entre los caracteres morfológicos asociados con la dispersión de las semillas se encuentran la forma, el tamaño, el color y los apéndices seminales (estrofiolo, arilo, carúncula, sarcotesta y elaiosoma) (Boesewinkel y Bouman, 1984; Bewley *et al.*, 2013). Los términos que describen a cada uno de los apéndices seminales se basan en el origen ontogénico, la composición química y la morfo-anatomía (Van Der Pijl, 1972; Márquez-Guzmán, 2013). Sin embargo, distintos autores utilizan los términos como arilo, elaiosoma, estrofiolo y carúncula como sinónimos entre sí. En particular, una mayor comprensión sobre el origen y la función de los apéndices seminales puede proporcionar una mayor idea sobre el papel de estas estructuras en la evolución y distribución de las especies.

En la familia Cactaceae se ha observado que las semillas son transportadas esencialmente por aves, pequeños mamíferos, murciélagos y reptiles, a través de la ingesta y la posterior regurgitación, o por heces (Bregman, 1988; Soriano *et al.*, 1999; Godínez-Álvarez *et al.*, 2002; Sanz y Nassar, 2007; Romero, 2012) o por hormigas (mirmecocoria), mediante el transporte (carga) deliberado de la semilla (Bregman, 1988; Barthlott y Porembski, 1996; Rojas-Aréchiga, 2009). Asimismo, el agua también se ha considerado como otro vector de dispersión (Bregman, 1988; Barthlott *et al.*, 1997; Sánchez-Salas *et al.*, 2012). A largo plazo, los eventos como la polinización, la fecundación y la posterior dispersión de las semillas

establecen la distancia genética entre los individuos de una misma especie y la manera en la cual se combina la información genética que se transmite de generación en generación (Baker, 1955; Holsinger, 1986).

Género *Strombocactus*

Strombocactus que es el género de estudio de la presente investigación, pertenece a la tribu Cacteae de la subfamilia Cactoideae (Anderson, 2001). Fue descrito originalmente como *Mammillaria* por De Candolle (1828) y más tarde fue propuesto como un género monotípico por Britton y Rose (1922), *Strombocactus disciformis* (DC). Britton & Rose. Actualmente, se reconocen dos especies, *S. disciformis* (DC) Britton & Rose (con dos subespecies *S. disciformis* ssp. *disciformis* y *S. disciformis* ssp. *esperanzae* Glass & S. Arias) y *S. corregidora* S. Arias & E. Sánchez (Arias y Sánchez-Martínez, 2010). Estas especies son endémicas de la zona árida Queretano-Hidalguense y se distribuyen en un sistema de cañadas perteneciente a los estados de Guanajuato, Hidalgo y Querétaro (Hernández *et al.*, 2004; Sánchez-Martínez *et al.*, 2006). Los taxones de *Strombocactus* tienen hábitats similares: pequeñas grietas en rocas, rellenas con suelo fino y escaso, en pendientes pronunciadas y paredes verticales (donde afloran lutitas calcáreas), preferentemente en áreas con poca o nula vegetación. A menudo crecen bajo el dosel de plantas nodrizas (Álvarez *et al.*, 2004; Arias y Sánchez-Martínez, 2010).

Los taxones de *Strombocactus* tienen formas de crecimiento entre globoso, globoso-depreso y cilíndrico. La altura del tallo varía de 2.5-4.5 cm en *S. disciformis* ssp. *esperanzae*, 3-12 cm en *S. disciformis* ssp. *disciformis* hasta 18-23 cm en *S. corregidora*; el diámetro de 4-5 cm en *S. disciformis* ssp. *esperanzae*, 3-9 cm en *S. disciformis* ssp. *disciformis* y 8-12 cm en *S. corregidora*. Los tubérculos son romboidales, de color verde-grisáceo o verde-glaucos. Las aréolas son de elípticas a circulares, dispuestas en el ápice de los tubérculos. El número

de espinas varía de 1-5, de color gris o negro-grisáceo, rectas, flexibles, caducas o persistentes. Las flores son infundibuliformes, de color magenta en *S. disciformis* ssp. *esperanzae*, blanco a blanco-amarillento en *S. disciformis* ssp. *disciformis* y amarillo en *S. corregidora*. Los frutos son secos, elipsoidales, de no más de 11 mm de longitud y 7 mm de diámetro, sin aréolas, varían de amarillo-verdoso a tonos purpúreos al madurar, con dehiscencia longitudinal. Las semillas son obovoides, muy pequeñas, de color castaño rojizo, con estrofiolo en las subespecies de *S. disciformis* y ausente en *S. corregidora* (Britton y Rose, 1922; Glass y Arias, 1996; Arias y Sánchez-Martínez, 2010). Con respecto al apéndice seminal presente en *S. disciformis* Anderson (2001) menciona en su obra, que las semillas pueden ser ariladas (página 35) o estrofioladas (página 651), mientras que Rojas-Aréchiga (2009) menciona que presentan un elaiosoma; sin embargo, ninguno de estos autores realizó trabajos de ontogenia o de la composición química del apéndice seminal.

A continuación, se presentan los resultados de la biología reproductiva del género *Strombocactus*, dando respuesta a las siguientes cuestiones: ¿Cuáles son los sistemas de apareamiento y de cruce en cada taxón de *Strombocactus*? ¿Presentan algún sistema de incompatibilidad? ¿Cuál es el éxito reproductivo (eficiencia en la producción de semillas) de los taxones? ¿Qué implicaciones tienen el sistema de cruce y la incompatibilidad en la vulnerabilidad de los taxones? ¿Qué recompensas florales ofrecen a sus visitantes? y ¿Cuál es la naturaleza y el papel del apéndice seminal en *S. disciformis* durante la dispersión de la semilla?

Organización de la tesis

Capítulo 1. Artículo publicado: Biología reproductiva de la subfamilia Cactoideae (Cactaceae).

Se realizó una exhaustiva revisión sobre algunos aspectos relacionados con la reproducción en la subfamilia Cactoideae, a la cual pertenece *Strombocactus*, el género de estudio de la presente investigación.

Camacho-Velázquez A., Rios-Carrasco S. y Vázquez-Santana S. 2016. Biología reproductiva de la subfamilia Cactoideae (Cactaceae). *Cact. Suc. Mex.* 61(4):100-127.

Capítulo 2. Manuscrito: Mating and incompatibility systems in *Strombocactus* (Cactaceae): an evidence that supports their status as endangered taxa.

Se determinaron los sistemas de apareamiento, los sistemas de cruza y la presencia o ausencia de un sistema de incompatibilidad en los tres taxones, utilizando atributos florales, tratamientos de polinización controlada y la observación de tubos polínicos. Se evaluó si estos rasgos están relacionados con su estado de conservación actual. Asimismo, se realizaron observaciones de visitantes florales.

Manuscrito para ser enviado a publicación.

Capítulo 3. Artículo publicado: The structure of nectaries in the genus *Strombocactus* (Cactaceae).

Se estudió la ubicación, morfología, anatomía, secreción y concentración de néctar en los nectarios florales de cada uno de los taxones, utilizando diversas técnicas de histología y microscopía.

Camacho-Velázquez A., Arias S., Márquez-Guzmán J. y Vázquez-Santana S. 2019. The structure of nectaries in the genus *Strombocactus* (Cactaceae). *Botanical Sciences* 97: 100-109.

Capítulo 4. Artículo publicado: Seed development and germination of *Strombocactus* species (Cactaceae): A comparative morphological and anatomical study.

Se comparó el desarrollo de semillas, la germinación y el establecimiento de plántulas entre los taxones. Con énfasis en el origen y función del apéndice seminal, presente sólo en ambas subespecies de *S. disciformis*. También se analizaron aspectos de la dispersión de las diásporas.

Este manuscrito representa el artículo de requisito del Posgrado en Ciencias Biológicas:

Camacho-Velázquez A., Arias S., García-Campusano F., Sánchez-Martínez E. y Vázquez-Santana S. 2018. Seed development and germination of *Strombocactus* species (Cactaceae): A comparative morphological and anatomical study. *Flora* 242: 89-101.

Literatura citada

- Aguilar R., Ashworth L., Galetto L. y Aizen M.A. 2006. Plant reproductive susceptibility to habitat fragmentation: review and synthesis through a meta-analysis. *Ecology Letters* 9: 968-980.
- Almeida O.J.G., Cota-Sánchez J.H. y Paoli A.A.S. 2013. The systematic significance of floral morphology, nectaries, and nectar concentration in epiphytic cacti of tribes Hylocereeae and Rhipsalideae (Cactaceae). *Perspectives in Plant Ecology, Evolution and Systematics* 15: 255-268.
- Álvarez R., Godínez-Álvarez H., Guzmán U. y Dávila P. 2004. Aspectos ecológicos de dos cactáceas mexicanas amenazadas: implicaciones para su conservación. *Boletín de la Sociedad Botánica de México* 75: 7-16.
- Anderson E.F. 2001. *The Cactus Family*. Timber Press Portland, Oregon.
- Anderson E.F., Arias S. y Taylor N.P. 1994. Threatened cacti of Mexico. *Succulent Plant Research* 2: 1-135.
- Arias S., Guzmán, U., Mandujano, M.C., Soto-Galván, M., Golubov, J., 2005. Las especies mexicanas de cactáceas en riesgo de extinción. I Una comparación entre los listados NOM-059-ECOL-2001 (México), La Lista Roja (UICN) y CITES. *Cactáceas y Suculentas Mexicanas* 50: 100-125.
- Arias S. y Flores J. 2013. La familia Cactaceae. En: Márquez-Guzmán J., Collazo-Ortega M., Martínez-Gordillo M., Orozco-Segovia A. y Vázquez-Santana S. (eds.), *Biología de Angiospermas*. Prensas de la Facultad de Ciencias, UNAM, México, 492-504.
- Arias S. y Sánchez-Martínez E. 2010. Una especie nueva de *Strombocactus* (Cactaceae) del río Moctezuma Querétaro, México. *Revista Mexicana de Biodiversidad* 8: 619-624.
- Baker H.G. 1955. Self-compatibility and establishment after 'long-distance' dispersal. *Evolution* 9(3): 347-349.
- Barrett S.C.H. 2002. The evolution of plant sexual diversity. *Nature Reviews Genetics* 3(4): 274-284.
- Barrett S.C.H. 2014. Evolution of mating systems: outcrossing versus selfing. En: Losos J. (ed.), *The Princeton Guide to Evolution*. Princeton University Press, New Jersey, 356-362.
- Barthlott, W. y Porembski, S.T. 1996. Ecology and morphology of *Blossfeldia liliputana* (Cactaceae): a poikilohydric and almost astomate succulent. *Botanica Acta* 109(2): 161-166.
- Barthlott W., Porembski S.T., Kluge M., Hopke J. y Schmidt L. 1997. *Selenicereus wittii* (Cactaceae): an epiphyte adapted to Amazonian Igapó inundation forests. *Plant Systematics and Evolution* 206: 175-185.
- Bewley J.D., Bradford K.J., Hilhorst H.W.M. y Nonogaki H. 2013. *Seeds. Physiology of Development, Germination and Dormancy*, 3 ed. Springer-Verlag, New York.
- Boesewinkel F.D. y Bouman F. 1984. The Seed: Structure. En: Johri B.J. (ed.), *Embryology of Angiosperms*. Springer-Verlag, Berlin, 567-610.
- Bowers J.E. 2002. Flowering patterns and reproductive ecology of *Mammillaria grahamii* (Cactaceae), a common, small cactus in the Sonoran Desert. *Madroño* 49: 201-206.
- Boyle T.H. 2003. Identification of self-incompatibility groups in *Hattiora* and *Schlumbergera* (Cactaceae). *Sexual Plant Reproduction* 16: 151-155.
- Boyle T.H. e Idnurm A. 2001. Physiology and genetics of self-incompatibility in *Echinopsis chamaecereus* (Cactaceae). *Sexual Plant Reproduction* 13(6): 323-327.
- Bregman R. 1988. Forms of seed dispersal in Cactaceae. *Acta Botanica Neerlandica*, 37(3): 395-402.
- Britton N.L. y Rose J.N. 1922. *The Cactaceae*, 3 vol. The Carnegie Institution of Washington, Washington D.C.
- Busch J.W. y Schoen D.J. 2008. The evolution of self-incompatibility when mates are limiting. *Trends in Plant Science* 13(3): 128-136.
- Buxbaum F. 1953. *Morphology of Cacti*. Section II: Morphology of the Flower. Pasadena: Abbey Garden Press, 93-170.
- Castillo R.A., Cordero C. y Domínguez A.C. 1999. Ecología y evolución de la polinización por engaño. *Boletín de la Sociedad Botánica de México* 64: 57-64.
- Charlesworth D. y Charlesworth B. 1987. Inbreeding depression and its evolutionary consequences. *Annual Review of Ecology and Systematics* 18: 237-268.
- CITES. 2017. *Convención sobre el comercio internacional de especies amenazadas de fauna y flora silvestres*. UNEP Apéndices I, II y III.
- Cruden R.W. 1977. Pollen-ovule ratios: a conservative indicator of breeding systems in flowering plants. *Evolution* 31: 32-46.
- Dafni A. 1992. *Pollination Ecology: a Practical Approach*. Oxford University Press, Oxford, UK.
- De Candolle A.P. 1828. Revue de la famille des cactées. *Mémoires du Muséum D'Histoire Naturelle* 17: 1-119.
- de Nettancourt D. 1997. Incompatibility in angiosperms. *Sexual Plant Reproduction* 10(4): 185-199.
- Del Castillo R.F. 1994. Polinización y otros aspectos de la biología floral de *Ferocactus histrix*. *Cactáceas y Suculentas Mexicanas* 39: 36-42.

- Domínguez C. y Pérez J.R. 2013. La biología de la polinización. En: Márquez-Guzmán J., Collazo-Ortega M., Martínez-Gordillo M., Orozco-Segovia A. y Vázquez-Santana S. (eds.), *Biología de Angiospermas*. Prensas de la Facultad de Ciencias, UNAM, México, 101-109.
- Fleming T.H., Maurice S., Buchmann S.L. y Tuttle M.D. 1994. Reproductive biology and relative male and female fitness in a trioecious cactus, *Pachycereus pringlei* (Cactaceae). *American Journal of Botany* 81(7): 858-867.
- Fuentes V. 2012. *Atributos demográficos y biología reproductiva de Coryphantha cornifera y Stenocactus anfractuosus con fines de conservación*. Tesis de Doctorado. Colegio de Postgraduados. Edo. México, México.
- Fuentes-Pérez M., Terrazas T. y Arias S. 2009. Anatomía floral de cinco especies de *Opuntia* (Opuntioideae, Cactaceae) de México. *Polibotánica* 27: 89-102.
- Glass C. y Arias S., 1996. A new subspecies of *Strombocactus* from the Sierra Gorda in the northeastern portion of the state of Guanajuato, México. *British Cactus & Succulent Journal* 14: 198-204.
- Godínez-Álvarez H., Jiménez M., Mendoza M., Pérez F., Roldán P., Ríos-Casanova L. y Lira R. 2008. Densidad, estructura poblacional, reproducción y supervivencia de cuatro especies de plantas útiles en el Valle de Tehuacán, México. *Revista Mexicana de Biodiversidad* 79(2): 393-403.
- Godínez-Álvarez H., Valiente-Banuet A. y Rojas-Martínez A. 2002. The role of seed dispersers in the population dynamics of the columnar cactus *Neobuxbaumia tetetzo*. *Ecology* 83(9): 2617-2629.
- Goettsch B., Hilton-Taylor C., Cruz-Piñón G., (...), Zavala-Hurtado A. y Gaston K.J. 2015. High proportion of cactus species threatened with extinction. *Nature Plants* 1(10): 15142. DOI: 10.1038/nplants.2015.142
- Goodwillie C., Kalisz S. y Eckert C.G. 2005. The evolutionary enigma of mixed mating systems in plants: occurrence, theoretical explanations, and empirical evidence. *Annual Review of Ecology Evolution and Systematics* 36: 47-79.
- Gorostiague P. y Ortega-Baes P. 2016. How specialized is bird pollination in the Cactaceae? *Plant Biology* 18:63-72.
- Grajales-Conesa J., Meléndez-Ramírez V. y Cruz-López L. 2011. Aromas florales y su interacción con los insectos polinizadores. *Revista Mexicana de Biodiversidad* 82(4): 1356-1367.
- Gudiño W., de la Barrera y Márquez-Guzmán J. 2018. Estructura de los nectarios florales y el néctar en la familia Cactaceae. *Cactáceas y Suculentas Mexicanas* 63(4): 100-126.
- Gudiño W., Márquez-Guzmán J. y de la Barrera E. 2015. Structural implications for nectar secretion by nectaries of three columnar cacti. *Maejo International Journal of Science and Technology* 9: 156-164.
- Hernández H.M., Gómez-Hinostrosa C. y Goettsch B. 2004. Checklist of Chihuahuan Desert Cactaceae. *Harvard Papers in Botany* 9: 51-68.
- Hernández-Cruz R., Barrón-Pacheco F., Sánchez D., Arias S. y Vázquez-Santana S. 2018. Functional dioecy in *Echinocereus*: ontogenetic patterns, programmed cell death, and evolutionary significance. *International Journal of Plant Sciences* 179(4): 257-274.
- Holsinger K.E. 1986. Dispersal and plant mating systems: the evolution of self-fertilization in subdivided populations. *Evolution* 40(2): 405-413.
- Irwin R.E., Adler L.S. y Brody A.K. 2004. The dual role of floral traits: pollinator attraction and plant defense. *Ecology* 85: 1503-1511.
- IUCN, 2019. Red List. <https://www.iucnredlist.org/species/152318/121587897> (acceso 23 noviembre 2019).
- Jiménez C.L. 2008. *Estudios sobre la biología y demografía de Echinocactus platyacanthus Link et Otto, em Zapotitlán de las Salinas, Puebla*. Tesis de Doctorado. Facultad de Ciencias, UNAM. México, D.F.
- Kephart S.R., Brown E. y Hall J. 1999. Inbreeding depression and partial selfing: evolutionary implications of mixed-mating in a coastal endemic, *Silene douglasii* var. *oraria* (Caryophyllaceae). *Heredity* 82: 543-554.
- Kuusk S. 2003. Control of pistil development in *Arabidopsis thaliana* by a novel class of regulatory genes. Acta Universitatis Upsaliensis. *Comprehensive Summaries of Uppsala Dissertations from the Faculty of Science and Technology* 827.
- Levin S.A., Muller-Landau H.C., Nathan R. y Chave J. 2003. The ecology and evolution of seed dispersal: a theoretical perspective. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics* 34(1): 575-604.
- Lindsay G. y Dawson E.Y. 1952 Mammillarias of the islands off northwestern Baja California, Mexico. *Cactus and Succulent Journal* 24: 76-84.
- Lloyd D.G. y Webb C.J. 1986. The avoidance of interference between the presentation of pollen and stigmas in angiosperms I. Dichogamy. *New Zealand Journal of Botany* 24: 135-162.
- Lüthy J.M., 2001. *The Cacti of CITES*. Appendix I. CITES, Berna.
- Mandujano M.C, Carrillo-Ángeles I., Martínez-Peralta C. y Golubov J. 2010. Reproductive Biology of Cactaceae. En: Ramawat K.G. (ed.), *Desert Plants*. Springer-Verlag, Berlín, 197-230.

- Márquez-Guzmán J. 2013. Semilla. En: Márquez-Guzmán J., Collazo-Ortega M., Martínez-Gordillo M., Orozco-Segovia A. y Vázquez-Santana S. (eds.), *Biología de Angiospermas*. Prensas de la Facultad de Ciencias, UNAM, México, 137–149.
- Martínez A. 2018. Biología floral de *Coryphantha elephantidens* Lemaire (Cactaceae) en Sierra de Huautla, Morelos, México. Tesis de Licenciatura. Facultad de Ciencias, UNAM. Mexico.
- Martínez J.G. 2007. *Dinámica poblacional del falso peyote *Astrophytum asterias* (Zucc) Lem. (Cactaceae), una especie amenazada del Noreste de México*. Tesis de Doctorado. Facultad de Ciencias Forestales, Universidad Autónoma de Nuevo León. Nuevo León, México.
- Martínez-Peralta C. y Mandujano M.C. 2012. Biología de la polinización y fenología reproductiva del género *Ariocarpus* Scheidweiler (Cactaceae). *Cactáceas y Suculentas Mexicanas* 57: 114-127.
- Martínez-Peralta C., Molina-Freaner F., Golubov J., Vázquez-Lobo A. y Mandujano M.C. 2014a. A comparative study of the reproductive traits and floral morphology of a genus of geophytic cacti. *International Journal of Plant Sciences* 175: 663-680.
- Martínez-Peralta C., Márquez-Guzmán J. y Mandujano M.C. 2014b. How common is self-incompatibility across species of the herkogamous genus *Ariocarpus*? *American Journal of Botany* 101: 530-538.
- Matias-Palafox, M.L., Jiménez-Sierra, C.L., Golubov, J., Mandujano, M.C., 2017. Reproductive ecology of the threatened “star cactus” *Astrophytum ornatum* (Cactaceae): a strategy of continuous reproduction with low success. *Botanical Sciences* 95: 245-258.
- McCall A.C. y Irwin R.E. 2006. Florivory: the intersection of pollination and herbivory. *Ecology Letters* 9(12): 1351-1365.
- McIntosh M.E. 2002. Plant size, breeding system, and limits to reproductive success in two sister species of *Ferocactus* (Cactaceae). *Plant Ecology* 162:273-288.
- Molina-Freaner F., Rojas-Martínez M., Fleming T.H. y Valiente-Banuet A. 2004. Pollination biology of the columnar cactus *Pachycereus pecten-aboriginum* in north-wetern Mexico. *Journal of Arid Environments* 56: 117-127.
- Nassar J.M., Hamrick J.L. y Fleming T.H. 2001. Genetic variation and population structure of the mixed-mating cactus, *Melocactus curvispinus* (Cactaceae). *Heredity* 87: 69-79.
- Nassar J.M., Hamrick J.L. y Fleming T.H. 2003. Population genetic structure of Venezuelan chiropterophilous columnar cacti (Cactaceae). *American Journal of Botany* 90: 1628-1637.
- Nassar J.M., Ramirez N. y Linares O. 1997. Comparative pollination biology of Venezuelan columnar cacti and the role of nectarfeeding bats in their sexual reproduction. *American Journal of Botany* 84: 918-918.
- Neal P.R. y Anderson G.J. 2005. Are ‘mating systems’ breeding systems’ of inconsistent and confusing terminology in plant reproductive biology? or is it the other way around?. *Plant Systematics and Evolution* 250(3-4): 173-185.
- Olmos-Lau V.R. 2016. Demografía para la conservación de *Strombocactus disciformis* (DC.) Britton & Rose, en la localidad Agua del Ángel en el municipio de Peñamiller, Querétaro, México. Tesis de Licenciatura. Facultad de Ciencias, UNAM. México.
- Olmos-Lau V.R. y Mandujano M.C. 2016. An open door for illegal trade: online sale of *Strombocactus disciformis* (Cactaceae). *Nature Conservation* 15: 1-9.
- Orozco-Arroyo G. y Vázquez-Santana S. 2013. Sistemas de reproducción sexual. En: Márquez-Guzmán J., Collazo-Ortega M., Martínez-Gordillo M., Orozco-Segovia A. y Vázquez-Santana S. (eds.), *Biología de Angiospermas*. Prensas de la Facultad de Ciencias, UNAM, México, 158-166.
- Orozco-Arroyo G., Vázquez-Santana S., Camacho A., Dubrovsky J.G. y Cruz-García F. 2012. Inception of maleness: auxin contribution to flower masculinization in the dioecious cactus *Opuntia stenopetala*. *Planta* 236: 225-238.
- Pimienta-Barrios E. y Del Castillo R.F. 2002. Reproductive biology. En: Nobel P.S. (ed.), *Cacti: Biology and Uses*. University of California Press, Berkeley, 75-90.
- Rebman J.P. 2001. The succulents of Islote Toro, Baja California, Mexico. *Cactáceas y Suculentas Mexicanas* 46: 52-55.
- Rebman J.P., Oberbauer T.A. y de la Luz J.L.L. 2002. The flora of Toro islet and notes on Guadalupe Island, Baja California, Mexico. *Madroño* 49(3): 145-149.
- Reyes-Agüero J.A. y Valiente-Banuet A. 2006. Reproductive biology of *Opuntia*: a review. *Journal of Arid Environments* 64(4): 549-585.
- Richards A.J. 1997. *Plant breeding systems*. Chapman & Hall, Cambridge.
- Rivera-Marchand B. y Ackerman J.D. 2006. Bat pollination breakdown in the Caribbean columnar cactus *Pilosocereus royenii*. *Biotropica* 38: 635-642.
- Rojas-Aréchiga M. 2009. ¿Qué es el elaiosoma? *Boletín de la Sociedad Latinoamericana y del Caribe de Cactáceas y otras Suculentas* 6(2): 10-12.

- Romero L. 2012. Los consumidores de frutos del cactus globoso *Mammillaria mammillaris* y su relevancia en la dispersión y germinación de semillas". Tesis de Maestría. Universidad de los Andes. Mérida, Venezuela.
- Sahley C.T. 1996. Bat and hummingbird pollination of an autotetraploid columnar cactus, *Weberbauerocereus weberbaueri* (Cactaceae). *American Journal of Botany* 83: 1329-1336.
- Sánchez D. y Vázquez-Santana S. 2018. Embryology of *Mammillaria dioica* (Cactaceae) reveals a new male sterility phenotype. *Flora* 241: 16-26.
- Sánchez-Martínez E., Chávez-Martínez R.J., Hernández-Oria J.G. y Hernández-Martínez M.M. 2006. *Especies de Cactáceas Prioritarias Para la Conservación en La Zona Árida Queretano-Hidalguense*. Consejo de Ciencia y Tecnología del Estado de Querétaro, Querétaro.
- Sánchez-Mejorada H. 1982. Problemas en el control del comercio de las cactáceas. *Cactáceas y Suculentas Mexicanas* 27: 27-32.
- Sánchez-Salas J., Jurado E., Flores J., Estrada-Castillón E. y Muro-Pérez G., 2012. Desert species adapted for dispersal and germination during floods: experimental evidence in two *Astrophytum* species (Cactaceae). *Flora* 207: 707-711
- Sanz V. y Nassar J.M. 2007. Ecología de la dispersión de semillas de *Melocactus curvispinus*. *Boletín de la Sociedad Latinoamericana y del Caribe de Cactáceas y otras Suculentas* 4(2): 7.
- SEMARNAT. 2010. Norma Oficial Mexicana NOM-059-ECOL-2010. Protección Ambiental-Especies Nativas de México de Flora y Fauna Silvestres. Categorías de Riesgo y Especificaciones para su Inclusión, Exclusión o Cambio. Diario Oficial. 2ª Sección, Ciudad de México.
- Soriano P.J., Naranjo M.E., Rengifo C., Figuera M., Rondón M. y Ruiz R.L. 1999. Aves consumidoras de frutos de cactáceas columnares del enclave semiárido de Lagunillas, Mérida, Venezuela. *Ecotropicos* 12(2): 91-100.
- Strong A.W. y Williamson P.S. 2007. Breeding system of *Astrophytum asterias*: an endangered cactus. *The Southwestern Naturalist* 52(3): 341-346.
- Van Der Pijl L., 1972. *Principles of Dispersal in Higher Plants*, 2 ed. Springer-Verlag, New York.
- van Kleunen M., Manning J.C., Pasqualetto V. y Johnson S.D. 2008. Phylogenetically independent associations between autonomous self-fertilization and plant invasiveness. *The American Naturalist* 171(2): 195-201.
- Vervoort A., Cawoy V. y Jacquemart A.L. 2011. Comparative reproductive biology in co-occurring invasive and native *Impatiens* species. *International Journal of Plant Sciences* 172(3): 366-377.
- Webb C.J. y Lloyd D.G. 1986. The avoidance of interference between the presentation of pollen and stigmas in angiosperms II. Herkogamy. *New Zealand Journal of Botany* 24: 163-178.
- Wilcock C. y Neiland R. 2002. Pollination failure in plants: why it happens and when it matters. *Trends in Plant Science* 7(6): 270-277.
- Willson M.F. y Traveset A. 2000. The ecology of seed dispersal. En: Fenner M. (ed.), *Seeds: The Ecology of Regeneration in Plant Communities*, 2 ed. CAB International. Wallingford, 85-110.
- Zepeda V., Golubov J. y Mandujano M.C.S. 2017. Distribución espacial, estructura de tamaños y reproducción de *Astrophytum ornatum* (Cactaceae). *Acta Botánica Mexicana* (119): 35-49.

Capítulo 1

Biología reproductiva de la subfamilia Cactoideae (Cactaceae)

Publicado en *Cactáceas y Suculentas Mexicanas*

Biología reproductiva de la subfamilia Cactoideae (Cactaceae)

Camacho-Velázquez Aldebaran^{1*}, Rios-Carrasco Sandra¹ & Vázquez-Santana Sonia^{1*}

Resumen

Las especies de la subfamilia Cactoideae presentan una gran variedad de sistemas y combinaciones reproductivas eficientes para dejar descendencia. Algunas especies tienen la capacidad de reproducirse tanto sexual (lo cual incluye meiosis y fecundación) como asexualmente (apomixis y propagación vegetativa). La reproducción asexual puede favorecer combinaciones de genes probados, pero que a su vez fueron adquiridos por vía sexual. En Cactoideae como en el resto de las angiospermas, los atributos florales como la presencia o ausencia de dicogamia, hercogamia o de sistemas de incompatibilidad, la producción de flores unisexuales, la eficiencia de los polinizadores y la forma de dispersión de los propágulos van a determinar la forma en que se unen los gametos para realizar la fecundación (autogamia o alogamia). Los sistemas de cruce que se han reportado en Cactoideae son 83 especies que presentan entrecruza y 38 con sistemas mixtos (entrecruza y autocruza).

Palabras clave: Sistemas de cruce, sistemas sexuales.

Abstract

The species of the subfamily Cactoideae exhibit a wide variety of sexual systems and efficient reproductive combinations to leave offspring. Some species have the ability to reproduce both sexually (which includes meiosis and fertilization) and asexually (apomixis and vegetative propagation). Asexual reproduction can encourage combinations of tested genes but forgo the possibility of increased genetic diversity. In Cactoideae as in the rest of angiosperms, floral traits such as the presence or absence of dichogamy, herkogamy, incompatibility systems, production of unisexual flowers, the efficiency of pollinators and the form of propagule dispersal will determine how gametes are combined during fertilization (selfing or outcrossing). In the Cactoideae 83 species have been reported to have an outcrossing mating system and 38 are reported as having mixed mating system.

Keywords: Mating systems, breeding systems.

Introducción

La biología reproductiva estudia los diferentes aspectos involucrados en la reproducción de una especie para dejar descen-

dencia. En el caso de las plantas abarca los mecanismos de propagación (sexual y/o asexual), los sistemas de cruce, la biología floral, la expresión del sexo, las recompensas ofrecidas a los visitantes florales, los agentes

¹ Laboratorio de Desarrollo en Plantas. Departamento de Biología Comparada, Facultad de Ciencias, Universidad Nacional Autónoma de México, 04510, Ciudad de México, México.

*Autores de correspondencia: aldebis84@yahoo.com.mx, svvs@ciencias.unam.mx

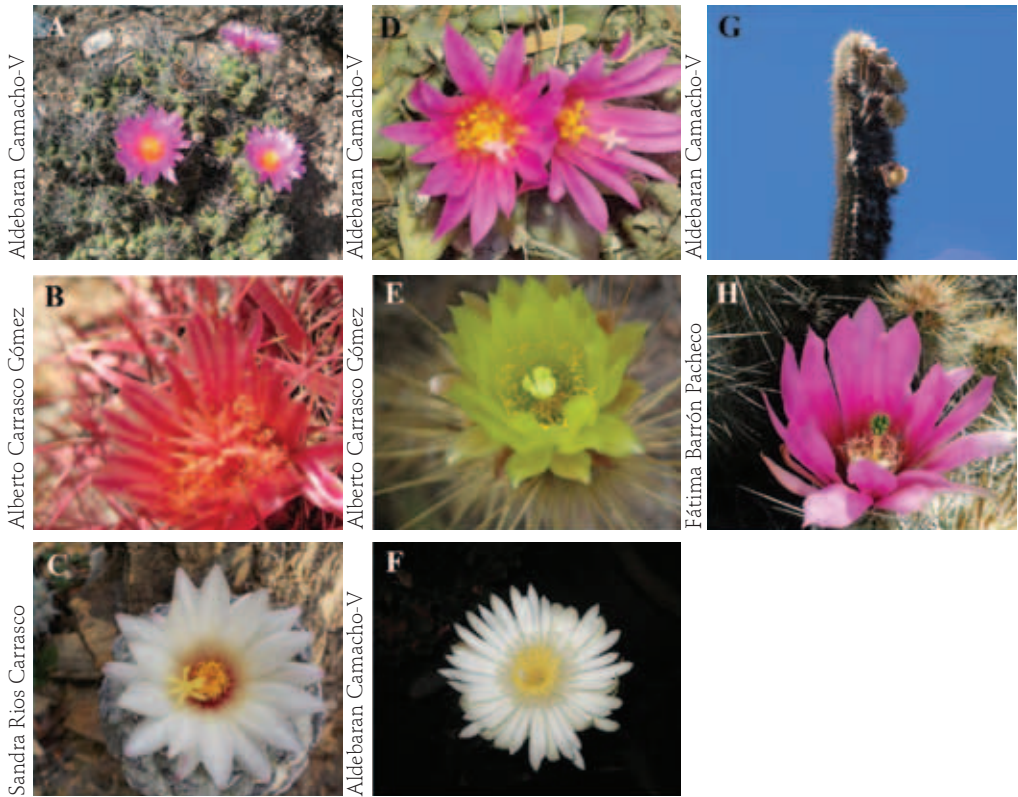


FOTO 1. Diversidad de flores en Cactoideae. A) *Echinocereus cinerascens*. B) *Ferocactus gracilis*. C) *Strombocactus disciformis* subsp. *disciformis*. D) *Turbinicarpus alonsoi*. E) *Bergerocactus emoryi*. F) *Peniocereus* sp. G) *Pilosocereus* sp. H) *Echinocereus* sp.

polinizadores, los dispersores de semillas y su interacción con el ambiente (Richards 1997). Dichas características conformarán estrategias reproductivas que definan la sobrevivencia y el mantenimiento de las poblaciones.

Entre las estrategias reproductivas se encuentran la reproducción sexual por medio de la fecundación, y la reproducción asexual que implica propagación vegetativa y en algunos casos apomixis (Reyes-Agüero *et al.* 2006; Godínez-Álvarez *et al.* 2008). La reproducción sexual de una determinada especie puede ocurrir por medio de autocruza o entrecruza, que son las vías en las que los gametos se dispersan y se unen para llevar a cabo la fecundación (Richards 1997; Tepedi-

no *et al.* 2010). La forma en la cual se unen los gametos para efectuar la fecundación, o bien, los sistemas de cruza, dependerán de varios atributos florales como la separación temporal (dicogamia) y espacial (hercogamia) de los órganos sexuales, la presencia o ausencia de sistemas de autoincompatibilidad, y de la producción de flores unisexuales tanto en el mismo individuo (monoicismo) como en individuos diferentes (dioicismo; Barret 1998, 2002; Ainsworth 2000). Asimismo, dichas características están relacionadas con la presencia y la conducta de los polinizadores (Kephart *et al.* 1999). A largo plazo, eventos como la polinización, la fecundación y la posterior dispersión de las semillas establecerán la distancia

genética entre los individuos de una misma especie y la manera en la cual se combine la información genética que se transmite de generación en generación (Baker 1955).

En la familia Cactaceae la amplia versatilidad reproductiva en algunos de sus géneros, desempeña un papel importante en la estrategia ecológica de adaptación a la aridez. Hay especies que tienen la capacidad de reproducirse sexual y asexualmente (Reyes-Agüero *et al.* 2006; Mandujano *et al.* 2010; Arias & Flores 2013). La subfamilia Cactoideae cuenta con aproximadamente 107 géneros distribuidos en nueve tribus (Anderson 2001; Arias & Flores 2013). La información sobre la biología reproductiva es escasa en este grupo debido a sus características de lento crecimiento, ciclos de vida largos, a la diversidad de formas de vida, a sus rutas fotosintéticas y variedades florales. La investigación realizada se ha centrado en estudiar la morfología, fisiología y taxonomía (Mandujano *et al.* 2010). En este trabajo se concentra información que aborda el conocimiento sobre las características de las flores, los sistemas de reproducción sexual, los sistemas de cruce y los polinizadores en la subfamilia Cactoideae.

Las flores en Cactoideae

Una de las características que distinguen a las cactáceas es la presencia de aréolas. Se trata de zonas meristemáticas con la capacidad de dar origen a tallos, hojas o flores (Bravo-Hollis 1978), generalmente se forma una flor por aréola (Anderson 2001). Las flores de las Cactoideae son sésiles, solitarias o raramente agrupadas, de color blanco, amarillo, naranja, rojo, púrpura o rosa, generalmente con simetría actinomorfa, pocas especies presentan simetría zigomorfa como las de *Cleistocactus* y *Schlumbergera*

(Gibson & Nobel 1986). Pueden ser diurnas o nocturnas, de 1 a 30 cm de longitud (Anderson 2001; Arias & Flores 2013; Foto 1). La mayoría de las flores de Cactoideae son hermafroditas, sin embargo, de las especies estudiadas hasta el momento nueve presentan flores unisexuales (Rebman 2001; Orozco-Arroyo *et al.* 2012).

Sistemas sexuales

Los sistemas de reproducción sexual incluyen todos los aspectos de la expresión sexual en las flores, como la forma en la cual el androceo y el gineceo se posicionan temporal, espacial y funcionalmente en los individuos de una población (distribución del sexo). Esto afecta la contribución genética relativa hacia la siguiente generación de los individuos de una especie, teniendo consecuencias directas sobre los sistemas de cruce (Thomson & Barrett 1981; Dafni 1992; Barrett 1998). Entre el 90 - 94 % de las angiospermas son hermafroditas (Dellaporta & Calderón-Urrea 1993; Renner & Ricklefs 1995). La presencia de ambos órganos reproductivos en una flor bisexual aumenta la posibilidad de la autopolinización, comprometiendo la variabilidad genética de las especies (Kuusk 2003). Las angiospermas presentan diversos mecanismos reproductivos para impedir los efectos deletéreos de la depresión endogámica, promoviendo la variabilidad genética y la heterocigosis. Entre estos mecanismos se encuentran: 1) La producción de flores unisexuales femeninas o masculinas en la misma planta, conocido como monoicismo; o en diferentes individuos, llamado dioicismo como en *Echinocereus coccineus* (Hoffman 1992). 2) La dicogamia o separación temporal en las funciones masculinas y femeninas de flores hermafroditas, mediante dos tipos, la pro-

toginia que ocurre cuando los estigmas son receptivos antes de que se libere el polen, y la protandria cuando el polen se libera antes de que los estigmas sean receptivos. 3) La hercogamia es un mecanismo que implica la separación espacial de estigmas y de anteras dentro de la misma flor como en *Oreocereus celsianus* (Larrea-Alcázar & López 2011). 4) La autoincompatibilidad es la incapacidad de una planta hermafrodita de producir cigotos fértiles producto de la autopolinización (Dellaporta & Calderón-Urrea 1993; Barret 1998, 2002; Ainsworth 2000; Cruz *et al.* 2001).

La mayoría de las especies de cactáceas son hermafroditas, pero rara vez son unisexuales por atrofia de los estambres o del pistilo (Arreola 1997). Sin embargo, sólo 28 especies agrupadas en 8 géneros se han reportado con poblaciones con un tipo diferente a la condición hermafrodita, tales como los sistemas: dioico, ginodioico, trioico y subdioico (Rebman 2001; Orozco-Arroyo *et al.* 2012). Dentro de la subfamilia Cactoideae las especies *Echinocereus coccineus* (Hoffman 1992; Foto 2A-B), *E. polyacanthus* (Hernández 2011) y *E. yavapaiensis* (Baker 2006) presentan un sistema dioico. Algunas especies que presentan poblaciones ginodioicas son *Selenicereus innesii* (Kimnach 1982), *Mammillaria blossfeldiana* (Rebman 2001), *M. dioica* (Lindsay & Dawson 1952; Sánchez 2007), *M. neopalmeri* (Lindsay & Dawson 1952) y *Pachycereus pringlei* (Fleming *et al.* 1994; Foto 2C), estas últimas tres especies al igual que *Echinocereus mombergerianus* (Rebman 2003) también presentan poblaciones con un sistema trioico. Estos trabajos están sustentados, en la mayoría de ellos, en el desarrollo floral y viabilidad de los gametos. En general, las especies que presentan flores unisexuales inician el desarrollo de primor-

dios estaminales y carpelares. Conforme avanza el desarrollo embriológico, factores genéticos que desencadenan la muerte celular programada (MCP) y que regulan los niveles hormonales, causan el detenimiento del desarrollo de uno de los dos verticilos sexuales (Dellaporta & Calderón-Urrea, 1994; Greenberg 1996; Calderón-Urrea & Dellaporta, 1999; Coimbra *et al.* 2004; Hartwig *et al.* 2011; Orozco-Arroyo *et al.* 2012; Golenberg & West 2013; Flores-Rentería *et al.* 2013).

En dos especies de la subfamilia Opuntioideae: *Opuntia stenopetala* (Flores-Rentería *et al.* 2013) y *O. robusta* (Alfaro 2008) se ha propuesto que ocurre MCP atemporal o errónea en anteras de flores femeninas, lo que puede originar esterilidad masculina. Mientras que en *O. robusta* (Hernández 2008) y *Echinocereus polyacanthus* (Cactoideae), células de la placenta y óvulos (específicamente en el funículo y la nucela) de flores masculinas presentan MCP, lo cual conduce a la esterilidad femenina (Hernández 2011). Por otra parte, en *O. stenopetala* se ha propuesto que las auxinas juegan un papel importante durante el desarrollo del gineceo, sugiriendo que modificaciones en la homeostasis de las auxinas son fundamentales en la evolución de la unisexualidad en esta especie, es decir, una baja acumulación de auxinas en etapas tempranas del desarrollo del gineceo lleva a una interrupción en la diferenciación y/o en el crecimiento carpelar, originando flores estériles femeninas (Orozco-Arroyo *et al.* 2012). Por lo tanto, se puede sugerir que la MCP y/o modificaciones en la homeostasis de alguna fitohormona pueden estar involucradas en la unisexualidad de las especies de Cactoideae que presentan flores estaminadas o pistiladas.



FOTO 2. Especies con flores unisexuales. A) Flor femenina de *Echinocereus coccineus*. B) Flor masculina de *Echinocereus coccineus*. C) Individuo femenino de *Pachycereus pringlei*.

Una cuestión relevante para las especies con poblaciones dioicas, es que para que se formen semillas se requiere de vectores que transporten el polen (Bawa 1980; Bawa y Beach 1981). En caso de ser polinizadas por animales, la producción de semillas se ve comprometida por la reducción de individuos con flores que contienen un solo tipo de gametos o por escasez de polinizadores. Se dificulta el arribo de gametos provenientes de plantas masculinas a flores de plantas femeninas, resultando en una baja tasa de reclutamiento de nuevos individuos.

Dicogamia, hercogamia y sistemas de incompatibilidad

Existen otros mecanismos que favorecen la entrecruza en flores hermafroditas. Uno de ellos es la dicogamia (separación temporal de los sexos), un mecanismo poco explorado dentro de las cactáceas, con casos de protandria (Mandujano *et al.* 2010). En *Hylocereus* spp. el estigma es receptivo alrededor de tres horas después de la dehiscencia de las

anteras (Pimienta-Barrios & Del Castillo 2002). Un patrón similar de protandria exhibe *Pilosocereus royenii* (Rivera-Marchand & Ackerman 2006) y siete especies del género *Ariocarpus* (Martínez-Peralta *et al.* 2014a; Cuadro 1). Para este último género, los autores mencionan que a nivel poblacional, las flores tienen una longevidad de dos días, de tal manera que el primer día funcionan como donadoras de polen y el segundo como receptoras de éste. Asimismo, señalan que en *A. fissuratus* la mayoría de las flores tienen el estigma receptivo dos horas después de la liberación del polen. Por otra parte, cuando la receptividad del estigma y liberación de polen se sobrelapan, se considera como dicogamia incompleta (Lloyd & Webb 1986) como ocurre en las especies del género *Ariocarpus* (Martínez-Peralta *et al.* 2014a).

Otro caso particular de protandria es el de *Ferocactus histrix*, en donde la liberación de polen ocurre los dos o tres primeros días de antesis, mientras que los lóbulos estigmáticos permanecen cerrados. En los

próximos dos días los lóbulos estigmáticos se extienden y sirven de plataforma de aterrizaje para los polinizadores y de esta manera el polen de otra flor puede ser depositado (Del Castillo 1994). En dicho caso se ha visto que la autogamia es poco o nada efectiva para la formación de frutos y semillas (Del Castillo 1994). La protandria parece ser un mecanismo efectivo para disminuir la autofecundación e incrementar la entrecruza, sin embargo, la endogamia se puede dar por vía geitonogamia en los individuos que presenten una maduración asincrónica de sus flores (Del Castillo 1988).

El segundo mecanismo es la hercogamia, una separación espacial entre las anteras y el estigma, y “aparentemente” es un mecanismo frecuente entre las cactáceas (Mandujano *et al.* 2010). Se ha observado que esta diferenciación espacial generalmente está vinculada genéticamente a un sistema de autoincompatibilidad, lo cual ha servido para proponer que la hercogamia tiene la función de evitar la interferencia entre las anteras y el estigma (Webb & Lloyd 1986). Dentro de la subfamilia Cactoideae algunos ejemplos de especies que presentan estilos más largos que los estambres y sistemas de incompatibilidad son siete especies del género *Ariocarpus* (autoincompatibilidad parcial; Martínez-Peralta *et al.* 2014a, 2014b), *Cleistocactus baumannii*, *C. smaragdiflorus* (Gorostiague & Ortega-Baes 2016), *Coryphantha cornifera*, *Stenocactus anfractuosus* (Fuentes 2012), *Peniocereus greggii*, *P. striatus* (Raguso *et al.* 2003), *Pilosocereus lanuginosus* (Nassar *et al.* 2003) y *Stenocereus queretaroensis* (Ibarra-Cerdeña *et al.* 2005). Sin embargo, algunas especies que presentan algún grado de hercogamia son autocompatibles, por ejemplo: *Echinocactus platyacanthus* (Jiménez 2008),

Melocactus curvispinus (Nassar *et al.* 2001), *Pilosocereus moritzianus* (Nassar *et al.* 1997), *P. royenii* (Rivera-Marchand & Ackerman 2006) y *Wigginsia vorwerckiana* (Chaves 2000; Cuadro 1).

La hercogamia puede ser un proceso variable y dinámico dentro de las poblaciones de algunas especies que carecen de un sistema de autoincompatibilidad (Nassar & Ramírez 2004; Jiménez 2008), lo que provoca que las anteras de algunas flores alcancen el nivel del estigma durante el ciclo de vida floral, y al momento del cierre de la flor las anteras colapsen contra los lóbulos estigmáticos favoreciendo la autopolinización. Esto ha sido reportado para *Hypoxis decumbens* (Hypoxidaceae; Raimúndez & Ramírez 1998), donde dicho mecanismo asegura la producción de semillas en plantas autocompatibles con entrecruza, un “seguro contra fallas” (Faegri & Van Der Pijl 1979). Otra posibilidad de asegurar la autofecundación es que durante la antesis las anteras estén liberando polen y el estigma se encuentre receptivo, y por los movimientos de cierre y apertura de la flor se provoque el contacto entre ellos.

Estos dos mecanismos de dicogamia y hercogamia que varias especies hermafroditas han desarrollado para evitar en gran medida la autopolinización y promover la entrecruza actúan más como promotores del intercambio de polen que como barreras para la autofecundación (Webb & Lloyd 1986; Lloyd & Webb 1986). Por lo tanto, aún existe la posibilidad de introgresar con los padres, con otros individuos de la progeñie o con parientes genéticamente muy cercanos. Para contender con este problema, un gran número de especies desarrollaron un mecanismo genético-bioquímico de reconocimiento y rechazo específico del polen, conocido como sistema de autoincom-

patibilidad (Jiménez-Durán & Cruz-García 2011; Cruz-García & González-Zamora 2013). La autoincompatibilidad se distribuye ampliamente en las angiospermas y se ha descrito en miembros de 91 de 415 familias (Cruz-García & González-Zamora 2013). Este mecanismo le permite al pistilo reconocer y rechazar el polen propio y aceptar aquel de plantas genéticamente relacionadas, fomentando la polinización cruzada y evitando la endogamia (Jiménez-Durán & Cruz-García 2011; Ávila & Cruz-García 2011). La autoincompatibilidad está controlada genéticamente por el locus multialélico *S*, el cual codifica la determinante masculina (expresada en el polen) y la femenina (expresada en el pistilo), especificando la reacción del reconocimiento y rechazo del polen. Hay dos tipos de autoincompatibilidad a nivel genético: a) el sistema de autoincompatibilidad gametofítico (SIG) y b) el sistema de autoincompatibilidad esporofítico (SIE). En los sistemas SIG los componentes que determinan la incompatibilidad son expresados por el genotipo haploide del polen (gametofito masculino), mientras en los SIE la incompatibilidad está determinada por el genotipo diploide de la planta madre (esporofito; Jiménez-Durán & Cruz-García 2011; Cruz-García & González-Zamora 2013).

Los métodos más frecuentes para determinar si las plantas presentan sistemas de incompatibilidad son la comparación entre el éxito reproductivo en polinizaciones controladas de autocruza y de entrecruza, así como la observación del crecimiento del tubo polínico y la formación de las semillas en ambos tratamientos (Martínez-Peralta *et al.* 2014a, 2014b). Dentro de la familia Cactaceae los sistemas de autoincompatibilidad han sido poco estudiados, sin embargo, algu-

nos autores mencionan que se encuentran a lo largo de la filogenia (Strong & Williamson 2007). Algunos autores han propuesto la presencia de autoincompatibilidad total o parcial como respuesta a la formación de frutos en experimentos de autopolinización controlada y crecimiento de tubos polínicos en la subfamilia Cactoideae, por ejemplo, en siete especies de *Ariocarpus* (Martínez-Peralta *et al.* 2014b), y en *Echinopsis chamaecereus* (Boyle & Idnurm 2001), *Hattiora gaertneri*, *H. rosea*, *H. × graeseri* (Boyle 2003), *Schlumbergera russelliana*, *S. truncata* y *S. × buckleyi* (Boyle 1997, 2003), *Astrophytum asterias* (Martínez 2007; Strong & Williamson 2007), *Cleistocactus baumannii* (Gorostiague & Ortega-Baes 2016), *Coryphanta cornifera*, *Stenocactus anfractuosus* (Fuentes 2012), para otras especies revisar Cuadro 1.

Los sistemas de autoincompatibilidad tienen consecuencias significativas en poblaciones pequeñas de especies amenazadas o raras, ya que limitan el número de cruzas compatibles en una población, debido a que existe mayor dificultad de encontrar una pareja para formar descendencia (efecto Allee, Busch & Schoen 2008). Asimismo, el despliegue floral se ve desfavorecido o limitado y posiblemente hay una disminución en la cantidad de polinizadores. La producción de progenie vía autofecundación a través de los genotipos compatibles, podría llevar a la pérdida de sistemas de autoincompatibilidad y con esto los individuos puedan autofecundarse y adicionar individuos a la población de una manera menos costosa (Stephenson *et al.* 2000), como puede ocurrir para *Ariocarpus agavoides*, *A. kotschoubeyanus*, *A. bravoanus*, *A. fissuratus*, *A. retusus*, *A. trigonus* (Martínez-Peralta *et al.* 2014b), *Ferocactus cylindraceus*, *F. wislizeni* (McIntosh 2002) y *Oreocereus celsianus* (Larrea-Alcázar

& López 2011), ya que además de producir pocas flores presentan un sistema autoincompatible parcial, lo que podría sugerir que estos sistemas no son estáticos en dichas poblaciones. La autoincompatibilidad no es un carácter discreto, puesto que las poblaciones pueden variar de ser completamente autoincompatibles hasta mostrar variación intra o inter-poblacional dependiendo de lo estricto en el sistema de autoincompatibilidad (Ferrer & Good-Avila 2007).

Sistemas de cruza

Los sistemas de cruza representan las vías en las que los gametos se dispersan y se unen para formar semillas, y son la autocruza y la entrecruza (Richards 1997; Tepedino *et al.* 2010). La autocruza es cuando el polen de una flor es depositado sobre el estigma de la misma flor, o cuando el polen de una flor es transferido a otra flor del mismo individuo. De esta manera se asegura la fecundación de un individuo en condiciones adversas o en ausencia de polinizadores efectivos, además tiene un bajo costo energético. Sin embargo, promueve la pérdida de heterocigosidad y la descendencia presenta depresión por endogamia (Kephart *et al.* 1999). En cambio, la entrecruza ocurre cuando el polen de una flor es transportado al estigma de otra flor de diferente individuo. La entrecruza promueve el intercambio genético generando diversidad en la descendencia. El gasto energético es mayor porque debe ofrecer recompensas para los polinizadores; sin embargo, la entrecruza puede ocurrir entre parientes cercanos sin excluir que la población padezca depresión endogámica (Richards 1997; Tepedino *et al.* 2010). Existe un último sistema de cruza, el mixto, el cual combina las características de los dos anteriores. Los sistemas mixtos se han

calificado como una transición entre los dos extremos del gradiente entrecruza y autogamia (Barrett 2002). Las especies que poseen este tipo de sistema promueven la recombinación y también aseguran la reproducción. Sin embargo, al producir semillas por autofecundación enfrentan depresión por endogamia y una reducción en la adecuación de la población (Charlesworth & Charlesworth 1987; Barrett 2000). Una evaluación precisa sobre los sistemas de cruza puede obtenerse de manera directa, mediante tratamientos de polinizaciones controladas (Dafni 1992). Es posible hacer una aproximación de cómo se da el encuentro de los gametos mediante los atributos florales, estas características en conjunto (denominadas sistemas de apareamiento) están estrechamente asociados a la autocruza y a la entrecruza (Ornduff 1969). Se han propuesto dos niveles para categorizar a los sistemas de apareamiento (Cruden 1977). El primero se basa en las características florales y se conoce como índice de entrecruza. Éste toma en consideración la hercogamia, la dicogamia y el diámetro de la flor. El segundo es el cociente polen/óvulos (P/O). El sistema de apareamiento definido a partir de características florales es un acercamiento al sistema de cruza de una especie (Dafni 1992).

Los sistemas de cruza en la familia Cactaceae se relacionan en parte con la forma de vida y longevidad de las especies concernientes a cada subfamilia, así como sus interacciones bióticas y abióticas. Dentro de las especies pertenecientes a la subfamilia Pereskioideae prevalece la entrecruza, en cambio en Opuntioideae y Cactoideae existe la entrecruza, autocruza y sistemas mixtos (Mandujano *et al.* 2010). En la tribu Cactaeae de la subfamilia Cactoideae, algunos



FOTO 3. Especies con sistema mixto A) *Echinocactus platyacanthus* y B) *Hylocereus undatus*, con entrecruza C) *Neobuxbaumia mezcalaensis*.

ejemplos de taxa que presenta entrecruza son: *Ariocarpus scaphirostris* (Martínez-Peralta *et al.* 2014a, 2014b), *Coryphanta cornifera* (Fuentes 2012), *Mammillaria huitzilopochtli* (principalmente autoincompatible, xenógamo facultativo; Flores-Martínez *et al.* 2013), entre otras especies (Cuadro 1); con sistemas mixtos seis especies del género *Ariocarpus* (con sistema de autoincompatibilidad gametofítico (SIG) parcial, xenógamo facultativo; Martínez-Peralta *et al.* 2014b), *Echinocactus platyacanthus* (xenógamo facultativo; Jiménez 2008; Foto 3A), *Ferocactus cylindraceus*, (autoincompatible parcial; McIntosh 2002), posiblemente *Epithelantha micromeris* subsp. *bokei* y *Mammillaria prolifera* subsp. *multiceps*, ya que son autocompatibles (Ross 1981), así como *M. humboldtii* que presenta un sistema de apareamiento xenógamo facultativo (Martínez-Ramos *et al.* 2015; Cuadro 1).

En la tribu Cereeae los ejemplos de especies con entrecruza son *Cereus horrispinus*, *C. repandus* (Nassar *et al.* 1997), *Melocactus*

glaucescens (Colaço *et al.* 2006), *Pilosocereus chrysacanthus* (Valiente-Banuet *et al.* 1997b) y *P. lanuginosus* (Nassar *et al.* 2003). Con sistema mixto *Cereus portoricensis* (Rojas-Sandoval & Meléndez-Akerman 2009), *Melocactus andinus*, *M. schatzlii* (en esta última predomina la entrecruza; Nassar *et al.* 2007), *M. curvispinus* (Nassar *et al.* 2001; Nassar & Ramírez 2004), *M. paucispinus* (Colaço *et al.* 2006; Lambert *et al.* 2006), *Pilosocereus moritzianus* (autoincompatible parcial, xenógamo facultativo; Nassar *et al.*, 1997), *P. royenii* (Rivera-Marchand & Ackerman 2006) y posiblemente *Melocactus matanzanus* por ser autocompatible (Ross 1981; Cuadro 1). En la revisión realizada por Mandujano *et al.* (2010), con base en la tasa de entrecruza, se menciona que las especies de esta tribu en su mayoría presentan sistemas de cruza mixtos que tienden hacia la autofecundación, con pocos representantes que tienen entrecruza.

Dentro de la tribu Hylocereeae los ejemplos de entrecruza son *Hylocereus cos-*

Aldebaran Camacho Velázquez

FOTO 4. Especie clonal *Ferocactus robustus*.

taricensis (Weiss *et al.* 1994). Con sistema mixto *Hylocereus lemairei*, *H. undatus* (Foto 3B) y *Selenicereus megalanthus* (autoincompatibles débiles; Lichtenzweig *et al.* 2000; Cuadro 1). En un estudio previo por Weiss *et al.* (1994) donde realizaron polinizaciones controladas, no se desarrolló ningún fruto cuando realizaron autopolinizaciones para *H. lemairei*, por lo que los individuos utilizados pueden ser autoincompatibles o hay alta depresión endogámica en otros alelos.

En la tribu Notocactae una especie que presenta entrecruza es *Parodia haselbergii* (Ross 1981). Con sistema mixto *Wigginsia vorwerckiana* (Chaves 2000; Cuadro 1).

En Pachycereeae las especies con entrecruza son *Echinocereus papillosus* (Ross 1981), *Leptocereus scopulophilus* (Valdés *et al.* 2011), *Neobuxbaumia macrocephala*, *N. mezcalaensis* (Valiente-Banuet *et al.* 1997a; Foto 3C), *Pachycereus weberi* (Valiente-Banuet *et al.* 1997b), *Peniocereus greggii* (Raguso *et al.* 2003), *Stenocereus stellatus* (Casas *et al.* 1999), entre otras especies. Con sistema mixto *Polaskia chichipe* (Otero-Arnaiz *et al.* 2003) y el morfo hermafrodita de *Pachycereus pringlei* (es autocompatible; Fleming *et al.* 1994; Cuadro 1). Las especies de esta tribu principalmente presentan entrecruza y pocos

sistemas mixtos, esto mismo fue observado por Mandujano *et al.* (2010) con base en la tasa de entrecruza, mencionando que pocas especies que presentan floración diurna y nocturna tienden a la autofecundación.

En la tribu Rhipsalideae ejemplos de especies que presentan entrecruza son *Hattiora gaertneri*, *H. rosea*, *H. × graeseri* (Boyle 2003), *H. salicornioides*, *Rhipsalis pentaptera*, *R. pilocarpa* (Ross 1981), *Schlumbergera russelliana*, *S. truncata* y *S. × buckleyi* (Boyle 1997, 2003; Cuadro 1). En esta tribu no se ha descrito hasta el momento, alguna especie que presente sistema mixto.

Por último, en Trichocereae algunos taxa con entrecruza son *Echinopsis atacamensis* (Badano & Schlumpberger 2001; De Viana *et al.* 2001), *Cleistocactus baumannii* (Gorostiague & Ortega-Baes 2016), *Gymnocalycium bruchii* (Ross 1981), entre otras especies. Con sistema mixto *Weberbauerocereus weberbaueri* (autogamo facultativo; Sahley 1996), *Oreocereus celsianus* (autoincompatible parcial, Larrea-Alcázar & López 2011) y posiblemente tres especies de *Rebutia*, ya que son autocompatibles *R. diminuta*, *R. minuscula* y *R. spegazziana* (Ross 1981; Cuadro 1).

Con base en el sistema de cruza que presenta cada especie de Cactoideae estudiada

hasta el momento, se puede decir que las cactáceas globosas no presentan un patrón distinguible, ya que aproximadamente hay la misma cantidad de especies que presentan entrecruza, que un sistema mixto. Con base en la tasa de entrecruza, Mandujano *et al.* (2010) proponen que las especies con esperanza de vida más corta (globosas) tienen poca entrecruza con tendencia a sistemas mixtos. Mientras tanto en las columnares (con esperanza de vida larga) la mayoría presentan sistemas de entrecruza (xenogamia), más que de autocruza (Mandujano *et al.* 2010).

Existen especies clonales como *Ferocactus robustus* (Carrillo-Ángeles *et al.* 2011; Foto 4), *Lophoceres schottii* (Parker & Hamrick 1992), *Stenocereus eruca* y *S. gummosus* (Clark 2000), que se pueden ver favorecidas o desfavorecidas dependiendo de su patrón de clonación. Entre mayor sea el número de genets que se propaguen vegetativamente, será mayor la posibilidad de que ocurra entrecruzamiento (Charpentier 2002). Sin embargo, si una especie es autoincompatible y recluta varios rametos (mismo genet), se afecta la producción de semillas debido a la saturación de los estigmas de polen incompatible (Carrillo-Ángeles & Mandujano 2011). Por otra parte, si la especie es auto-compatible, la posibilidad de incrementar la autogamia es mayor, trayendo como consecuencia reducción en la adecuación de la población a través de la depresión por endogamia.

Otra forma de reproducción asexual es la apomixis. Es la formación de semillas sin que intervengan los procesos de meiosis y/o fecundación, por lo que los embriones resultantes son genéticamente idénticos a la planta madre, cuando se originan del tejido esporofítico como la nucela, tegumentos o de sacos embrionarios no reducidos (Kol-

tunow 1993; Hand & Koltunow 2014), lo cual se ha reportado en Cactoideae para la especie autocompatible *Mammillaria prolifera* (Ross 1981). En las especies con sistema de entrecruza, *Mammillaria tenuis* y *M. zeilmanniana*, la apomixis es por medio de embriones adventicios (Tiagi 1970). En estos trabajos no se realizó el tratamiento de polinización de apomixis, solamente se analizó el desarrollo de las semillas en diferentes etapas del desarrollo. El tratamiento de apomixis consiste en excluir el estigma de cualquier tipo de polen (propio o extraño), emasculando el botón floral, cubriéndolo, y esperando la formación de semillas sin la intervención de gametos masculinos. La apomixis asegura la reproducción de la especie y excluye las complicaciones asociadas con la reproducción sexual (polinización y cruza compatibles), sin embargo, este proceso disminuye la variabilidad genética (McCauley 2013).

La depresión endogámica se puede explicar como la reducción en la viabilidad y/o fertilidad de la descendencia autógama, debido al aumento de homocigosidad (Charlesworth & Charlesworth 1987). Por ende, en las poblaciones que presentan autocruza su variabilidad genética disminuye. Para evaluar la depresión endogámica se calcula la adecuación de la progenie utilizando la producción de frutos y de semillas por cada tratamiento de polinización (entrecruza y autocruza manual). Cuando la población padece depresión endogámica, ésta se ve reflejada en la adecuación de los individuos. La adecuación relativa es un cociente entre el promedio del éxito de la progenie de autocruza (A) y el promedio del éxito de la progenie de entrecruza (E): Adecuación relativa = A/E (Charlesworth & Charlesworth 1987; Mandujano, *et al.* 1996). La depresión endogámica (δ) se estima de la

siguiente manera: $\delta = 1 - [A/E]$ (Charlesworth & Charlesworth 1987).

Los resultados de la depresión endogámica poseen valores en un grado que va de 0 a 1, los valores más cercanos a 0 señalan menor depresión por endogamia, debido a que se está produciendo la misma o similar cantidad de frutos y semillas por autocruza que por entrecruza. Los valores de 1 o cercanos a 1 señalan una elevada depresión por endogamia, debido a que se está produciendo menor cantidad de semillas o frutos por autocruza que por entrecruza (Cruden 1977).

Con base en los estudios analizados por Mandujano *et al.* (2010), se concluye que la familia Cactaceae presenta niveles altos de depresión endogámica favoreciendo la ocurrencia de entrecruza dentro de la familia.

Síndromes de polinización

Las interacciones planta-polinizador son recíprocas, ya que existe un efecto del polinizador sobre la planta y de ésta sobre el polinizador. Los atributos florales como el color, tamaño y forma, así como las recompensas ofrecidas por parte de la planta (polen, aceites, fragancias, resinas y néctar), están íntimamente relacionados con la atracción del polinizador, favoreciendo que la planta reciba o done polen cuando es visitada (Grajales-Conesa *et al.* 2011; Pérez-Tejada & Pérez 2013). Como consecuencia de la interacción las flores varían en sus formas, longitudes y colores para atraer a tipos determinados de polinizadores. Las flores nocturnas de cactáceas son de infundibuliformes a hipocrateriformes, de color blanco, aromáticas y son comúnmente polinizadas por polillas y murciélagos; mientras que las flores diurnas suelen ser de forma campanulada y de colores amarillo, naranja, rojos o rosas, generalmente poli-

nizadas por insectos o aves (Arias & Flores 2013). También existen flores nocturnas que permanecen abiertas en las primeras horas de la mañana siguiente y pueden ser polinizadas por visitantes matutinos (Dar *et al.* 2006). Los visitantes florales en Cactoideae son principalmente las abejas, aves, avispas, escarabajos, hormigas, murciélagos, polillas y saltamontes (Mandujano *et al.* 2010; Foto 5). La polinización mediada por aves se ha observado en especies de *Melocactus* (Lambert *et al.* 2006; Nassar *et al.* 2007); por murciélagos y polillas en especies de los géneros *Carnegia* (Fleming *et al.* 1996), *Cereus* (Petit 1995; Nassar *et al.* 1997, 2003), *Cipocereus* (Lopes 2012), *Neobuxbaumia* (Valiente-Banuet *et al.* 1996, 1997a), *Pachycereus* (Valiente-Banuet *et al.* 1997b; Martínez-Peralta *et al.* 2010), *Pilosocereus* (Valiente-Banuet *et al.* 1997b), *Pterocereus* (Méndez *et al.* 2005), *Stenocereus* (Casas *et al.* 1999; Ibarra-Cerdeña *et al.* 2005). La especie *Weberbauerocereus weberbaueri* es polinizada por murciélagos y colibríes (Sahley 1996), *Carnegia gigantea* y *Stenocereus thurberi* también atraen abejas y colibríes (Fleming *et al.* 1996, 2001). Por otra parte *Lophocereus schottii* (Fleming *et al.* 2001) y *Stenocereus gummosus* (Clark 2000) sus principales polinizadores son las polillas. Mientras que algunas otras especies de los géneros *Astrophytum* (Martínez 2007), *Echinocereus* (Vázquez *et al.* 2016), *Echinocactus* (Jiménez 2008), *Escontria* (Oaxaca-Villa *et al.* 2006), *Ferocactus* (Del Castillo 1994; McIntosh 2002), *Mammillaria* (Bowers 2002), *Polaskia* (Cruz & Casas 2002) y siete especies de *Ariocarpus* (Martínez-Peralta & Mandujano 2012) son polinizados por abejas (Cuadro 1).

Las especies xenógamas dependen de la actividad de los polinizadores para que



FOTO 5. Visitantes florales en algunas Cactoideae. A) *Ferocactus robustus*. B) *Strombocactus disciformis* subsp. *disciformis*. C) *Mammillaria* sp. D) *Stenocereus* sp. E y F) *Neobuxbaumia mezcalaensis*.

se lleve con éxito la reproducción, por lo que una disminución o desaparición de los polinizadores pone en riesgo la producción de semillas y por ende el reclutamiento de nuevos individuos. La desaparición de polinizadores se puede dar por actividades antropogénicas, por el cambio del uso de suelo, por el uso de pesticidas, por la baja en los recursos ofrecidos como recompensa debido a la disminución de individuos e invasión de especies de plantas y animales (Aizen & Feinsinger 1994; Thompson 1996; Kearns *et al.* 1998), o bien cuando los sistemas de interacción planta-polinizador muestra un patrón especializado en lugar de ser generalista (Valiente-Banuet 2002). Mientras que las autógamias pueden tener éxito reproductivo incluso si las poblaciones están fragmentadas (Martínez 2007).

Conclusiones

La biología reproductiva de la subfamilia Cactoideae comprende un amplio espectro de

posibilidades que incluyen diversidad en los sistemas de cruce, en los sistemas sexuales y en los síndromes de polinización. A pesar de que los atributos florales se consideran importantes para definir la biología reproductiva, se sabe que, aspectos como el ciclo de vida, el hábito de las plantas y la distribución de los individuos también intervienen en el modo de reproducción de los individuos. Debido a la combinación de los distintos atributos, no se puede establecer un patrón en las diferentes formas de reproducción ni a nivel de subfamilia, ni a nivel de tribu, ya que la mayoría de las especies presentan entrecruza. Los estudios de la biología reproductiva en Cactoideae ayudan a comprender el comportamiento de las poblaciones para el conocimiento básico y el planteamiento de estrategias con fines de conservación.

Agradecimientos

Damos los créditos a la P. de Biól. Adriana Puente Aguirre, Biól. Alberto Carrasco Gómez, P. de Biól.

CUADRO 1. Forma de vida, aspectos reproductivos y métodos utilizados como indicadores del sistema de cruce y/o la compatibilidad a partir de los estudios sobre especies de Cactoideae. Forma de vida, A: arbóreo, Ar: arbustivo, ArP: arbustivo postrado, ArT: arbustivo trepador, C: columnar, Ci: cilíndrico y G: globoso. Longevidad de vida (Lon. floral), D: diurno, DV: diurno vespertino, N: nocturno y NM: nocturno matutino. Compatibilidad (Compatibili.), AC: autocompatible, AI: autoincompatible y SIG: sistema de autoincompatibilidad gametofítico. Sistema de apareamiento (Sist. de apare.), AF: autógeno facultativo, X: xenógamo, XF: xenógamo facultativo, 1: índice de entrecruzamiento, 2: cociente polen/óvulos (Cruden, 1977), * tienden a xenógamo y ** tienden a xenógamo facultativo. Sistema de cruce (Sist. de cruz.), E: entrecruza y M: mixto. Método utilizado (Mét. util.), EC: experimento de cruce y MM: método molecular. H: hercogamia, D: dicogamia, N: néctar; + presencia, - ausencia. I: indeterminado.

Taxa	Forma de vida	Lon. floral (días)	Compatibili.	Sist. de apare.	Sist. de cruz.	Mét. util.	H	D	N	Vector de polinización	Referencia
Tribu Cacteeae											
<i>Ancistrocactus scheeri</i>	G - Ci	D	AI	I	E	EC	I	I	I	I	Ross 1981; Anderson 2001
<i>Ariocarpus agavoides</i>	G	2D	SIG parcial	X ¹ , XF ²	M	EC	+	+	+	Melitofilia	Martínez-Peralta <i>et al.</i> 2014a, 2014b
<i>Ariocarpus bravoanus</i>	G	2D	SIG parcial	X ¹ , XF ²	M	EC	+	+	+	Melitofilia	Martínez-Peralta <i>et al.</i> 2014a, 2014b
<i>Ariocarpus fissuratus</i>	G	2D	SIG parcial	X ¹ , XF ²	M	EC	+	+	+	Melitofilia	Martínez-Peralta <i>et al.</i> 2014a, 2014b
<i>Ariocarpus kotschoubeyanus</i>	G	2D	SIG parcial	X ₁ , XF ²	M	EC	+	+	+	Melitofilia	Martínez-Peralta <i>et al.</i> 2014a, 2014b
<i>Ariocarpus retusus</i>	G	2D	SIG parcial	X ¹ , XF ^{2*}	M	EC	+	+	+	Melitofilia	Martínez-Peralta <i>et al.</i> 2014a, 2014b
<i>Ariocarpus scaphirostris</i>	G	2D	SIG	X ¹ , XF ^{2*}	E	EC	+	+	+	Melitofilia	Martínez-Peralta <i>et al.</i> 2014a, 2014b
<i>Ariocarpus trigonus</i>	G	2D	SIG parcial	X ¹ , XF ^{2*}	M	EC	+	+	+	Melitofilia	Martínez-Peralta <i>et al.</i> 2014a, 2014b
<i>Astrophytum asterias</i>	G	1D	AI - AC	XF ^{1, 2}	E - M	EC	+	-	I	Melitofilia	Martínez 2007; Strong & Williamson 2007
<i>Astrophytum capricorne</i>	G	D	AI	I	E	EC	I	I	I	I	Ross 1981; Anderson 2001
<i>Coryphantha cornifera</i>	G	3D	AI	X	E	EC	+	-	I	Melitofilia	Fuentes 2012
<i>Coryphantha echinus</i>	G	D	AI	I	E	EC	I	I	I	I	Ross 1981; Anderson 2001

Taxa	Forma de vida	Lon. floral (días)	Compatibili.	Sist. de apare.	Sist. de cruz.	Mét. util.	H	D	N	Vector de polinización	Referencia
<i>Coryphantha ottonis</i>	G	D	AI	I	E	EC	I	I	I	I	Ross 1981; Anderson 2001
<i>Echinocactus platyacanthus</i>	G	2 - 3D	AC - AI parcial	XF ^{1,2}	M	EC, MM	-/+	-	I	Melitofilia	Jiménez 2008
<i>Echinofossulocactus</i> sp.	G	I	AI	I	E	EC	I	I	I	I	Ross 1981; Anderson 2001
<i>Echinomastus erectocentrus</i> subsp. <i>erectocentrus</i>	Ci	D	AI	I	E	EC	I	I	I	I	Ross 1981; Anderson 2001
<i>Echinomastus erectocentrus</i> var. <i>acunenensis</i>	Ci	1 - 2D	AI	I	E	EC	I	I	+	Melitofilia	Johnson 1992
<i>Epithelantha micromeris</i> subsp. <i>bokei</i>	G	I	AC	I	I	EC	I	I	I	I	Ross 1981; Anderson 2001
<i>Escobaria tuberculosa</i>	Ci	I	AI	I	E	EC	I	I	I	I	Ross 1981; Anderson 2001
<i>Ferocactus cylindraceus</i>	G	2D	AI parcial	I	M	EC	I	I	+	Melitofilia	McIntosh 2002
<i>Ferocactus histrix</i>	G	4 - 6D	I	I	E	I	+	+	+	Melitofilia	Del Castillo 1994
<i>Ferocactus robustus</i>	G	2D	AI parcial	XF	M	I	I	I	+	Melitofilia	Piña 2000
<i>Ferocactus wislizeni</i>	G	2D	AI parcial	I	M	EC	I	I	+	Melitofilia	McIntosh 2002
<i>Mammillaria bocasana</i>	G	D	AI	I	E	EC	I	I	I	I	Ross 1981; Anderson 2001
<i>Mammillaria compressa</i>	Ci	D	AI	I	E	EC	I	I	I	I	Ross 1981; Anderson 2001
<i>Mammillaria crinita</i> subsp. <i>wildii</i>	G	D	AI	I	E	EC	I	I	I	I	Ross 1981; Anderson 2001
<i>Mammillaria grahamii</i>	G	1 - 2D	AI	I	E	EC	I	I	I	Melitofilias	Bowers 2002
<i>Mammillaria huitzilopochtli</i>	G	1 - 8D	AI principalmente	XF ²	E	EC	I	-	+	I	Flores-Martínez <i>et al.</i> 2013
<i>Mammillaria humboldtii</i>	G	D	I	X ¹ , XF ^{2*}	I	I	+	+	I	I	Anderson 2001; Martínez-Ramos <i>et al.</i> 2015

Taxa	Forma de vida	Lon. floral (días)	Compatibili.	Sist. de apare.	Sist. de cruz.	Mét. util.	H	D	N	Vector de polinización	Referencia
<i>Mammillaria melaleuca</i>	G	D	AI	I	E	EC	I	I	I	I	Ross 1981; Anderson 2001
<i>Mammillaria parkinsonii</i>	G - Ci	D	AI	I	E	EC	I	I	I	I	Ross 1981; Anderson 2001
<i>Mammillaria pectinifera</i>	G	D	AI	I	E	EC	I	I	I	I	Ross 1981; Anderson 2001
<i>Mammillaria pennispinosa</i>	G	D	AI	I	E	EC	I	I	I	I	Ross 1981; Anderson 2001
<i>Mammillaria prolifera</i> subsp. <i>multiceps</i>	G - Ci	D	AC	I	I	EC	I	I	I	I	Ross 1981; Anderson 2001
<i>Mammillaria spinosissima</i>	Ci	D	AI	I	E	EC	I	I	I	I	Ross 1981; Anderson 2001
<i>Mammillaria uncinata</i>	G	D	AI	I	E	EC	I	I	I	I	Ross 1981; Anderson 2001
<i>Mammillaria zeilmanniana</i>	G	D	AI	I	E	EC	I	I	I	I	Ross 1981; Anderson 2001
<i>Neomammillaria candida</i>	G	D	AI	I	E	EC	I	I	I	I	Ross 1981; Anderson 2001
<i>Pelecyphora aselliformis</i>	G	D	AI	I	E	EC	I	I	I	I	Ross 1981; Anderson 2001
<i>Pelecyphora strobiliformis</i>	G	D	AI	I	E	EC	I	I	I	I	Ross 1981; Anderson 2001
<i>Sclerocactus brevispinus</i>	G - Ci	3 - 5D	AI principal- mente	I	E	EC	I	I	+	Melitofilia	Anderson 2001; Tepedino <i>et al.</i> 2010
<i>Sclerocactus wetlandicus</i>	G - Ci	3 - 5D	AI principal- mente	I	E	EC	I	I	+	Melitofilia	Anderson 2001; Tepedino <i>et al.</i> 2010
<i>Stenocactus anfractuosus</i>	G	4 - 13D	AI	X	E	CE	+	-	I	Melitofilia	Fuentes 2012
<i>Strombocactus disciformis</i>	G	D	AI	I	E	EC	I	I	I	I	Ross 1981
<i>Thelocactus valdeziyanus</i>	G	D	AI	I	E	EC	I	I	I	I	Ross 1981; Anderson 2001

Taxa	Forma de vida	Lon. floral (días)	Compatibili.	Sist. de apare.	Sist. de cruz.	Mét. util.	H	D	N	Vector de polinización	Referencia
<i>Turbincarpus horripilus</i>	G	2D	AI	X ¹ , XF ^{2*}	E	EC	+	-	+	Melitofilia	Matías 2007
				Tribu Cereeae							
<i>Cereus horrispinus</i>	A	1N	AI	AF ^{2**}	E	EC	-	I	+	Quiropterofilia	Nassar <i>et al.</i> 1997; Anderson 2001
<i>Cereus portoricensis</i>	A	1N	AI parcial	XF ^{1, 2}	M	EC	+	-	+	Falenofilia	Anderson 2001; Rojas-Sandoval & Meléndez-Akerman 2009
<i>Cereus repandus</i>	A	1N	AI	XF ²	E	EC, MM	-	I	+	Quiropterofilia	Nassar <i>et al.</i> 1997, 2003; Anderson 2001
<i>Melocactus andinus</i>	G	1D	AC	AF ^{2**}	M	EC, MM	I	I	+	Ornitofilia	Nassar <i>et al.</i> 2007
<i>Melocactus curvispinus</i>	G	1D	AC	AF ^{2**}	M	EC, MM	+	I	+	Ornitofilia	Nassar <i>et al.</i> 2001; Nassar & Ramírez 2004
<i>Melocactus glaucescens</i>	G	1D	AI	I	E	EC	I	I	+	Ornitofilia	Colaço <i>et al.</i> 2006
<i>Melocactus matanzanus</i>	G	D	AC	I	I	EC	I	I	I	I	Ross 1981; Anderson 2001
<i>Melocactus paucispinus</i>	G	1D	AC	I	M	EC, MM	I	I	+	Ornitofilia	Colaço <i>et al.</i> 2006; Lambert <i>et al.</i> 2006
<i>Melocactus schatzlii</i>	G	1D	AC	AF ²	M - E	EC, MM	I	I	+	Ornitofilia	Nassar <i>et al.</i> 2007
<i>Pilosocereus lanuginosus</i>	A	1N	AI	AF ^{2**}	E	MM	+	I	+	Quiropterofilia	Nassar <i>et al.</i> 1997, 2003; Anderson 2001
<i>Pilosocereus chrysacanthus</i>	A	1N	AI	I	E	EC	I	I	+	Quiropterofilia	Valiente-Banuet <i>et al.</i> 1997b
<i>Pilosocereus moritzianus</i>	A	1N	AI parcial	AF ^{2**}	M	EC	+	I	+	Quiropterofilia	Nassar <i>et al.</i> 1997; Anderson 2001
<i>Pilosocereus royenii</i>	A	1N	AC	X ¹	M	EC	+	+	+	Quiropterofilia, abejas	Rivera-Marchand & Ackerman, 2006; Anderson 2001

Taxa	Forma de vida	Lon. floral (días)	Compatibili.	Sist. de apare.	Sist. de cruz.	Mét. util.	H	D	N	Vector de polinización	Referencia
Tribu Hylocereeae											
<i>Hylocereus costaricensis</i>	ArT	1N	AI	X ¹	E	EC	+	I	+	Abejas	Weiss <i>et al.</i> 1994
<i>Hylocereus lemairei</i>	ArT	1N	AI - AI débil	X ¹	E - M	EC	+	I	+	Abejas	Weiss <i>et al.</i> 1994; Lichtenzveig <i>et al.</i> 2000
<i>Hylocereus undatus</i>	ArT	1N	AC - AI débil	X ¹	M	EC	+	I	+	Abejas	Weiss <i>et al.</i> 1994; Lichtenzveig <i>et al.</i> 2000
<i>Selenicereus megalanthus</i>	ArT	1N	AC - AI débil	XF ¹	M	EC	-	I	+	Abejas	Weiss <i>et al.</i> 1994; Lichtenzveig <i>et al.</i> 2000
Tribu Notocactaeae											
<i>Blossfeldia liliputana</i>	G	D	AC	I	I	EC	I	I	I	I	Ross 1981; Anderson 2001
<i>Frailea pumila</i>	G	I	AC	I	I	EC	I	I	I	I	Ross 1981; Anderson 2001
<i>Parodia haselbergii</i>	G	D	AI	I	E	EC	I	I	I	I	Ross 1981; Anderson 2001
<i>Wigginsia vorwerckiana</i>	G	2D	SC	I	M	I	+	I	-	Melitofilia	Chaves 2000
Tribu Pachycereaeae											
<i>Echinocereus papillosus</i>	Ar	D	AI	I	E	EC	I	I	I	I	Ross 1981; Anderson 2001
<i>Echinocereus pectinatus</i>	G - Ci	D	AI	I	E	EC	I	I	I	I	Ross 1981; Anderson 2001
<i>Echinocereus pectinatus</i> var. <i>wenigeri</i>	G - Ci	D	AI	I	E	EC	I	I	I	I	Ross 1981; Anderson 2001
<i>Echinocereus reichenbachii</i>	Ar	D	AI	I	E	EC	I	I	I	I	Ross 1981; Anderson 2001
<i>Echinocereus reichenbachii</i> var. <i>baileyi</i>	Ar	D	AI	I	E	EC	I	I	I	I	Ross 1981; Anderson 2001
<i>Echinocereus reichenbachii</i> var. <i>chisoensis</i>	Ar	D	AI	I	E	EC	I	I	I	I	Ross 1981; Anderson 2001

Taxa	Forma de vida	Lon. floral (días)	Compatibili.	Sist. de apare.	Sist. de cruz.	Mét. util.	H	D	N	Vector de polinización	Referencia
<i>Echinocereus reichenbachii</i> var. <i>fitchii</i>	Ar	D	AI	I	E	EC	I	I	I	I	Ross 1981; Anderson 2001
<i>Echinocereus reichenbachii</i> var. <i>perbellus</i>	Ar	D	AI	I	E	EC	I	I	I	I	Ross 1981; Anderson 2001
<i>Echinocereus rigidissimus</i>	G - Ci	D	AI	I	E	EC	I	I	I	I	Ross 1981; Anderson 2001
<i>Echinocereus viridiflorus</i>	G - Ci	D	AI	I	E	EC	I	I	I	I	Ross 1981; Anderson 2001
<i>Escontria chiotilla</i>	A	1D	AI	I	E	EC	I	I	+	Abejas, colibríes	Oaxaca-Villa <i>et al.</i> 2006
<i>Lophocereus schottii</i>	A - Ar	1N	AI	I	E	EC, MM	I	I	+	Falenofilia	Parker & Hamrick 1992; Fleming & Holland 1998
<i>Leptocereus scopulophilus</i>	Ar	N	AI	I	E	EC	I	I	+	Quiroptero-filia	Valdés <i>et al.</i> 2011
<i>Marginatocereus marginatus</i>	C - A	1N o D	AI	X ¹	E	EC	+	I	+	Murciélagos, colibríes	Dar <i>et al.</i> 2006
<i>Myrtillocactus geometrizans</i>	A	D	AI	I	E	EC	I	I	I	I	Ross 1981; Anderson 2001
<i>Neobuxbaumia macrocephala</i>	A	1N	AI	I	E	EC	I	I	+	Quiroptero-filia	Valiente-Banuet <i>et al.</i> 1997a
<i>Neobuxbaumia mezcalaensis</i>	C	1N	AI	I	E	EC	I	I	+	Quiroptero-filia	Valiente-Banuet <i>et al.</i> 1997a
<i>Pachycereus pecten-aboriginum</i>	A	1N	AI	I	E	EC	I	I	+	Quiroptero-filia	Molina-Freaner <i>et al.</i> 2004
<i>Pachycereus pringlei</i> (morfo hermafrodita)	A	N	AC	I	M	EC	I	I	+	Quiroptero-filia	Fleming <i>et al.</i> 1994
<i>Pachycereus weberi</i>	A	1N	AI	I	E	EC	I	I	+	Quiroptero-filia	Valiente-Banuet <i>et al.</i> 1997b
<i>Peniocereus greggii</i>	Ar	1N	AI	X ¹	E	I	+	I	+	Falenofilia, abejas	Raguso <i>et al.</i> 2003

Taxa	Forma de vida	Lon. floral (días)	Compatibili.	Sist. de apare.	Sist. de cruz.	Mét. util.	H	D	N	Vector de polinización	Referencia
<i>Peniocereus striatus</i>	Ar	1N	AI	X ¹	E	I	+	I	+	Falenofilia	Raguso <i>et al.</i> 2003
<i>Polaskia chende</i>	A	1D	AI	I	E	EC	I	I	+	Melitofilia	Cruz & Casas 2002
<i>Polaskia chichipe</i>	A	1D o N	AC	I	M	EC	I	I	+	Abejas, colibríes, polillas	Otero-Arnaiz <i>et al.</i> 2003
<i>Stenocereus eruca</i>	ArP	1N	AI	I	E	EC	I	I	+	Polillas, abejas	Clark-Tapia & Molina-Freaner 2004
<i>Stenocereus griseus</i>	A	1N	AI	XF ²	E	EC, MM	-	I	+	Quiroptero-filia	Nassar <i>et al.</i> , 1997, 2003
<i>Stenocereus gummosus</i>	Ar	1N	AI	I	E	EC, MM	I	I	I	Falenofilia	Clark-Tapia & Molina-Freaner 2003
<i>Stenocereus queretaroensis</i>	A	1N o D	AI	X ¹	E	EC	+	I	+	Quiroptero-filia	Ibarra-Cerdeña <i>et al.</i> , 2005
<i>Stenocereus stellatus</i>	Ar - A	IN	AI		E	EC	I	I	+	Quiroptero-filia	Casas <i>et al.</i> 1999
Tribu Rhipsalideae											
<i>Hatiora gaertneri</i>	Ar	D	SIG	I	E	EC	I	I	I	I	Boyle 2003; Anderson 2001
<i>Hatiora rosea</i>	Ar	D	SIG	I	E	EC	I	I	I	I	Boyle 2003; Anderson 2001
<i>Hatiora × graeseri</i>	Ar	D	SIG	I	E	EC	I	I	I	I	Boyle 2003; Anderson 2001
<i>Hatiora salicornioides</i>	Ar	D	AI	I	E	EC	I	I	I	I	Ross 1981; Anderson 2001
<i>Rhipsalis pentaptera</i>	Ar	D	AI	I	E	EC	I	I	+	I	Ross 1981; Anderson 2001
<i>Rhipsalis pilocarpa</i>	Ar	D	AI	I	E	EC	I	I	+	I	Ross 1981; Anderson 2001
<i>Schlumbergera russelliana</i>	Ar	I	SIG	I	E	EC	I	I	I	I	Boyle 1997
<i>Schlumbergera truncata</i>	Ar	I	SIG	I	E	EC	I	I	I	I	Boyle 1997, 2003

Taxa	Forma de vida	Lon. floral (días)	Compatibili.	Sist. de apare.	Sist. de cruz.	Mét. util.	H	D	N	Vector de polinización	Referencia
<i>Schlumbergera × buckleyi</i>	Ar	I	SIG	I	E	EC	I	I	I	I	Boyle 2003
Tribu Trichocereae											
<i>Echinopsis atacamensis</i>	A	1 - 2NM	AI	I	E	EC	I	I	+	Quiropterofilia, abejas	Badano & Schlumberger 2001; De Viana <i>et al.</i> 2001
<i>Echinopsis chamaecereus</i>	Ar	2 – 3D	AI	I	E	I	I	I	I	I	Boyle & Idnurm 2001
<i>Cleistocactus baumannii</i>	Ar	2DV	AI	X ¹	E	EC	+	I	+	Ornitofilia	Ross 1981; Gorostiague & Ortega-Baes 2016
<i>Cleistocactus smaragdiflorus</i>	Ar	2DV	AI	X ¹	E	EC	+	I	+	Ornitofilia, abejas	Gorostiague & Ortega-Baes 2016
<i>Gymnocalycium anisitsii</i> subsp. <i>damsii</i>	G	D	AI	I	E	EC	I	I	I	I	Ross 1981; Anderson 2001
<i>Gymnocalycium bruchii</i>	G	D	AI	I	E	EC	I	I	I	I	Ross 1981; Anderson 2001
<i>Oreocereus celsianus</i>	Ar	3DV	AI parcial	X ¹	M	EC	+	I	+	Ornitofilia	Larrea-Alcázar & López 2011
<i>Rebutia diminuta</i>	G	D	AC	I	I	EC	I	I	I	I	Ross 1981; Anderson 2001
<i>Rebutia minuscula</i>	G	D	AC	I	I	EC	I	I	I	I	Ross 1981; Anderson 2001
<i>Rebutia spegazziana</i>	G	D	AC	I	I	EC	I	I	I	I	Ross 1981; Anderson 2001
<i>Sulcorebutia steinbachii</i>	G	D	AI	I	E	EC	I	I	I	I	Ross 1981; Anderson 2001
<i>Weberbauerocereus weberbaueri</i>	Ar	1DV	AC	X ¹	M	MM	+	I	+	Quiropterofilia, colibríes	Sahley 1996

Fátima Barrón Pacheco, Biól. Pactli Fernando Ortega González y a la M. en C. Rocío Hernández Cruz por permitir usar material fotográfico. Este trabajo fue apoyado por el Programa de Apoyo a Proyectos de Investigación e Innovación Tecnológica (PAPIIT, IN223814). Este artículo constituye un cumplimiento parcial de los requisitos para la tesis doctoral de A. Camacho-Velázquez en el Posgrado en Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM), quien recibe la beca del Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT).

Literatura citada

- Ainsworth C. 2000. Boys and girls come out to play: the molecular biology of dioecious plants. *Ann Bot* **86**:211-221.
- Aizen MA & Feinsinger P. 1994. Forest fragmentation, pollination, and plant reproduction in a Chaco dry forest, Argentina. *Ecology* **75**:330-351.
- Alfaro AI. 2008. Estudio de muerte celular programada durante el desarrollo de las anteras en flores pistiladas de *Opuntia stenopetala* Engelm y *Opuntia robusta* Wendland (Cactaceae). Tesis de Licenciatura. Facultad de Ciencia, UNAM. México, D.F.
- Anderson EF. 2001. *The cactus family*. Timber Press, Portland, EUA.
- Arias S & Flores J. 2013. La familia Cactaceae, páginas 492-504. En Márquez-Guzmán J, Collazo-Ortega M, Martínez-Gordillo M, Orozco-Segovia A & Vázquez-Santana S (Eds). *Biología de Angiospermas*. Prensas de la Facultad de Ciencias. UNAM. México.
- Arreola HJ. 1997. Formas de vida y características morfológicas. En: Valle, C. (Ed). *Suculentas mexicanas y cactáceas*. CONABIO, SERMARNAT, UNAM. México.
- Ávila BA & Cruz-García F. 2011. Sistema de incompatibilidad gametofítico en plantas: una oportunidad para evitar la endogamia. En: Álvarez G, Bustos I, Castañeda C, Guevara J & Vázquez H (Eds). *Mensaje Bioquímico*. Facultad de Medicina, UNAM **35**:67-78.
- Badano EI & Schlumpberger BO. 2001. Sistema de cruzamiento y estimaciones en la eficiencia de polinización sobre *Trichocereus pasacana* (Cactaceae) en dos poblaciones del noroeste argentino. *Gayana Bot* **58**:115-122.
- Baker HG. 1955. Self-compatibility and establishment after 'long-distance' dispersal. *Evolution* **9**:347-349.
- Baker M. 2006. A new florally dimorphic hexaploid, *Echinocereus yavapaiensis* sp. nov. (section *Triglochidiatius*, Cactaceae) from central Arizona. *Pl Syst Evol* **258**:63-83.
- Barrett S. 1998. The evolution of mating strategies in flowering plants. *Trends Plant Sci* **3**:335-341.
- Barrett S. 2002. The evolution of plant sexual diversity. *Nature* **3**:274-284.
- Bawa KS. 1980. Evolution of dioecy in flowering plants. *Annu Rev Ecol Syst* **11**:15-39.
- Bawa KS & Beach JH. 1981. Evolution of sexual systems in flowering plants. *Ann Mo Bot Gard* **68**:254-274.
- Bowers JE. 2002. Flowering patterns and reproductive ecology of *Mammillaria grahamii* (Cactaceae), a common, small cactus in the Sonoran Desert. *Madroño* **49**:201-206.
- Boyle TH. 1997. The genetics of self-incompatibility in the genus *Schlumbergera* (Cactaceae). *J Hered* **88**:209-214.
- Boyle TH. 2003. Identification of self-incompatibility groups in *Hatiora* and *Schlumbergera* (Cactaceae). *Sex Plant Reprod* **16**:151-155.
- Boyle TH. & Idnurm A. 2001. Physiology and genetics of self-incompatibility in *Echinopsis chamaecereus* (Cactaceae). *Sex Plant Reprod* **13**:323-327.
- Bravo-Hollis H. 1978. *Las Cactáceas de México. Vol. 1*. UNAM. México.

- Busch JW. & Schoen DJ. 2008. The evolution of self-incompatibility when mates are limiting. *Trends Plant Sci* **13**:128-136.
- Calderón-Urrea A & Dellaporta SL. 1999. Cell death and cell protection genes determine the fate of pistils in maize. *Development* **126**:435-441.
- Carrillo-Angeles IG, Mandujano MC & Golubov J. 2011. Influences of the genetic neighborhood on ramet reproductive success in a clonal desert cactus. *Popul Ecol* **53**:449-458.
- Carrillo-Angeles IG & Mandujano MC. 2011. Patrones de distribución espacial en plantas clonales. *Bol Soc Bot Mex* **89**:1-18.
- Casas A, Valiente-Banuet A, Rojas-Martínez A & Davila P. 1999. Reproductive biology and the process of domestication of the columnar cactus *Stenocereus stellatus* in Central Mexico. *Am J Bot* **86**:534-542.
- Charlesworth D & Charlesworth B. 1987. Inbreeding depression and its evolutionary consequences. *Ann Rev Ecol Syst* **18**:237-268.
- Charpentier A. 2001. Consequences of clonal growth for plant mating. *Evol Ecol* **15**:521-530.
- Chaves FA. 2000. Aspectos de la Biología reproductiva de una población de *Wigginsia vorweckiana* (Cactaceae). En: Resúmenes de Trabajos de Grado. Facultad de Ciencias, Universidad Nacional de Colombia. *Acta Biológica* **5**:83.
- Clark R. 2000. Estructura genética de dos cactáceas columnares del Desierto Sonorense: *Stenocereus gummosus* y *S. eruca* (Cactaceae). Tesis de Maestría. UNAM. México, D.F.
- Clark-Tapia R & Molina-Freaner F. 2003. The genetic structure of a columnar cactus with a disjunct distribution: *Stenocereus gummosus* in the Sonoran Desert. *Heredity* **90**:443-450.
- Clark-Tapia R & Molina-Freaner F. 2004. Reproductive ecology of the rare clonal cactus *Stenocereus eruca* in the Sonoran Desert. *Plant Syst Evol* **247**:155-164.
- Coimbra S, Torráo L & Abreu I. 2004. Programmed cell death induces male sterility in *Actinidia deliciosa* female flowers. *Plant Physiol Bioch* **42**:537-541.
- Colaço MA, Fonseca R, Lambert SM, Costa SB, Machado CG & Borba EL. 2006. Reproductive biology of *Melocactus glaucescens* Buining & Brederoo and *M. paucispinus* G. Heimen & R. Paul (Cactaceae), in the Chapada Diamantina, northeastern Brazil. *Brazilian J Bot* **29**:239-249.
- Cruden RW. 1977. Pollen-ovule ratios: a conservative indicator of breeding systems in flowering plants. *Evolution* **31**:32-46.
- Cruz GF, McClure BA, Busot G, García G, Juárez JA & Sánchez LT. 2001. Sistemas genéticos de reconocimiento del polen en angiospermas, páginas 135-146. En: *Avances en bioquímica y biología molecular de plantas*. Facultad de Química, UNAM. México, D.F.
- Cruz-García F & González-Zamora YC. 2013. Interacción polen-pistilo, páginas 110-117. En Márquez- Guzmán J, Collazo-Ortega M, Martínez-Gordillo M, Orozco-Segovia A & Vázquez-Santana S (Eds). *Biología de Angiospermas*. Pressas de la Facultad de Ciencias. UNAM. México.
- Cruz M & Casas A. 2002. Morphological variation and reproductive biology of *Polaskia chende* (Cactaceae) under domestication in Central Mexico. *J Arid Environ* **51**:561-576.
- Dafni A. 1992. *Pollination ecology: a practical approach*. Oxford University Press, Oxford, UK.
- Dar S, Del Coro Arizmendi M & Valiente-Banuet A. 2006. Diurnal and nocturnal pollination of *Marginatocereus marginatus* (Pachycereae: Cactaceae) in Central Mexico. *Ann Bot* **97**:423-427.
- De Viana ML, Ortega-Baes P, Saravia M, Badano EI & Schlumpberger B. 2001. Biología floral y polinizadores de *Trichocereus pas-*

- cana* (Cactaceae) en el Parque Nacional Los Cardones, Argentina. *Rev Biol Trop* **49**:279-285.
- Del Castillo RF. 1988. Fenología y remoción de semillas en *Ferocactus histrix*. *Cact Suc Mex* **33**:5-13.
- Del Castillo RF. 1994. Polinización y otros aspectos de la biología floral de *Ferocactus histrix*. *Cact Suc Mex* **39**:36-42.
- Dellaporta SL & Calderón-Urrea A. 1993. Sex determination in flowering plants. *The Plant Cell* **5**:1241-1251.
- Dellaporta SL & Calderón-Urrea A. 1994. The sex determination process in maize. *Science* **266**:1501-1505.
- Faegri K & Van Der Pijl L. 1979. The principles of pollination biology. Pergamon, Oxford.
- Ferrer MM & Good-Avila SV. 2007. Macrophylogenetic analyses of the gain and loss of self-incompatibility in the Asteraceae. *New Phytol* **173**:401-414.
- Fleming TH, Sahley CT, Holland JN, Nason JD & Hamrick JL. 2001. Sonoran Desert columnar cacti and the evolution of generalized pollination systems. *Ecol Monogr* **71**:511-530.
- Fleming TH, Tuttle MD & Horner MA. 1996. Pollination biology and the relative importance of nocturnal and diurnal pollinators in three species of Sonoran Desert columnar cacti. *The Southwest Nat* **41**:257-269.
- Fleming TH, Maurice S, Buchmann SL & Tuttle MD. 1994. Reproductive biology and relative male and female fitness in a trioecious cactus, *Pachycereus pringlei* (Cactaceae). *Am J Bot* **81**:858-867.
- Fleming TH & Holland JN. 1998. The evolution of obligate pollination mutualisms: senita cactus and senita moth. *Oecologia* **114**:368-375.
- Flores J & Jurado E. 2011. Germinación de especies de cactáceas en categoría de riesgo del Desierto Chihuahuense. *Rev Mex Cien For* **2**:59-70.
- Flores-Martínez A, Manzanero M, Gladys I, Golubov J & Mandujano MC. 2013. Biología floral de *Mammillaria huitzilopochtli*, una especie rara que habita acantilados. *Bot Sci* **91**:349-356.
- Flores-Rentería L, Orozco-Arroyo G, Cruz-García F, García-Campusano F, Alfaro I & Vázquez-Santana S. 2013. Programmed cell death promotes male sterility in the functional dioecious *Opuntia stenopetala* (Cactaceae). *Ann Bot* **112**: 789-800.
- Fuentes V. 2012. Atributos demográficos y biología reproductiva de *Coryphantha cornifera* y *Stenocactus anfractuosus* con fines de conservación. Tesis de Doctorado. Colegio de Postgraduados. México, Edo. México.
- Gibson AC & Nobel PS. 1986. *The cactus primer*. Harvard University Press, Boston, MA.
- Godínez-Álvarez H, Jiménez M, Mendoza M, Pérez F, Roldán P, Ríos-Casanova L & Lira R. 2008. Densidad, estructura poblacional, reproducción y supervivencia de cuatro especies de plantas útiles en el Valle de Tehuacán, México. *Rev Mex Biodivers* **79**:393-403.
- Golenberg EM & West NW. 2013. Hormonal interactions and gene regulation can link monoecy and environmental plasticity to the evolution of dioecy in plants. *Am J Bot* **100**:1022-1037.
- Gorostiague P & Ortega-Baes P. 2016. How specialised is bird pollination in the Cactaceae? *Plant Biol* **18**:63-72.
- Grajales-Conesa J, Meléndez-Ramírez V & Cruz-López L. 2011. Aromas florales y su interacción con los insectos polinizadores. *Rev Mex Biodivers* **82**:1356-1367.
- Greenberg JT. 1996. Programmed cell death: a way of life for plants. *Proc Natl Acad Sci USA* **93**:12094-12097.

- Hand ML & Koltunow AM. 2014. The genetic control of apomixis: asexual seed formation. *Genetics* **197**:441-450.
- Hartwig T, Chuck GS, Fujioka S, Klempien A, Weizbauer R, Potluri DPV, Choel S, Johal GS & Schulz B. 2011. Brassinosteroid control of sex determination in maize. *Proc Natl Acad Sci* **108**:19814-19819.
- Hernández R. 2008. Estudio de la muerte celular programada en el gineceo de las flores masculinas de *Opuntia robusta* J. C. Wendl. (Cactaceae). Tesis de Licenciatura. Facultad de Ciencias, UNAM. México, D.F.
- Hernández R. 2011. Estudio comparativo de la sexualidad floral de *Echinocereus coccineus* y *Echinocereus polyacanthus*. (Cactoideae: Cactaceae). Tesis de Maestría. Facultad de Ciencias, UNAM. México, D.F.
- Hoffman MT. 1992. Functional dioecy in *Echinocereus coccineus* (Cactaceae): breeding systems, sex ratios, and geographic range of floral dimorphism. *Am J Bot* **79**:1382-1388.
- Ibarra-Cerdeña CN, Iñiguez-Dávalos LI & Sánchez-Cordero V. 2005. Pollination ecology of *Stenocereus queretaroensis* (Cactaceae), a chiropterophilous columnar cactus, in a tropical dry forest of Mexico. *Am J Bot* **92**:503-509.
- Jiménez CL. 2008. Estudios sobre la biología y demografía de *Echinocactus platyacanthus* Link et Otto, em Zapotitlán de las Salinas, Puebla. Tesis de Doctorado. Facultad de Ciencias, UNAM. México, D.F.
- Jiménez-Durán K & Cruz-García F. 2011. Sexual incompatibility, a genetic mechanism that prevents self-fertilization and contributes to plant diversity. *Rev Fitotec Mex* **34**:1-9.
- Johnson RA. 1992. Pollination and reproductive ecology of acuña cactus, *Echinomastus erectocentrus* var. *acunensis* (Cactaceae). *Int J Plant Sci* **153**:400-408.
- Kearns CA, Inouye DW & Waser NM. 1998. Endangered mutualisms: the conservation of plant-pollinator interactions. *Ann Rev Ecol Syst* **29**:83-112.
- Kephart SR, Brown E & Hall J. 1999. Inbreeding depression and partial selfing: evolutionary implications of mixed-mating in a coastal endemic, *Silene douglasii* var. *oraria* (Caryophyllaceae). *Heredity* **82**:543-554.
- Kimnach M. 1982. *Selenicereus innesii*, an aberrant new species from the West Indies. *Cact Succ J (USA)* **54**:3-7.
- Koltunow AM. 1993. Apomixis: embryo sacs and embryos formed without meiosis or fertilization in ovules. *The Plant Cell* **5**:1425-1437.
- Kuusk S. 2003. Control of pistil development in *Arabidopsis thaliana* by a novel class of regulatory genes. Acta Universitatis Upsaliensis. *Comprehensive Summaries of Uppsala Dissertations from the Faculty of Science and Technology* 827.
- Lambert SM, Borba EL, Machado MC & Andrade SCDS. 2006. Allozyme diversity and morphometrics of *Melocactus paucispinus* (Cactaceae) and evidence for hybridization with *M. concinnus* in the Chapada Diamantina, North-eastern Brazil. *Ann Bot* **97**:389-403.
- Larrea-Alcázar DM & López RP. 2011. Pollination biology of *Oreocereus celsianus* (Cactaceae), a columnar cactus inhabiting the high subtropical Andes. *Plant Syst Evol* **295**:129-137.
- Lichtenzweig J, Abbo S, Nerd A, Tel-Zur N & Mizrahi Y. 2000. Cytology and mating systems in the climbing cacti *Hylocereus* and *Selenicereus*. *Am J Bot* **87**:1058-1065.
- Lindsay G & Dawson EY. 1952. Mammillarias of the islands off northwestern Baja California, Mexico. *Cactus Succul J US* **24**:76-84.
- Lloyd DG & Webb CJ. 1986. The avoidance of interference between the presentation of

- pollen and stigmas in angiosperms I. Dichogamy. *New Zeal J Bot* **24**:135-162.
- Lopes LT. 2012. Fenología, biología reproductiva, germinação e desenvolvimento inicial de *Cipocereus minensis* subsp. *leiocarpus* N. P. Taylor & Zappi (Cactaceae) no planalto de Diamantina-MG. Tesis de Maestría. UFVJM. Diamantina-MG, Brasil.
- McCauley R. 2013. Apomixis, páginas 154-157. En: Márquez- Guzmán J, Collazo-Ortega M, Martínez-Gordillo M, Orozco-Segovia A & Vázquez-Santana S (Eds). *Biología de Angiospermas*. Prensas de la Facultad de Ciencias. UNAM. México.
- McIntosh ME. 2002. Plant size, breeding system, and limits to reproductive success in two sister species of *Ferocactus* (Cactaceae). *Plant Ecol* **162**:273-288.
- Mandujano MC, Montaña C & Eguiarte LE. 1996. Reproductive ecology and inbreeding depression in *Opuntia rastrera* (Cactaceae) in Chihuahuan Desert: Why are sexually derived recruitment so rare? *Am J Bot* **83**:63-70.
- Mandujano MC, Carrillo-Ángeles I, Martínez-Peralta C & Golubov J. 2010. Reproductive Biology of Cactaceae, páginas 197-230. En Ramawat KG (Ed). *Desert Plants*. Berlín: Springer- Verlag.
- Martínez JG. 2007. Dinámica poblacional del falso peyote *Astrophytum asterias* (Zucc) Lem. (Cactaceae), una especie amenazada del Noreste de México. Tesis de Doctorado. Facultad de Ciencias Forestales, Universidad Autónoma de Nuevo León. México, Nuevo León.
- Martínez-Peralta C, Molina-Freaner F, Golubov J, Vázquez-Lobo A & Mandujano MC. 2014a. A comparative study of the reproductive traits and floral morphology of a genus of geophytic cacti. *Int J Plant Sci* **175**:663-680.
- Martínez-Peralta C, Márquez-Guzmán J & Mandujano MC. 2014b. How common is self-incompatibility across species of the herkogamous genus *Ariocarpus*? *Am J Bot* **101**:530-538.
- Martínez-Peralta C, Mancilla R, Altamirano-Vázquez HG & Aguilar-Morales G. 2010. Características poblacionales de *Pachycereus weberi* y su relación con polinizadores en la comunidad de Dominguillo en el Valle de Tehuacán-Cuicatlán, Puebla-Oaxaca. *Cact Suc Mex* **55**:85-95.
- Martínez-Peralta C & Mandujano MC. 2012. Biología de la polinización y fenología reproductiva del género *Ariocarpus* Scheidweiler (Cactaceae). *Cact Suc Mex* **57**:114-127.
- Martínez-Ramos M, Arroyo-Cosultchi G, Golubov J & Mandujano MC. 2015. Fenología y sistema de apareamiento de *Mammillaria humboldtii*: una especie en peligro de extinción. *Cact Suc Mex* **60**:80-90.
- Méndez M, Durán R, Dorantes A, Dzib G, Simá L, Simá P & Orellana R. 2005. Floral demography and reproductive system of *Pterocereus gaumeri*, a rare columnar cactus endemic to Mexico. *J Arid Environ* **62**:363-376.
- Molina-Freaner F, Rojas-Martínez A, Fleming TH, Valiente-Banuet A. 2004. Pollination biology of the columnar cactus *Pachycereus pecten-aboriginum* in north-western México. *J Arid Environ* **56**:117-127.
- Nassar JM, Hamrick JL & Fleming TH. 2001. Genetic variation and population structure of the mixed-mating cactus, *Melocactus curvispinus* (Cactaceae). *Heredity* **87**:69-79.
- Nassar JM, Hamrick JL & Fleming TH. 2003. Population genetic structure of Venezuelan chiropterophilous columnar cacti (Cactaceae). *Am J Bot* **90**:1628-1637.
- Nassar JM & Ramírez N. 2004. Reproductive biology of the melon cactus, *Melocactus curvispinus* (Cactaceae). *Plant Syst Evol* **248**:31-44.

- Nassar JM, Ramírez N, Lampo M, González JA, Casado R & Nava F. 2007. Reproductive biology and mating system estimates of two Andean melocacti, *Melocactus schatzlii* and *M. andinus* (Cactaceae). *Ann Bot* **99**:29-38.
- Nassar JM, Ramirez N & Linares O. 1997. Comparative pollination biology of Venezuelan columnar cacti and the role of nectar-feeding bats in their sexual reproduction. *Am J Bot* **84**:918-918.
- Oaxaca-Villa B, Casas A & Valiente-Banuet A. 2006. Reproductive biology in wild and silvicultural managed populations of *Escontria chiotilla* (Cactaceae) in the Tehuacán Valley, Central Mexico. *Genet Resour Crop Ev* **53**:277-287.
- Ornduff R. 1969. Reproductive biology in relation to systematics. *Taxon* **18**:121-133
- Orozco-Arroyo G, Vázquez-Santana S, Camacho A, Dubrovsky JG & Cruz-García F. 2012. Inception of maleness: auxin contribution to flower masculinization in the dioecious cactus *Opuntia stenopetala*. *Planta* **236**:225-238.
- Otero-Arnaiz A, Casas A, Bartolo C, Pérez-Negrón E & Valiente-Banuet A. 2003. Evolution of *Polaskia chichipe* (Cactaceae) under domestication in the Tehuacán Valley, central Mexico: reproductive biology. *Am J Bot* **90**:593-602.
- Parker KC & Hamrick JL. 1992. Genetic diversity and clonal structure in a columnar cactus, *Lophocereus schottii*. *Am J Bot* **79**:86-96.
- Pérez-Tejada CD & Pérez JR. 2013. La biología de la polinización, páginas 101-109. En: Márquez-Guzmán J, Collazo-Ortega M, Martínez-Gordillo M, Orozco-Segovia A & Vázquez-Santana S (Eds). *Biología de Angiospermas*. Prensas de la Facultad de Ciencias. UNAM. México.
- Petit S. 1995. The pollinators of two species of columnar cacti on Curaçao, Netherlands Antilles. *Biotropica* **27**:538-541.
- Pimienta-Barrios E & Del Castillo RF. 2002. Reproductive biology, páginas 75-90. En Nobel PS (Ed). *Cacti: biology and uses*. University of California Press, Berkeley.
- Piña R. 2000. Ecología reproductiva de *Ferocactus robustus* en el Valle de Zapotitlán Salinas, Puebla. Tesis de Maestría. Escuela Nacional de Ciencias Biológicas, IPN. México, D.F.
- Raguso RA, Henzel C, Buchmann SL & Nabhan GP. 2003. Trumpet flowers of the Sonoran Desert: floral biology of *Peniocereus* cacti and sacred *Datura*. *Int J Plant Sci* **164**:877-892.
- Raimúndez E & Ramírez N. 1998. Estrategia reproductiva de una hierba perenne: *Hypoxis decumbens* (Hypoxidaceae). *Rev Biol Trop* **46**:555-565.
- Rebman JP. 2001. The succulents of Islote Toro, Baja California, Mexico. *Cact Succ Mex* **46**:52-55.
- Rebman JP. 2003. The genus *Echinocereus* in Lower California, Mexico - taxonomy, rarity and reproductive biology. *Cact Succ J Amer* **75**:194-196.
- Renner SS & Ricklefs RE. 1995. Dioecy and its correlates in the flowering plants. *Am J Bot* **82**:596-606.
- Reyes-Agüero JA, Aguirre JR Valiente-Banuet A. 2006. Reproductive biology of *Opuntia*: a review. *J Arid Environ* **64**:549-585.
- Richards AJ. 1997. *Plant breeding systems*. Chapman & Hall, Cambridge.
- Rivera-Marchand B & Ackerman JD. 2006. Bat pollination breakdown in the Caribbean columnar cactus *Pilosocereus royerii*. *Biotropica* **38**:635-642.
- Ross R. 1981. Chromosome counts, cytology, and reproduction in the Cactaceae. *Am J Bot* **68**:463-470.

- Sahley CT. 1996. Bat and hummingbird pollination of an autotetraploid columnar cactus, *Weberbauerocereus weberbaueri* (Cactaceae). *Am J Bot* **83**:1329-1336.
- Sánchez D. 2007. Embriología de *Mammillaria dioica* K. Brandege (Cactaceae). Tesis de Licenciatura. Facultad de Ciencias, UNAM. México, D.F.
- Stephenson AG, Good SV & Vogler DW. 2000. Interrelationships among inbreeding depression, plasticity in the self-incompatibility system, and the breeding system of *Campanula rapunculoides* L. (Campanulaceae). *Ann Bot* **85**:211-219.
- Strong AW & Williamson PS. 2007. Breeding system of *Astrophytum asterias*: an endangered cactus. *The Southwest Nat* **52**:341-346.
- Tepedino VJ, Griswold TL & Bowlin WR. 2010. Reproductive biology, hybridization, and flower visitors of rare *Sclerocactus* taxa in Utah's Uintah basin. *West N Am Naturalist* **70**:377-386.
- Thomson JD & Barrett SC. 1981. Selection for outcrossing, sexual selection and the evolution of dioecy in plants. *Am Nat* **118**:443-449.
- Thompson JN. 1996. Evolutionary ecology and the conservation of biodiversity. *Trends Ecol Evol* **11**:300-303.
- Tiagi YD. 1970. Cactaceae. In symposium on the comparative embryology of the angiosperms. *J Indian Nat Sci Acad* 30-35. En Ross R. 1981. Chromosome counts, cytology, and reproduction in the Cactaceae. *Am J Bot* **68**:463-470.
- Valdés DB, González-Torres LR & Bejerano AP. 2011. Biología de la polinización de *Leptocereus scopulophilus* (Cactaceae) en el Pan de Matanzas, Cuba. *Rev Jard Bot Nac Univ Habana* **32**:163-168.
- Valiente-Banuet A. 2002. Vulnerabilidad de los sistemas de polinización de cactáceas columnares de México. *Rev Chi Hist Nat* **75**:99-104.
- Valiente-Banuet A, Rojas-Martínez A, Del Coro Arizmendi M & Dávila P. 1997a. Pollination biology of two columnar cacti (*Neobuxbaumia mezcalaensis* and *Neobuxbaumia macrocephala*) in the Tehuacan Valley, central Mexico. *Am J Bot* **84**:452-452.
- Valiente-Banuet A, Rojas-Martínez A, Casas A, Del Coro Arizmendi M & Dávila P. 1997b. Pollination biology of two winter-blooming giant columnar cacti in the Tehuacan Valley, central Mexico. *J Arid Environ* **37**:331-341.
- Valiente-Banuet A, Del Coro Arizmendi M, Rojas-Martínez A y Domínguez-Canseco L. 1996. Ecological relationships between columnar cacti and nectar-feeding bats in Mexico. *J Trop Ecol* **12**:103-119.
- Vázquez E, Sánchez E & Maruri B. 2016. Biología floral de *Echinocereus schmollii* (Weing.) N.P. Taylor, especie endémica de Cadereyta de Montes, Querétaro, México. *Cact Suc Mex* **61**:12-28.
- Webb CJ & Lloyd DG. 1986. The avoidance of interference between the presentation of pollen and stigmas in angiosperms II. Herkogamy. *New Zeal J Bot* **24**:163-178.
- Weiss J, Nerd A & Mizrahi Y. 1994. Flowering behavior and pollination requirements in climbing cacti with fruit crop potential. *HortScience* **29**:1487-1492.

Recibido: octubre 2016; Aceptado: noviembre 2016.
Received: October 2016; Accepted: November 2016.

Capítulo 2

**Mating and incompatibility systems in
Strombocactus (Cactaceae): an evidence that
supports their status as endangered taxa**

Manuscrito para ser enviado a publicación

1 **ARTICLE**

2

3 **Mating and incompatibility systems in *Strombocactus* (Cactaceae): traits that decrease their**
4 **possibility of permanence**

5

6 Aldebaran Camacho-Velázquez^{a, b}, Sandra Rios-Carrasco^a, María C. Mandujano^c, Judith Márquez-
7 Guzmán^a, Sonia Vázquez-Santana^a

8

9 ^aLaboratorio de Desarrollo en Plantas, Departamento de Biología Comparada, Facultad de Ciencias,
10 Universidad Nacional Autónoma de México, Ciudad de México, 04510, México.

11 ^bPosgrado en Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional Autónoma de México, Ciudad de
12 México, 04510, México.

13 ^cDepartamento de Ecología de la Biodiversidad, Laboratorio de Genética y Ecología, Instituto de
14 Ecología, Universidad Nacional Autónoma de México, Ciudad de México, 04510, México.

15

16 **Highlights**

17

- 18 • Flowers of the *Strombocactus* genus presents dynamic herkogamy and protandry incomplete.
- 19 • *Stromboactus disciformis* ssp. *disciformis* and *S. corregidora* are self-incompatible and have a
20 strict outcrossing system.
- 21 • *Strombocactus disciformis* ssp. *esperanzae* is self-compatible and has a mixed mating system.

22

23 **Abstract**

24 We studied reproductive aspects of three taxa of *Strombocactus* (*S. disciformis* ssp. *disciformis*, *S.*
25 *disciformis* ssp. *esperanzae* and *S. corregidora*), threatened cacti endemic to the arid regions of
26 Mexico. We examined the breeding system, mating system, outcrossing rate, the presence or absence of
27 inbreeding depression, and the incompatibility system exhibited by these taxa, based on the evaluation
28 of floral behavior and characteristics, controlled pollination treatments, and pollen tube growth.
29 Likewise, it was evaluated whether these traits are related to their vulnerability. Flowers in the three
30 taxa were hermaphroditic, diurnal, infundibuliform, dynamically herkogamous, and incomplete
31 protandrics. The pollen/ovule ratio in *Strombocactus* reflects a facultative autogamy breeding system,
32 while the outbreeding index shows it is xenogamous. However, *S. disciformis* ssp. *disciformis* and *S.*
33 *corregidora* are self-incompatible and have a strict outcrossing system; therefore, they need
34 pollinators for cross-pollination. *Strombocactus disciformis* ssp. *esperanzae* is self-compatible and has
35 a mixed mating system, with low levels of inbreeding depression at the fruit set and seed set. A strict
36 outcrossing system can restrict reproductive success in small populations (*S. corregidora*), limiting the
37 chances of outcrossing. Whereas *S. disciformis* ssp. *esperanzae*, which is self-compatible and presented
38 a small population, can self-fertilize, with the reproductive cost of a low seed production. Thus, the
39 critical reduction of their populations due to the intrinsic and extrinsic factors of each taxon puts their
40 existence at risk.

41

42 **Keywords:** Inbreeding depression; Outcrossing; Selfing; Self-compatibility; Self-incompatibility;
43 *Strombocactus*.

44

45 **1. Introduction**

46

47 The Cactaceae family is one of the most vulnerable groups in the wild (Goettsch et al., 2015). Among
48 the threats are the extraction of plants, fruits, and seeds for the illegal trade and the change in land use
49 for agriculture and animal breeding (Anderson et al., 1994; Arias et al., 2005). Besides, these
50 anthropogenic threats are the intrinsic factors of the species as the long life cycles, the slow-growing of
51 plants, the dependency of pollinators, and the low recruitment rates (Mandujano et al., 2010).

52 Recently, there has been increased interest in research on the reproductive biology of species of
53 Cactaceae with some degree of vulnerability, as a necessary framework to guide protection and
54 conservation efforts (Strong and Williamson, 2007; Martínez-Peralta et al., 2014a; Matias-Palafox et
55 al., 2017; Zepeda et al., 2017). *Strombocactus disciformis* is included as threatened species in NOM-
56 059 (SEMARNAT, 2010) and as vulnerable in the Red List (IUCN, 2019), although the subspecies *S.*
57 *disciformis* ssp. *disciformis* (DC.) Britton & Rose and *S. disciformis* ssp. *esperanzae* Glass & S. Arias
58 are not treated separately; even, *S. corregidora* S. Arias & E. Sánchez is not included in any of the
59 lists. Whereas all *Strombocactus* species are in Appendix I of CITES (2017). The vulnerability of
60 natural populations of *Strombocactus* has increased due to low seedlings recruitment (per. obs.; Olmos-
61 Lau, 2016) and the general decrease in the number of individuals per population, mainly resulting from
62 anthropogenic activities, land-use change for agriculture, and the extraction of plants, fruits and seeds
63 for illegal national and international trade (Glass and Arias, 1996; Arias and Sánchez-Martínez, 2010;
64 Olmos-Lau and Mandujano, 2016). Therefore, information regarding the various reproductive
65 strategies used by each of the *Strombocactus* taxa that allows their survival is of great importance to
66 understand population dynamics and to identify traits that could limit natural regeneration, that is
67 necessary for the establishment of recovery plants.

68 The study of the reproductive biology of angiosperms is essential to understand the processes
69 involved in flower, fruit and seed formation that are key to the recruitment of new individuals in a
70 population, allowing its persistence through time (Matias-Palafox et al., 2017). These include strategies
71 for sexual/asexual propagation, breeding and mating systems, sexual expression, floral biology, as well

72 as the relationship with pollinators and other floral visitors (Dafni, 1992; Richards, 1997). Mating
73 systems determine how gametes are dispersed and fused, and include selfing, outcrossing and mixed
74 systems, which involve variations of the first two (Richards, 1997). Mating systems are associated with
75 the breeding systems (Cruden, 1977), to the presence or absence of a self-incompatibility system (SI),
76 to the production of unisexual flowers either in the same individual (monoecy) or in different plants
77 (dioecy) (Barrett, 2002a), as well as to pollinator presence and behavior (Kephart et al., 1999).

78 Breeding systems depend on different floral attributes: on the spatial (herkogamy) and temporal
79 (dichogamy) separation of the sexual whorls, flower diameter, and the pollen/ovule (P/O) ratio
80 (Cruden, 1977). Based on these attributes, Cruden (1977) classified species as cleistogamous,
81 autogamous, facultative autogamous, facultative xenogamous, and xenogamous. Outcrossing species
82 tend to produce large, herkogamous and dichogamous flowers, with a large number of pollen grains per
83 ovule, as well as rewards for pollinators. In contrast, selfing species tend to exhibit small flowers, with
84 little separation between anthers and stigma, low P/O ratio, and generally do not offer pollinator
85 rewards (Cruden, 1977; Richards, 1997). The breeding system is an approximation to the mating
86 system of a species. Controlled pollinations are a precise way in which a mating system can be
87 evaluated (Dafni, 1992). Because of characteristics like dichogamy and herkogamy act more like
88 promoters of pollen exchange rather than barriers to avoid inbreeding (Lloyd and Webb, 1986; Webb
89 and Lloyd, 1986), since both autonomous and pollinator mediated self-pollination remain possible, a
90 significant number of species have developed a biochemical genetically based mechanism for self-
91 pollen recognition and rejection, named self-incompatibility system (SI; de Nettancourt, 1997).

92 The genetic control exerted by SI, allows the gynoecium to recognize and reject its self or self-
93 related pollen and accepting pollen from other genetically related plants, thereby promoting outcrossing
94 and evading inbreeding depression (de Nettancourt, 1997). Species with SI require efficient vectors
95 during pollen transfer between individuals to produce seeds, so attracting pollinators is extremely
96 important for reproductive success (Richards, 1997; Vervoort et al., 2011). In SI species within small

97 or fragmented populations, the number of compatible crosses is restricted, so finding an appropriate
98 mate and producing offspring represents a more significant challenge (Busch and Schoen, 2008), which
99 reduces, even more, the effective size of the population and increases the risk of extinction.
100 Furthermore, the floral display is limited or becomes affected, causing alterations in pollinator
101 abundance, composition, and foraging behavior (Wilcock and Neiland, 2002), whereas species with
102 autonomous self-pollination can reproduce without the need for a pollen vector, as long as they are
103 self-compatible (Kalisz and Vogler, 2003).

104 This research aimed to generate information of the *Strombocactus* genus on 1) the floral biology,
105 2) breeding system, whether autogamous or xenogamous, 3) mating system, either selfing, outcrossing
106 or mixed, 4) the presence or absence of an incompatibility system, 5) inbreeding depression and 6) to
107 assess if these traits are related to their current vulnerability status.

108

109 **2. Materials and methods**

110

111 *2.1. Species and studied sites*

112

113 The species of *Strombocactus* are found in the states of Guanajuato, Hidalgo, and Querétaro, Mexico.
114 The ranges distribution of *Strombocactus* species are located within a semiarid region in the southern
115 Chihuahuan Desert, Mexico, the Queretaroan-Hidalgoan Desert region, which is characterized by a
116 high endemic number of genera and species of Cactaceae (Dinerstein et al., 2000; Sánchez-Martínez et
117 al., 2006); and some of these species are included in some kind of risk. At least nine localities have
118 been reported for *S. disciformis* ssp. *disciformis* in these states, whereas *S. corregidora* is restricted to
119 three populations in the area of Cañón del Infiernillo, Querétaro. For both species, a single location in
120 Cadereyta de Montes, Querétaro was studied due to its accessibility. The fieldwork was performed
121 during February and March from 2014 to 2017. During this period, no individuals of *S. disciformis* ssp.

122 *esperanzae* could be found in its natural habitat in Xichú, Guanajuato. Therefore, all measurements and
123 observations on the life cycle of the flower, pollination treatments, as well as recollection of biological
124 samples, were performed on individuals from the living collection of the Botanical Garden of the
125 UNAM and the Regional Botanical Garden of Cadereyta, Querétaro. In February of 2018, a field
126 excursion was carried out in search of *S. disciformis* ssp. *esperanzae*, and a population was found near
127 Atarjea, Guanajuato. Because it coincided with the fruiting period, 30 fruits were collected to use as a
128 control. Some of the floral measurements (longevity, opening, and closure of the corolla, stigma
129 receptivity) as well as pollination treatments of *S. corregidora* were performed on individual plants
130 from the living collection of the Botanical Garden of the UNAM and the Regional Botanical Garden of
131 Cadereyta, Querétaro.

132

133 2.2. *Floral biology*

134

135 For each taxon, floral longevity and perianth aperture and closure time were recorded during 5 or 7
136 consecutive days, in a sample of flowers ($n=20$) from plants selected randomly; in these flowers, the
137 diameter of perianth aperture was measured at one-hour interval throughout the day. Thirty flowers in
138 anthesis from different individuals of each taxon were collected and fixed in ethanol 70%, and the
139 length of the style, of inner- and outermost stamens, as well as the length and diameter of the ovary
140 cavity, were measured, using a digital vernier caliper (Mitutoyo, CD-6"CX). Thirty flower buds of each
141 taxon were collected and fixed in ethanol 70 % and were used to count the number of ovules, stamen,
142 pollen grain, and stigmatic lobes.

143

144 2.3. *Breeding system*

145

146 Two methods for evaluating breeding systems were used, based on Cruden (1977). The outcrossing
147 index considers floral diameter and the presence or absence of both herkogamy and dichogamy. In this
148 index, homogamy and protogyny have a value of 0. While one point is assigned to each one when are
149 herkogamic and protandric, and 0-3 points to the diameter of the perianth. Thus, the breeding systems
150 are considered as cleistogamous (0), autogamous (1), facultative autogamous (2), facultative
151 xenogamous (3), and xenogamous (4). The second index takes into consideration the pollen/ovule ratio
152 (P/O). To calculate the average floral diameter, 30 flowers from different plants of each taxon, were
153 measured. Herkogamy (spatial separation between the stigma and anthers within the flower), was
154 evaluated using the data obtained from floral morphometry, employing a paired *t*-test to determine
155 differences between style and stamens length. Dichogamy (temporal separation of male and female
156 functions) was assessed through direct observation before, during and after anthesis to determine the
157 timing of anther dehiscence, and the expansion and receptivity of the stigmatic lobes ($n=20$, for each
158 taxon). Stigma receptivity was evaluated with hydrogen peroxide (H_2O_2) to detect peroxidase activity
159 (Dafni, 1992). The test was performed on five preanthesis bud flowers and in a total of 25 flowers for
160 each taxon for five days (five flowers per day). The P/O ratio was calculated from the total number of
161 ovules and pollen grains counted in each floral bud ($n=30$). Ovules were counted in flower buds near
162 anthesis with the aid of a Carl Zeiss Stemi DV4 stereoscopic microscope. To estimate pollen grain
163 number, undehisced anthers were placed in Eppendorf tubes with 100 μ l of distilled water and
164 detergent, opened with the help of a dissecting needle and agitated using a Vortex-Genie 2 (Scientific
165 Industries), after which individual pollen grains present in 10 μ l (dilution factor= 10) were counted
166 using a Neubauer chamber under a standard Carl Zeiss 25ICS optical microscope. The value obtained
167 was multiplied by the dilution factor to get the number of pollen grains per anther, and then this value
168 was multiplied by the number of anthers in flower (Cruden, 1977).

169

170 *2.4. Mating system and outcrossing rate*

171

172 To evaluate the mating system in each of the taxa the following pollination treatments were performed
173 ($n=30$ for each treatment): 1) Control, flowers with open (natural) pollination; 2) Hand cross-
174 pollination, a mixture of pollen from different individuals was applied to the stigma of flowers that had
175 been previously emasculated and covered with cloth bags; 3) Natural self-pollination, flowers were not
176 manipulated, only covered prior to anthesis to avoid pollinators; 4) Hand self-pollination, flowers were
177 pollinated with their own pollen and covered; 5) Apomixis, flowers were emasculated prior to anthesis
178 and covered to avoid self or foreign pollen from being deposited on the stigma. Seed production in all
179 taxon was analyzed using log linear models with a Poisson distribution error using JMP software
180 version 10. The outcrossing rate (t_e) was estimated from the number of fruits and seeds produced in the
181 hand self-pollination and hand cross-pollination treatments, using the equation: $t_e = W_e / (W_e + W_a)$,
182 where W_e is the result from outcrossing and W_a from selfing. The outcrossing rate varies from 0 to 1,
183 where 0 reflects strictly selfing, and 1 is for exclusively outcrossing. Values between 0.2 and 0.8
184 correspond to species with a mixed mating system; therefore, values > 0.5 tend towards outcrossing,
185 whereas values < 0.5 tend to selfing (Barrett and Eckert, 1990; Mandujano et al., 2010).

186

187 *2.5. Incompatibility system and inbreeding depression*

188

189 In each taxon, ten flowers were hand self-pollinated, and ten were cross-pollinated. At 72 h post-
190 pollination, gynoecia were fixed in FAA (10: 50: 5: 35, formaldehyde: ethanol 96 %: acetic acid:
191 distilled water) rinsed in water, softened in $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_5$ 10 % for one h, and then rinsed again in distilled
192 water before adding aniline blue 1 % in K_3PO_4 0.1N during 12 h at 4 °C. The gynoecia were pressed
193 between a slide and a cover slide and then observed under an Olympus Provis AX70 fluorescence
194 microscope equipped with a digital camera, to show the existence of some SI type. Using the results
195 from the hand self-pollination and hand cross-pollination treatments, inbreeding depression was

196 calculated using the equation: $\delta = 1 - (W_s / W_o)$, where W_s is the result of selfing and W_o of outcrossing
197 (Lande and Schemske, 1985; Charlesworth and Charlesworth, 1987), considering the average number
198 of fruits and seeds formed in each treatment. For a cumulative result, we used the equation: $\delta = 1 -$
199 $[(W_{sa} / W_{oa}) \times (W_{sb} / W_{ob})]$, where a is the fruit phase and b the seed (Husband and Schemske, 1996).
200 Inbreeding depression values range from 0 to 1, where 0 indicates the absence of inbreeding depression
201 and values near 1 indicate high levels of inbreeding (Lande and Schemske, 1985; Husband and
202 Schemske, 1996).

203

204 2.6. Statistical analysis of floral characters

205

206 Values are expressed as average \pm standard error (SE). In each case, the Shapiro-Wilk normality test
207 was used. The difference in flower length, style length, internal stamen length, external stamen length,
208 stamen number, pollen grain number, and ovule number, for each taxon was analyzed with one-way
209 ANOVA and significant differences between taxa with a Tukey post-hoc test. Kruskal-Wallis followed
210 by Dunn's test for multiple comparisons were applied to floral diameter, length of the ovary chamber,
211 the diameter of the ovary cavity, and the number of stigmatic lobes. All data were analyzed using
212 GraphPad Prism ver 5.0 software.

213

214 3. Results

215

216 3.1. Floral biology

217

218 Flowers in the genus *Strombocactus* are hermaphroditic, diurnal and infundibuliform. Perianth
219 segments (tepals) in *S. disciformis* ssp. *disciformis* vary from white to whitish-yellow, with a bright
220 magenta coloring along the midvein on the abaxial surface; in *S. disciformis* ssp. *esperanzae* tepals are

221 bright magenta, paler towards the margins, whereas in *S. correjidorae* tepals range from light to
222 intense yellow, with a reddish tint on the abaxial surface. The largest flower is that of *S. correjidorae*
223 followed by that of *S. disciformis* ssp. *disciformis* and finally that of *S. disciformis* ssp. *esperanzae*
224 (Table S1). The ovary chamber is ellipsoidal with numerous ovules. The style ranges from white to
225 light yellow in *S. disciformis* ssp. *disciformis* and *S. correjidorae*, while in *S. disciformis* ssp.
226 *esperanzae* it varies from white to a light magenta. The stigmatic lobes in *S. disciformis* ssp.
227 *disciformis* are white to light yellow, white to light pink in *S. disciformis* ssp. *esperanzae*, and yellow in
228 *S. correjidorae*. The nectarial tissue is relatively small concerning flower size and is located beneath
229 the insertion of the internal stamens. Stamens are numerous, with a white filament and yellow anthers
230 filled with abundant pollen grains. The flowers of *S. correjidorae* have supernumerary ovules, stamens
231 and pollen grains than the flowers of *S. disciformis* ssp. *disciformis* and *S. disciformis* ssp. *esperanzae*
232 (Table S1). In *S. disciformis* ssp. *esperanzae*, flowers begin to open between 8:00 and 10:00 h and
233 close between 16:00 and 17:00 h, whereas in *S. disciformis* ssp. *disciformis* and *S. correjidorae*
234 flowers close between 17:00 and 18:00. Maximum aperture of the perianth occurred at 14:00 h in all
235 taxa (Fig. 1). Flower longevity ranged from one to five days in *S. correjidorae* and *S. disciformis* ssp.
236 *esperanzae*, and from one to seven days in *S. disciformis* ssp. *disciformis* (Table S1) if cross-pollination
237 did not occur.

238

239 3.2. Breeding system

240

241 Regarding the length of the style and the longest stamens (at anthesis), significant differences were
242 observed in the three taxa (*S. disciformis* ssp. *disciformis*: $t = 18.59$, $df = 29$, $P < 0.0001$; *S. disciformis*
243 ssp. *esperanzae*: $t = 2.9$, $df = 29$, $P < 0.05$; *S. correjidorae*: $t = 21.06$, $df = 29$, $P < 0.0001$), evidencing
244 the presence of herkogamy. The average of the separation between stigma and anthers was 2.36 ± 0.11
245 mm in *S. correjidorae*, 1.77 ± 0.09 mm in *S. disciformis* ssp. *disciformis* and 0.18 ± 0.06 mm in *S.*

246 *disciformis* ssp. *esperanzae*. If flowers had not received pollen from a different individual, they
247 continued to open during various several days, while the filament kept on extending until the anthers
248 reached or covered the stigma, a process known as dynamic herkogamy (Nassar and Ramírez, 2004;
249 Fig. 2). Anther dehiscence in all three taxa occurred before anthesis and pollen shed before the
250 stigmatic lobes were expanded; therefore, flowers in *Strombocactus* are protandric. Stigma receptivity
251 in the three taxa starts since the moment in which the stigmatic lobes expand, which occurred
252 approximately two and a half hours post-anthesis. If flowers opened in consecutive days, receptivity
253 lasted until the fourth day. According to the outcrossing index, the three taxa have a value of 5,
254 indicating they are xenogamous, since flowers had a diameter greater than 6 mm, and they were
255 herkogamous and dichogamous (Table S1). The P/O ratio showed that all three taxa fall into the
256 facultative autogamous category (Table S1).

257

258 3.3. Mating system and outcrossing rates

259

260 Neither fruits nor seeds were formed in the treatments to evaluate apomixis in any of the taxa (Table 1),
261 indicating that in *Strombocactus*, seeds develop exclusively through a sexual pathway. In *S. disciformis*
262 ssp. *disciformis* and *S. corregidora*, fruits and seeds were formed only in the control and manual
263 cross-pollination treatments (Table 1), showing that these two taxa are strictly outcrossers, and further
264 supported by the outcrossing rate, which in these taxa had a value of 1, at both the fruit and seed level.
265 Particularly, during the fieldwork in the *S. disciformis* ssp. *disciformis* population some floral visitors
266 were observed carry pollen grains and touching stigma lobes (Fig. S1A-G), while others were
267 florivorous (Fig. S1H-Q) or unexpected visitors (Fig. S1R).

268 In contrast, in *S. disciformis* ssp. *esperanzae* fruits and seeds were formed in the control treatment,
269 in manual cross-pollinated, as well as in the natural and hand self-pollinated treatments (Table 1). The
270 estimated outcrossing rate was 0.5 and 0.59 at the fruit and seed level, respectively, thus revealing a

271 mixed mating system. The average number of seeds in the hand cross-pollination treatment was
272 significantly higher than the control for all the taxa (Table 1; *S. disciformis* ssp. *disciformis*: $X^2 = 1724$,
273 $df = 1$, $P < 0.0001$; *S. disciformis* ssp. *esperanzae*: $X^2 = 3602$, $df = 3$, $P < 0.0001$; *S. corregidora*: $X^2 =$
274 709 , $df = 1$, $P < 0.0001$).

275

276 3.4. Incompatibility system and inbreeding depression

277

278 In all cross-pollination treatments, the pollen grains germinated on the stigma (Fig. 3A, G and M) and
279 pollen tubes grew through the style (Fig. 3B, H and N) until the ovary (Fig. 3C, I and O), where
280 fertilization took place. In contrast, in the self-pollination treatments, in both *S. disciformis* ssp.
281 *disciformis* (Fig. 3D-F) and *S. corregidora* (Fig. 3P-R) pollen tubes reached the ovary, although they
282 did not penetrate the micropyle. The above shows that these taxa present an ovarian self-
283 incompatibility, and therefore, are unable to produce fruits through selfing. In the case of *S. disciformis*
284 ssp. *esperanzae* self-pollination treatments (Fig. 3J-L), the pollen tubes reached the ovules and
285 penetrated the micropyle, resulting in the formation of seeds and fruits, indicating that this species has
286 not SI. In *S. disciformis* ssp. *esperanzae* inbreeding depression values were $\delta = 0.04$ for fruit formation,
287 $\delta = 0.32$ for seed formation, and the cumulative was $\delta = 0.35$, showing that the studied individuals
288 exhibit low levels of inbreeding depression.

289

290 4. Discussion

291

292 4.1. Floral biology and breeding system

293

294 The three taxa of *Strombocactus* are hermaphrodite, a condition that is frequent in the Cactaceae family
295 (Mandujano et al., 2010). The presence of both reproductive organs in the same flower increases

296 opportunities for self-pollination, compromising genetic variability in the species (Barrett, 2002b).
297 However, the studied taxa of *Strombocactus* show strategies like herkogamy and dichogamy may
298 diminish or avoid sexual interference between the male and female functions (Lloyd and Webb, 1986;
299 Webb and Lloyd, 1986). Whereas the presence of SI in *S. disciformis* ssp. *disciformis* and *S.*
300 *corregidora*, is the strategy that avoids self-crossing, ensuring that the only pollen grains that will
301 fertilize will be those that come from a different individual, increasing genetic diversity (de
302 Nettancourt, 1997). In contrast, *S. disciformis* ssp. *esperanzae* is self-compatible and develops seeds
303 through both selfing and outcrossing.

304 In the three studied taxa, pollen is shed before anthesis and the onset of stigma expansion and
305 receptivity; therefore, dichogamy is protandric. Because male and female functions in the flowers
306 overlap at a given time, we consider that the protandry is incomplete in *Strombocactus*, as proposed by
307 Lloyd and Webb (1986). The partial overlap between sexual functions reduces pollen-stigma
308 interference and increases the proportion of pollen available for dispersion (Lloyd and Webb, 1986), at
309 least during the first few hours of floral anthesis. Notwithstanding, geitonogamy or autogamy may exist
310 in individuals that produce more than one flower or have incomplete protandry, respectively (Lloyd
311 and Webb, 1986). Protandry has been reported in some members of Cactoideae: in the seven species of
312 *Ariocarpus* (Martínez-Peralta et al., 2014a), *Ferocactus histrix* (Del Castillo, 1994).

313 The presence of herkogamy by proximity (stigma above the anthers) in the three taxa of
314 *Strombocactus* is unordered homomorphic (Webb and Lloyd, 1986). This type of spatial separation
315 favors outcrossing since it reduces the potential saturation of the stigma with self-pollen (Webb and
316 Lloyd, 1986), at least during the initial stages of the floral cycle, even though at later stages the
317 separation between the anthers and stigma is getting shorter until it disappears. Therefore, dynamic
318 herkogamy in *Strombocactus* is considered as a process that avoids sexual interference at the beginning
319 and facilitates self-pollination during the latter part of the floral cycle (Nassar and Ramírez, 2004). On
320 the other hand, the herkogamy dynamism ensures the production of seeds in self-compatible plants,

321 when the possibilities of outcrossing were exhausted, to which Faegri and Van Der Pijl (1979) named it
322 a "fail-safe", what happens in *S. disciformis* ssp. *esperanzae*, since in the treatment of natural self-
323 pollination results in the formation of fruits and seeds, the reason why it presents autonomous self-
324 pollination.

325 Based only on the P/O ratio, the three taxa of *Strombocactus* have a facultative autogamous
326 breeding system, in which species produce seeds mainly by selfing, but also have the capacity to do so
327 by outcrossing (Cruden, 1977). It is important to note that the P/O in the three taxa studied is low due
328 to the high number of ovules they have. The P/O ratio differed from the results obtained with the
329 outcrossing index (Cruden, 1977) that shows the system is xenogamous for the three taxa.

330

331 4.2. Mating and incompatibility systems

332

333 Furthermore, the results of the controlled pollination treatments and outcrossing rate in *S. disciformis*
334 ssp. *esperanzae* shows a mixed mating system, since control, manual cross-pollination, natural self-
335 pollination, and hand self-pollination experiments formed fruits and seeds. Whereas *S. disciformis* ssp.
336 *disciformis* and *S. corregidora* are strict outcrossing since only the control, and hand-pollination
337 treatments produced fruits and seeds. Outcrossing is also present in other species of the Cacteeae tribe
338 (for example, Johnson, 1992; Del Castillo, 1994; Matias-Palafox et al., 2017). Some members that are
339 mainly outcrossing are capable of producing low numbers of fruits and seeds through selfing
340 (McIntosh, 2002; Martínez-Peralta et al., 2014a). Likewise, a mixed mating system has been
341 documented in some species of the Cactoideae subfamily (see: Weiss et al., 1994; Nassar et al., 2007).

342 The non-formation (*S. disciformis* ssp. *disciformis* and *S. corregidora*) or decrease (*S. disciformis*
343 ssp. *esperanzae*) in the number of fruits and seeds resulting from hand and natural self-pollination
344 treatments, may suggest the presence of a total or partial incompatibility system, which prevents the
345 formation of seeds by self-fertilization (de Nettancourt, 1997; Eaves et al., 2014); or due to the effects

346 of inbreeding depression, which may occur at the level of embryo development, seed germination or
347 seedling survival (Mandujano et al., 1996).

348 Results on pollen tube growth indicate both *S. disciformis* ssp. *disciformis* and *S. correjidorae*
349 have an ovarian SI system, in which self-pollen tube growth is inhibited at the ovary level, and these
350 neither reach nor penetrate the ovules (Sedgley, 1994; Gibbs, 2014). In Cactaceae, this SI is a
351 mechanism that has only been reported in *Hylocereus lemairei* (Lichtenzveig et al., 2000). Meanwhile,
352 in other species of Cactoideae, pollen rejection occurs in different regions of the style, an indicator of
353 gametophytic SI (See: Boyle and Idnurm, 2001; Boyle, 2003; Martínez-Peralta et al., 2014b). The
354 simultaneous occurrence of dichogamy and herkogamy with SI in at least two of the taxa of
355 *Strombocactus* (*S. disciformis* ssp. *disciformis* and *S. correjidorae*), suggests that the first two
356 mechanisms may increase fitness avoiding sexual interference (Lloyd and Webb, 1986; Webb and
357 Lloyd, 1986; Richards, 1997; Barrett, 2002b). The presence of SI in *S. disciformis* ssp. *disciformis* and
358 *S. correjidorae* indicates that both depend strictly on vectors to transport pollen to compatible
359 gynoecium so that fertilization takes place (Castro et al., 2008).

360 While *S. disciformis* ssp. *esperanzae* is self-compatible, therefore; it can preserve the advantages of
361 high genetic diversity through outcrossing or ensure its survival via selfing (Barrett, 2014), by not
362 wholly depending on its pollinators because it presents autonomous self-pollination associated with a
363 dynamic herkogamy. Regarding the outcrossing rate (t_e) of *S. disciformis* ssp. *esperanzae* at the fruit
364 level indicates that its success in fruit production is similar for both types of crosses (selfing and
365 outcrossing), whereas the value for seeds shows that fruits obtained by outcrossing produce more seeds
366 than fruits formed by self-pollination, indicating a mixed mating system with a slight predilection for
367 outcrossing at this level (Barrett and Eckert, 1990; Mandujano et al., 2010). In this taxon low levels of
368 inbreeding depression were obtained ($\delta = 0.04, 0.32$ y 0.35 at the level of fruits, seeds and cumulative,
369 respectively), compared to other cacti that have a mixed cross system and an accumulated value of $\delta >$
370 0.5 (Mandujano et al., 1996, 2013; Martínez, 2007). A low inbreeding depression suggests the presence

371 of selective pressures that favor selfing (Husband and Schemske, 1996; Barrett, 2014). However, other
372 stages of the *S. disciformis* ssp. *esperanzae* life cycle, such as germination and seedling establishment,
373 were not analyzed to determine if there is a reduction in the fitness of inbreeding progeny at these
374 levels, as seen in *Opuntia rastrera* (Mandujano et al., 1996).

375

376 *4.3. Mating and incompatibility systems implications in the vulnerability of the taxa*

377

378 Altogether, our results indicate that the studied *Strombocactus* taxa possess floral attributes that
379 promote outcrossing, such as dichogamy, herkogamy, and high pollen production. Furthermore, the
380 presence of SI in *S. disciformis* ssp. *disciformis* y *S. correjidorae* renders them strict outcrossers,
381 whereas *S. disciformis* ssp. *esperanzae* is self-compatible and exhibits a mixed mating system. Mating
382 systems have important implications in population genetic structure and diversity (Hamrick and Godt,
383 1996; Barrett, 2014). It is of great interest to know the seed formation paths in species with some
384 degree of vulnerability since factors such as floral synchrony, florivory, dependence on pollinators,
385 pollinator behavior, and a low number of individuals within populations (Schemske et al., 1994)
386 mainly for *S. disciformis* ssp. *esperanzae* and *S. correjidorae* may be decisive for the permanence and
387 restoration for the populations of these taxa. The observations of the floral visitors of *Strombocactus*
388 taxa are not enough to obtain the best interpretation of the effective pollinators, because the time of
389 observations in each taxon needs to be increased. In *S. disciformis* ssp. *disciformis*, preliminary
390 observations indicate that the potential pollinators are solitary bees (Megachilidae, Melittidae and
391 *Lasioglossum* sp.), in accordance with their behavior and frequent visits.

392 Both *S. disciformis* ssp. *disciformis* and *S. correjidorae* present an outcrossing system that
393 promotes genetic exchange and diversity in their progeny (Charlesworth and Charlesworth, 1987);
394 nevertheless, they are highly dependent on pollinators and the synchronic flowering of compatible
395 individuals for fertilization. In small populations, as in the case of *S. correjidorae*, the number of

396 compatible crosses diminishes, which may result in the reduction of the effective population size
397 (Busch and Schoen, 2008), increasing the risk of extinction. A higher floral display could aid in
398 reducing this effect by intensifying the attraction of pollinators to a particular population, increasing the
399 probability of obtaining compatible crosses, thus leading a higher number of seeds that likely will give
400 rise to new recruitments depending on the environmental conditions. Conversely, selfing leads to the
401 loss of heterozygosity and inbreeding depression in the progeny due to the accumulation of deleterious
402 mutations (Charlesworth and Charlesworth, 1987; Kephart et al., 1999), although it provides
403 reproductive security whenever outcrossing is limited by the availability of pollinators or compatible
404 mates (Barrett, 2014).

405 Based on the average number of developed seeds in the control treatment (NDS) and the average
406 number of ovules per flower (PPS) for each taxon, the seed production efficiency (SE) was calculated,
407 using the formula $SE=(NSD/PPS) \times 100$ (Camacho-Velázquez et al., 2018). Both in *S. disciformis* ssp.
408 *disciformis* and *S. disciformis* ssp. *esperanzae* nearly 70% of the ovules were developed into seeds,
409 whereas only 50 % did so in *S. corregidora*. Although the studied population of *S. disciformis* ssp.
410 *esperanzae* produces a significant number of seeds wildly, its vulnerability is due to the higher levels of
411 illegal extraction and the anthropogenic disturbance (per. obs.).

412 On the other hand, the low estimated efficiency obtained for seed production in *S. corregidora*
413 may be the consequence of either ovule abortion or inefficient pollination, possibly due to a reduced
414 number of visits by pollinators, since we were unable to detect floral visitors. Furthermore, this taxon is
415 self-incompatible and presented a small population at the study site, which reduces further the number
416 of compatible mates. These traits can be considered intrinsic factors that place this population in a
417 threatened status.

418

419 **5. Conclusions**

420

421 In conclusion, *S. disciformis* ssp. *disciformis* and *S. corregidora* are strict outcrossers with a functional
422 ovarian incompatibility system, depend pollinators to ensure reproduction. Therefore, a decrease in
423 their populations due to their ornamental value (illegal extraction of individuals and destruction of
424 habitat) limits the chances of outcrossing, putting their survival at risk. Whereas *S. disciformis* ssp.
425 *esperanzae* is self-compatible and has a small population and mixed mating system with low levels of
426 inbreeding depression (suggesting it favors self-fertilization), if it were to present a significant
427 reduction, it could increase the self-fertilization rate, decreasing the fitness of the population, however,
428 provides reproductive security in the absence of mates or pollinators. The information here presented
429 on the reproductive biology of the genus *Strombocactus* will aid in the design of specific propagation,
430 restoration and conservation programs for each of the taxa.

431

432 **Acknowledgements**

433

434 This research was supported by Program DGAPA-PAPIIT (IN-223814), and CONACyT (101771)
435 granted to SV-S. This article constitutes part of the requirements of the Programa de Posgrado en
436 Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM) for A. Camacho-
437 Velázquez, who acknowledges the scholarship and financial support given by the Consejo Nacional de
438 Ciencia y Tecnología (CONACyT) and the UNAM. We wish to thank Alberto Carrasco, César
439 González, Fernanda Rodríguez, Ikal Paredes, Nadia Castro, and Rocío Hernández for their help during
440 the field work. We also thank Ana Isabel Bieler for the technical support in light microscopy; Pactli
441 Ortega for help on insect identification; Daniel Sánchez, Salvador Arias, Jerónimo Reyes, Gabriel
442 Olalde (JB-IB-UNAM), Emiliano Sánchez and Magdalena Hernández (JBR Cadereyta) and Patricia
443 Olgúin (Invernadero-FC-UNAM) with their help with the biological collections. We are also grateful to
444 the anonymous reviewers for the comments and suggestions that have enriched this paper.

445

446 **References**

447

448 Anderson, E.F., Arias, S., Taylor, N.P., 1994. Threatened cacti of Mexico. *Succ. Pl. Res.* 2, 1–135.

449 Arias, S., Guzmán, U., Mandujano, M.C., Soto-Galván, M., Golubov, J., 2005. Las especies mexicanas
450 de cactáceas en riesgo de extinción. I Una comparación entre los listados NOM-059-ECOL-2001
451 (México), La Lista Roja (UICN) y CITES. *Cact. Suc. Mex.* 50, 100–125.

452 Arias, S., Sánchez-Martínez, E., 2010. Una especie nueva de *Strombocactus* (Cactaceae) del río
453 Moctezuma Querétaro, México. *Rev. Mex. Biodivers.* 8, 619–624.

454 <http://dx.doi.org/10.22201/ib.20078706e.2010.003.633>

455 Barrett, S.C.H., 2002a. The evolution of plant sexual diversity. *Nat. Rev. Genet.* 3, 274–284.

456 <https://doi.org/10.1038/nrg776>

457 Barrett, S.C.H., 2002b. Sexual interference of the floral kind. *Heredity* 88, 154–159.

458 <https://doi.org/10.1038/sj/hdy/6800020>

459 Barrett, S.C.H., 2014. Evolution of mating systems: outcrossing *versus* selfing, in: Losos, J. (Ed.), *The*
460 *Princeton Guide to Evolution*. Princeton University Press, New Jersey, pp. 356–362

461 Barrett, S.C.H., Eckert, C.G., 1990. Variation and evolution of mating systems in seed plants, in:
462 Kawano, S. (Ed.), *Biological Approaches and Evolutionary Trends in Plants*. Academic Press,
463 London, pp. 229–254

464 Boyle, T.H., 2003. Identification of self-incompatibility groups in *Hatiora* and *Schlumbergera*
465 (Cactaceae). *Sex. Plant Reprod.* 16, 151–155. <https://doi.org/10.1007/s00497-003-0187-3>

466 Boyle, T.H., Idnurm, A., 2001. Physiology and genetics of self-incompatibility in *Echinopsis*
467 *chamaecereus* (Cactaceae). *Sex. Plant Reprod.* 13, 323–327.

468 <https://doi.org/10.1007/s004970100073>

469 Busch, J.W., Schoen, D.J., 2008. The evolution of self-incompatibility when mates are limiting. *Trends*
470 *Plant Sci.* 13, 128–136. <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2008.01.002>

- 471 Camacho-Velázquez, A., Arias, S., García-Campusano, F., Sánchez-Martínez, E., Vázquez-Santana, S.,
472 2018. Seed development and germination of *Strombocactus* species (Cactaceae): A comparative
473 morphological and anatomical study. *Flora* 242, 89–101.
474 <https://doi.org/10.1016/j.flora.2018.03.006>
- 475 Castro, S., Silveira, P., Navarro, L., 2008. Effect of pollination on floral longevity and costs of delaying
476 fertilization in the out-crossing *Polygala vayredae* Costa (Polygalaceae). *Ann. Bot.* 102, 1043–
477 1048. <https://doi.org/10.1093/aob/mcn184>
- 478 Charlesworth, D., Charlesworth, B., 1987. Inbreeding depression and its evolutionary consequences.
479 *Ann. Rev. Ecol. Syst.* 18, 237–268. <https://doi.org/10.1146/annurev.es.18.110187>.
- 480 CITES, 2017 Convención sobre el comercio internacional de especies amenazadas de fauna y flora
481 silvestres. UNEP Apéndices I, II y III.
- 482 Cruden, R.W., 1977. Pollen-ovule ratios: a conservative indicator of breeding systems in flowering
483 plants. *Evolution* 31, 32–46. <https://doi.org/10.1111/j.1558-5646.1977.tb00979.x>
- 484 Dafni, A., 1992. *Pollination Ecology: A Practical Approach*. Oxford University Press, Oxford.
- 485 de Nettancourt, D., 1997. Incompatibility in angiosperms. *Sex. Plant Reprod.* 10, 185–199.
486 <https://doi.org/10.1007/s004970050087>
- 487 Del Castillo, R.F., 1994. Polinización y otros aspectos de la biología floral de *Ferocactus histrix*. *Cact.*
488 *Suc. Mex.* 39, 36–42.
- 489 Dinerstein, E., Olson, D.M., Atchley, J., Loucks, C.J., Contreras-Balderas, S., Abell, R.A., Iñigo, E.,
490 Enkerlin, E., Williams, C., Castilleja, G., 2000. *Ecoregion-based conservation in the Chihuahuan*
491 *Desert: A biological assessment*. Washington, D.C.
- 492 Eaves, D.J., Flores-Ortiz, C., Haque, T., Lin, Z., Teng, N., Franklin-Tong, V.E., 2014. Self-
493 incompatibility in *Papaver*: advances in integrating the signaling network. *Biochem. Soc. Trans.*
494 42, 370-376. <https://doi.org/10.1042/BST20130248>
- 495 Faegri, K., Van Der Pijl, L., 1979. *The Principles of Pollination Ecology*. Pergamon, Oxford.

496 Gibbs, P.E., 2014. Late-acting self-incompatibility—the pariah breeding system in flowering plants.
497 New Phytol. 203, 717–734. <https://doi.org/10.1111/nph.12874>

498 Glass, C., Arias, S., 1996. A new subspecies of *Strombocactus* from the Sierra Gorda in the
499 northeastern portion of the state of Guanajuato, México. Brit. Cact. Succul. J. 14, 198–204.

500 Goettsch, B., et al., 2015. High proportion of cactus species threatened with extinction. Nat. Plants 1,
501 1–7. <https://doi.org/10.1038/nplants.2015.142>

502 Hamrick, J.L., Godt, M.W., 1996. Effects of life history traits on genetic diversity in plant species.
503 Philos. T. Ro. Soc. B. 351, 1291–1298. <https://doi.org/10.1098/rstb.1996.0112>

504 Husband, B.C., Schemske, D.W., 1996. Evolution of the magnitude and timing of inbreeding
505 depression in plants. Evolution 50, 54–70. <https://doi.org/10.2307/2410780>

506 IUCN, 2019. Red List. <https://www.iucnredlist.org/species/152318/121587897> (accessed 23 August
507 2019).

508 Johnson, R.A., 1992. Pollination and reproductive ecology of acuña cactus, *Echinomastus*
509 *erectocentrus* var. *acunensis* (Cactaceae). In. J. Plant Sci. 153, 400–408.
510 <https://doi.org/10.1086/297044>

511 Kalisz, S., Vogler, D.W., 2003. Benefits of autonomous selfing under unpredictable pollinator
512 environments. Ecology 84, 2928–2942. <https://doi.org/10.1890/02-0519>

513 Kephart, S.R., Brown, E., Hall, J., 1999. Inbreeding depression and partial selfing: evolutionary
514 implications of mixed-mating in a coastal endemic, *Silene douglasii* var. *oraria* (Caryophyllaceae).
515 Heredity 82, 543–554. <https://doi.org/10.1038/sj.hdy.6885250>

516 Lande, R., Schemske, D.W., 1985. The evolution of self-fertilization and inbreeding depression in
517 plants. I. Genetic models. Evolution 39, 24–40. [https://doi.org/10.1111/j.1558-
518 5646.1985.tb04077.x](https://doi.org/10.1111/j.1558-5646.1985.tb04077.x)

519 Lichtenzveig, J., Abbo, S., Nerd, A., Tel-Zur, N., Mizrahi, Y., 2000. Cytology and mating systems in
520 the climbing cacti *Hylocereus* and *Selenicereus*. *Am. J. Bot.* 87, 1058–1065.
521 <https://doi.org/10.2307/2657005>

522 Lloyd, D.G., Webb, C.J., 1986. The avoidance of interference between the presentation of pollen and
523 stigmas in angiosperms I. Dichogamy. *New Zeal. J. Bot.* 24, 135–162.
524 <https://doi.org/10.1080/0028825X.1986.10409725>

525 Mandujano, M.C, Carrillo-Ángeles, I., Martínez-Peralta, C., Golubov J., 2010. Reproductive biology of
526 Cactaceae. in: Ramawat, K.G. (Ed.), *Desert Plants*. Springer-Verlag, Berlin, pp. 197–230.

527 Mandujano, M.C., Golubov, J., Huenneke, L., 2013. Reproductive ecology of *Opuntia macrocentra*
528 (Cactaceae) in the northern Chihuahuan Desert. *Am. Midl. Nat.* 169(2), 274-285.
529 <https://doi.org/10.1674/0003-0031-169.2.274>

530 Mandujano, M.C., Montaña, C., Eguiarte, L.E., 1996. Reproductive ecology and inbreeding depression
531 in *Opuntia rastrera* (Cactaceae) in the Chihuahuan Desert: why are sexually derived recruitments
532 so rare? *Am. J. Bot.* 83(1), 63-70. <https://doi.org/10.1002/j.1537-2197.1996.tb13875.x>

533 Martínez, J.G., 2007. Dinámica poblacional del falso peyote *Astrophytum asterias* (Zucc) Lem.
534 (Cactaceae), una especie amenazada del Noreste de México. Tesis de Doctorado. Facultad de
535 Ciencias Forestales, Universidad Autónoma de Nuevo León. Nuevo León, México.

536 Martínez-Peralta, C., Molina-Freaner, F., Golubov, J., Vázquez-Lobo, A., Mandujano, M.C., 2014a. A
537 comparative study of the reproductive traits and floral morphology of a genus of geophytic cacti.
538 *Int. J. Plant Sci.* 175, 663–680. <https://doi.org/10.1086/676302>

539 Martínez-Peralta, C., Márquez-Guzmán, J., Mandujano, M.C., 2014b. How common is self-
540 incompatibility across species of the herkogamous genus *Ariocarpus*? *Am. J. Bot.* 101, 530-538.
541 <https://doi.org/10.3732/ajb.1400022>

542 Matias-Palafox, M.L., Jiménez-Sierra, C.L., Golubov, J., Mandujano, M.C., 2017. Reproductive
543 ecology of the threatened “star cactus” *Astrophytum ornatum* (Cactaceae): a strategy of continuous
544 reproduction with low success. *Bot. Sci.* 95, 245–258. <http://dx.doi.org/10.17129/botsci.780>

545 McIntosh, M.E., 2002. Plant size, breeding system, and limits to reproductive success in two sister
546 species of *Ferocactus* (Cactaceae). *Plant Ecol.* 162, 273–288.
547 <https://doi.org/10.1023/A:1020329718917>

548 Nassar, J.M., Ramírez, N., 2004. Reproductive biology of the melon cactus, *Melocactus curvispinus*
549 (Cactaceae). *Plant Syst. Evol.* 248, 31–44. <https://doi.org/10.1007/s00606-004-0193-4>

550 Nassar, J.M., Ramírez, N., Lampo, M., González, J.A., Casado, R., Nava, F., 2007. Reproductive
551 biology and mating system estimates of two Andean melocacti, *Melocactus schatzlii* and *M.*
552 *andinus* (Cactaceae). *Ann. Bot.* 99, 29–38. <https://doi.org/10.1093/aob/mcl229>.

553 Olmos-Lau, V.R., 2016. Demografía para la conservación de *Strombocactus disciformis* (DC.) Britton
554 & Rose, en la localidad Agua del Ángel en el municipio de Peñamiller, Querétaro, México. Tesis
555 de Licenciatura. Facultad de Ciencias, Universidad Nacional Autónoma de México, México.

556 Olmos-Lau, V.R., Mandujano, M.C., 2016. An open door for illegal trade: online sale of
557 *Strombocactus disciformis* (Cactaceae). *Nat. Conserv.* 15, 1-9. Doi:
558 [10.3897/natureconservation.15.8259](https://doi.org/10.3897/natureconservation.15.8259)

559 Richards, A.J., 1997. *Plant Breeding Systems*. Chapman & Hall, London.

560 Sánchez-Martínez, E., Chávez-Martínez, R.J., Hernández-Oria, J.G., Hernández-Martínez, M.M., 2006.
561 Especies de cactáceas prioritarias para la conservación en la zona árida Queretano-Hidalguense.
562 Querétaro: Consejo de Ciencia y Tecnología del Estado de Querétaro.

563 Schemske, D.W., Husband, B.C., Ruckelshaus, M.H., Goodwillie, C., Parker, I.M., Bishop, J.G., 1994.
564 Evaluating approaches to the conservation of rare and endangered plants. *Ecology.* 75, 584–606.
565 <https://doi.org/10.2307/1941718>

- 566 Sedgley, M., 1994. Self-incompatibility in woody horticultural species. In: Williams, E., Clarke, A.,
567 Knox, R. (Eds.), Genetic Control of Self-incompatibility and Reproductive Development in
568 Flowering Plants. Kluwer Academic, London, pp. 141–163.
- 569 SEMARNAT, 2010. Norma Oficial Mexicana NOM-059-ECOL-2010. Protección ambiental–especies
570 nativas de México de flora y fauna silvestres. Categorías de riesgo y especificaciones para su
571 inclusión, exclusión o cambio. Diario Oficial. 2ª Sección, Mexico City.
- 572 Strong, A.W., Williamson, P.S., 2007. Breeding system of *Astrophytum asterias*: an endangered cactus.
573 Southwest. Nat. 52(3), 341–346. [https://doi.org/10.1894/0038-](https://doi.org/10.1894/0038-4909(2007)52[341:BSOAAA]2.0.CO;2)
574 [4909\(2007\)52\[341:BSOAAA\]2.0.CO;2](https://doi.org/10.1894/0038-4909(2007)52[341:BSOAAA]2.0.CO;2)
- 575 Vervoort, A., Cawoy, V., Jacquemart, A.L., 2011. Comparative reproductive biology in co-occurring
576 invasive and native *Impatiens* species. Int. J. Plant Sci. 172, 366–377.
577 <https://doi.org/10.1086/658152>
- 578 Webb, C.J., Lloyd, D.G., 1986. The avoidance of interference between the presentation of pollen and
579 stigmas in angiosperms II. Herkogamy. New Zeal. J. Bot. 24, 163–178.
580 <https://doi.org/10.1080/0028825X.1986.10409726>
- 581 Weiss, J., Nerd, A., Mizrahi, Y., 1994. Flowering behavior and pollination requirements in climbing
582 cacti with fruit crop potential. HortScience. 29, 1487–1492.
583 <https://doi.org/10.21273/HORTSCI.29.12.1487>
- 584 Wilcock, C., Neiland, R., 2002. Pollination failure in plants: why it happens and when it matters.
585 Trends Plant Sci. 7, 270–277. [https://doi.org/10.1016/S1360-1385\(02\)02258-6](https://doi.org/10.1016/S1360-1385(02)02258-6)
- 586 Zepeda V., Golubov J., Mandujano M.C.S., 2017. Distribución espacial, estructura de tamaños y
587 reproducción de *Astrophytum ornatum* (Cactaceae). Act. Bot. Mex. 119, 35–49.
588 <https://doi.org/10.21829/abm119.2017.1230>

589

590 **Tables**

591

592 Table 1

593 Fruit and seed set, and average \pm SE in each pollination treatment in the *Strombocactus* taxa ($n= 30$
 594 fruits). FF= fruits formed; FT= flowers treated. Different letters indicate significant differences ($P <$
 595 0.0001) between treatments in the same taxon.

Treatment \ Taxa	<i>S. disciformis</i> ssp. <i>disciformis</i>		<i>S. disciformis</i> ssp. <i>esperanzae</i>		<i>S. corregidora</i>	
	FF / FT	Seeds	FF / FT	Seeds	FF / FT	Seeds
Control	30 / 30	757 \pm 48.13 ^a	30 / 30	578 \pm 31.66 ^a	30 / 30	844 \pm 94.74 ^a
Hand cross-pollination	30 / 30	1081 \pm 44.01 ^b	30 / 30	706 \pm 27.13 ^b	30 / 30	1055 \pm 82.28 ^b
Natural self-pollination	0 / 30	0	23 / 30	341 \pm 26.78 ^c	0 / 30	0
Hand self-pollination	0 / 30	0	29 / 30	499 \pm 28.77 ^d	0 / 30	0
Apomixis	0 / 30	0	0 / 30	0	0 / 30	0

596

597 **Figures Legends**

598

599 Fig. 1. Anthesis in *Strombocactus*. Perianth diameter (average \pm se, $n= 20$), throughout the day.

600

601 Fig. 2. Dynamic herkogamy in *Strombocactus*. **A.** *S. disciformis* ssp. *disciformis*. **B.** *S. disciformis* ssp.
 602 *esperanzae*. **C.** *S. corregidora*.

603

604 Fig. 3. Pollen tube growth in *Strombocactus* after cross- and self-pollination treatments. **A-F.** *S.*
 605 *disciformis* ssp. *disciformis*. **G-L.** *S. disciformis* ssp. *esperanzae*. **M-R.** *S. corregidora*. Pollen
 606 germinated on the stigma treated with non-self pollen (**A, G, M**) and self-pollen (**D, J, P**). In both

607 treatments, pollen tubes grew along the style until they reached the ovary; a more significant number of
 608 pollen tubes were observed in the styles treated with non-self pollen (**B, H, N**) than with self-pollen (**E,**
 609 **K, Q**). In the three taxa, pollen tubes from cross-pollination treatments penetrated the ovule for
 610 fertilization (**C, I, O**). In the self-pollination treatments, only *S. disciformis* ssp. *esperanzae* ovules
 611 were fertilized (**L**), whereas in *S. disciformis* ssp. *disciformis* (**F**) and *S. corregidora* (**R**) fertilization
 612 does not occur.

613

614 **Supplementary data**

615

616 Table S1

617 Floral characteristics of the *Strombocactus* taxa (average \pm se, n= 30). Different letters indicate
 618 significant differences ($p < 0.05$) among the taxa.

Character	Taxa	<i>S. disciformis</i> ssp. <i>disciformis</i>	<i>S. disciformis</i> ssp. <i>esperanzae</i>	<i>S. corregidora</i>
Shape of the flower		Infundibuliform	Infundibuliform	Infundibuliform
Color		White to pale yellow	Bright magenta	Pale to intense yellow
Flower opening (h)		8:00 – 10:00	8:00 – 10:00	8:00 – 10:00
Flower closure (h)		17:00 – 18:00	16:00 – 17:00	17:00 – 18:00
Flower longevity (days)		1 – 7	1 – 5	1 – 5
Herkogamy at anthesis		Present	Present	Present
Type of dichogamy		Protandric	Protandric	Protandric
Flower length mm		29.02 \pm 0.58 ^a	26.45 \pm 0.9 ^a	33.67 \pm 0.93 ^b
Flower diameter mm		31.86 \pm 1.02 ^a	21.02 \pm 0.96 ^b	35.78 \pm 0.99 ^a
Ovarian cavity length mm		3.56 \pm 0.15 ^a	2.71 \pm 0.12 ^b	3.83 \pm 0.16 ^a
Ovarian cavity diameter mm		2.25 \pm 0.12 ^a	2.04 \pm 0.06 ^a	2.78 \pm 0.07 ^b
Style length mm		10.64 \pm 0.33 ^a	6.85 \pm 0.16 ^b	11.77 \pm 0.15 ^c

Internal stamens length mm	4.65 ± 0.12 ^a	4.05 ± 0.12 ^b	5.54 ± 0.15 ^c
External stamens length mm	8.86 ± 0.27 ^a	6.66 ± 0.17 ^b	9.41 ± 0.17 ^a
Stamens number	227 ± 9.01 ^a	167 ± 9.88 ^b	314 ± 10.09 ^c
Pollen grains number	163259 ± 10880 ^a	89605 ± 6724 ^b	261063 ± 15575 ^c
Ovules number	1045 ± 46.62 ^a	794 ± 55.46 ^b	1696 ± 88.84 ^c
Stigmatic lobes number	10 ± 0.32 ^a	8 ± 0.15 ^b	9 ± 0.27 ^{ab}
P/O ratio	156: 1	113: 1	154: 1

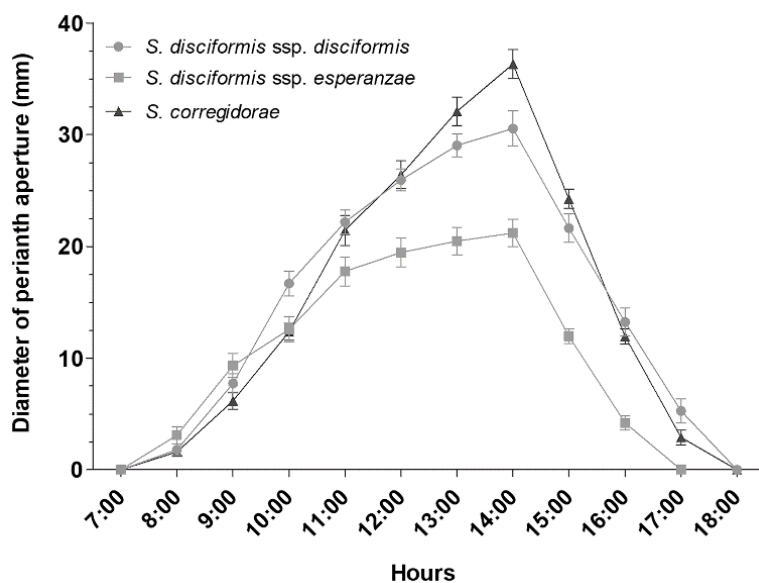
619

620 Fig. S1. Floral visitors observed in *S. disciformis* ssp. *disciformis* during the fieldwork. **A-G.**

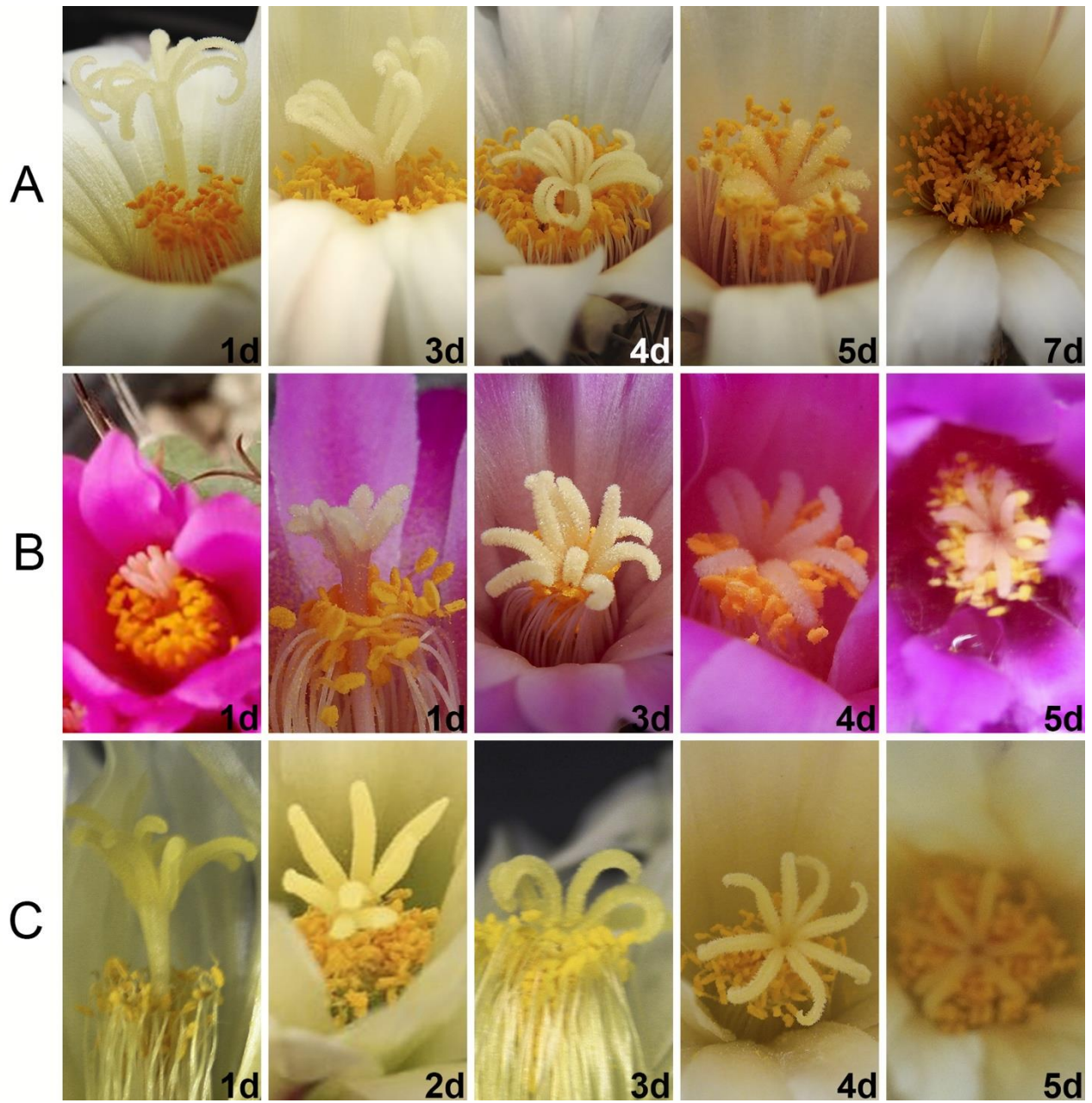
621 Pollinators. **H-Q.** Florivorous. Bee species, from the genus *Lasioglossum* sp. (**A**), of the Megachilidae
622 (**B, C**) and Melittidae (**D, E**) families. Dipterans of Tephritidae family (**F, G**). Beetle species, from the
623 genus *Acmaeodera* sp. (**H**), *Lampetis* sp. (**I**) and of the families Anobiidae (**J**), Curculionidae (**K**) and
624 Buprestidae (**L**), and other beetle unidentified (**M**). Wasp Vespidae (**N**). Ants of *Camponotus* sp. (**O**),
625 and *Atta* sp. (**P**). Orthoptera of the family Romaleidae (**Q**). Other visitors without a determined
626 behavior as the ant *Cheliomyrmex* sp. (**R**). Arrows indicate the deposition site of the pollen grains on
627 the visitors.

628

629 Figure 1



630



632

633

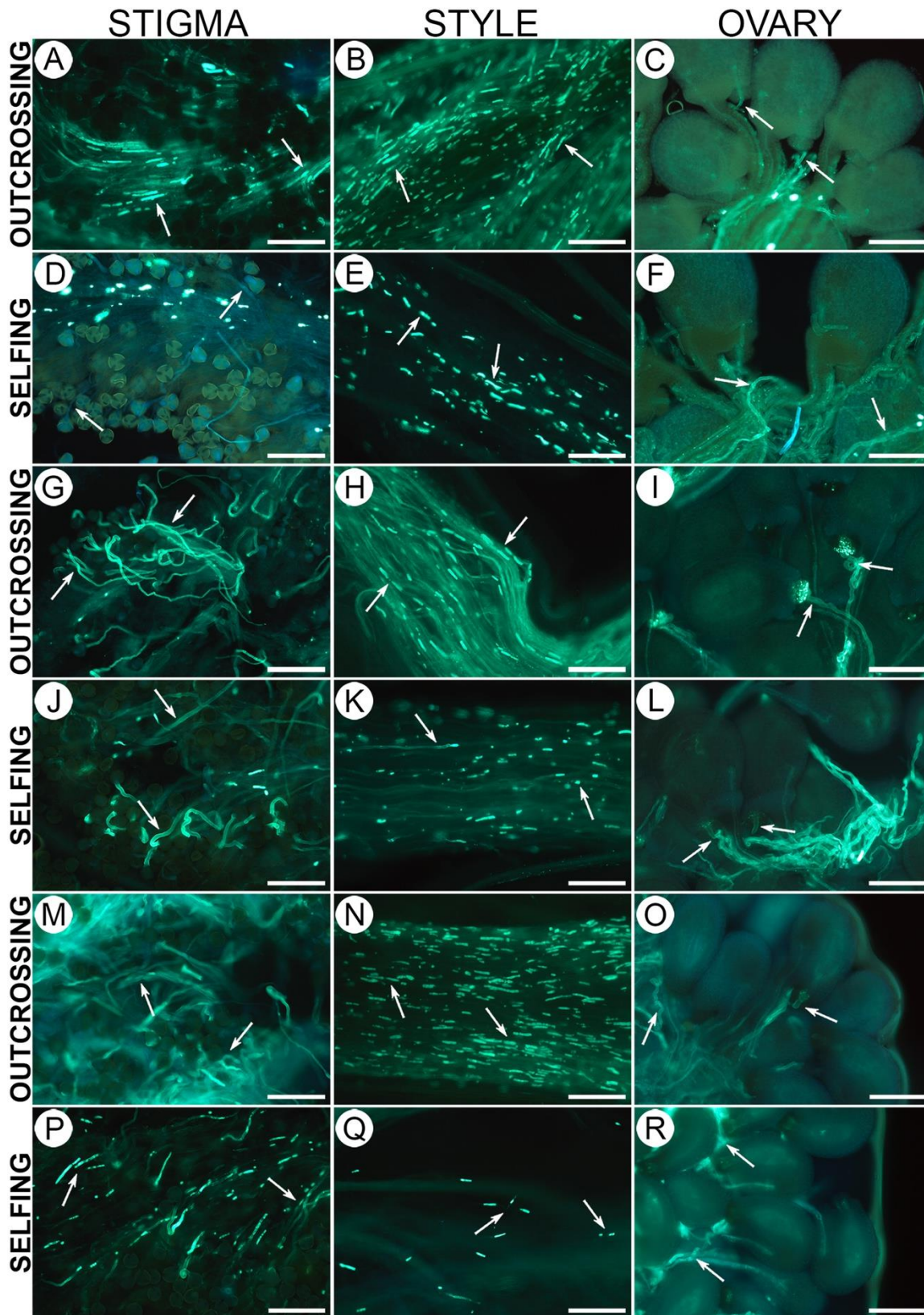
634

635

636

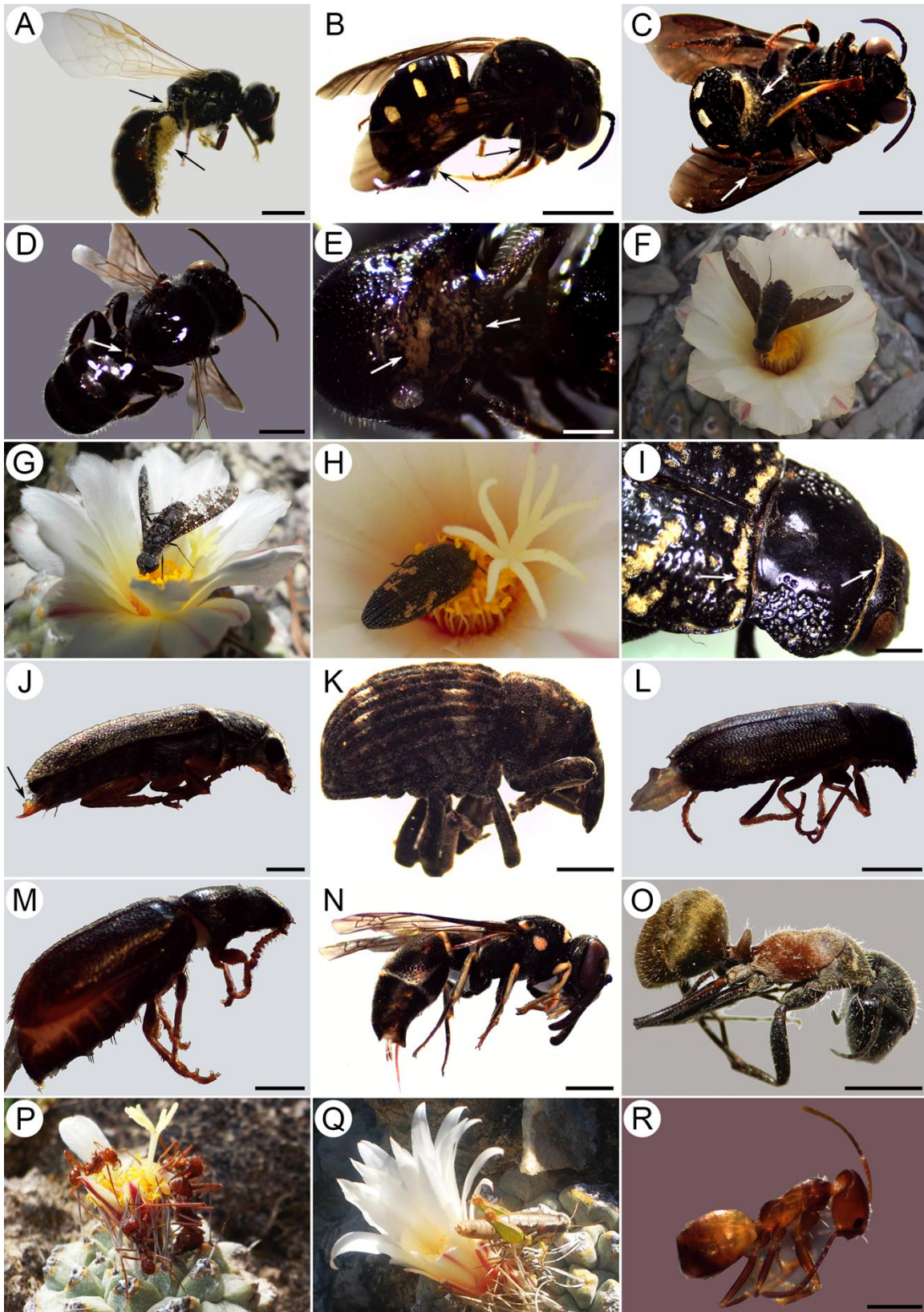
637

638



640

641



Capítulo 3

The structure of nectaries in the genus *Strombocactus* (Cactaceae)

Publicado en *Botanical Sciences*

THE STRUCTURE OF NECTARIES IN THE GENUS *STROMBOCACTUS* (CACTACEAE)

LA ESTRUCTURA DE LOS NECTARIOS EN EL GÉNERO *STROMBOCACTUS* (CACTACEAE)

ALDEBARAN CAMACHO-VELÁZQUEZ¹, SALVADOR ARIAS², JUDITH MÁRQUEZ-GUZMÁN¹, AND SONIA VÁZQUEZ-SANTANA¹. *

¹ Laboratorio de Desarrollo en Plantas. Departamento de Biología Comparada, Facultad de Ciencias, Universidad Nacional Autónoma de México, Ciudad de México, México.

² Jardín Botánico, Instituto de Biología, Universidad Nacional Autónoma de México, Ciudad de México, México.

*Corresponding author: svsc@ciencias.unam.mx

Abstract

Background: Floral nectar is offered by the plant to its pollinators to promote cross-fertilization.

Questions: Are floral nectaries morpho-anatomically similar among the taxa of *Strombocactus*? What sugars do nectaries offer their pollinators?

Studied species: *Strombocactus disciformis* subsp. *disciformis*, *S. disciformis* subsp. *esperanzae* and *S. corregidora*, during 2016-2018.

Methods: Bud flowers and flowers in anthesis from each taxon of *Strombocactus*, were processed to be observed in SEM; other specimens were embedded in Paraplast and sectioned to histochemical tests. The concentration of nectar was measured using a refractometer.

Results: The nectaries are similar among the three studied taxa, located below the stamens and reach the upper part of the ovary forming a ring in the hypanthium. An almost flat epidermis constitutes the nectary in *S. disciformis* subsp. *esperanzae*, although in *S. disciformis* subsp. *disciformis* is slightly bulked and papillae in *S. corregidora*, a nectariferous parenchyma composed of metabolically very active cells, and a subnectariferous parenchyma of larger cells, associated with vascular bundles. The nectar is secreted through nectarostomata. The concentration of nectar was 8.65 ± 3.98 , 16.12 ± 4.48 and 22.09 ± 7.42 °Brix for *S. disciformis* subsp. *esperanzae*, *S. corregidora* and *S. disciformis* subsp. *disciformis*, respectively.

Conclusions: All taxa of *Strombocactus* have an annular-type nectary that secretes a low volume of nectar and together with pollen are offered as rewards. Based on other floral characteristics observed, such as the diurnal anthesis, the infundibuliform shape and the color of the flower, we propose that bees pollinate these species.

Keywords: floral nectaries, nectar, nectarostomata, nectary chamber.

Resumen

Antecedentes: El néctar ofrecido por parte de la planta a sus polinizadores, promueve la entrecruza.

Preguntas: ¿Los nectarios florales de los taxones de *Strombocactus* son morfo-anatómicamente similares? ¿Qué azúcares ofrecen los nectarios a sus polinizadores?

Especies de estudio: *Strombocactus disciformis* subsp. *disciformis*, *S. disciformis* subsp. *esperanzae* y *S. corregidora*, durante 2016-2018.

Métodos: Botones florales y flores en anthesis de cada taxón de *Strombocactus* se procesaron para ser observados en MEB o ser incluidos en paraplast para realizar pruebas histoquímicas. La concentración del néctar se midió con un refractómetro.

Resultados: Los nectarios de los tres taxones son semejantes, se ubican abajo de la inserción de los estambres y llegan hasta la parte superior del ovario formando un anillo en el hipantio. Los nectarios tienen una epidermis casi plana en *S. disciformis* subsp. *esperanzae*, ligeramente abultada en *S. disciformis* subsp. *disciformis* y papilosa en *S. corregidora*, un parénquima nectarífero de células metabólicamente activas y un parénquima subnectarífero de células grandes, asociado a haces vasculares. El néctar se secreta mediante nectarostomas. La concentración del néctar fue de 8.65 ± 3.98 , 16.12 ± 4.48 y 22.09 ± 7.42 °Brix para *S. disciformis* subsp. *esperanzae*, *S. corregidora* y *S. disciformis* subsp. *disciformis*, respectivamente.

Conclusiones: Todos los taxones de *Strombocactus* tienen un nectario tipo anular que secreta un bajo volumen de néctar y, junto con el polen se ofrecen como recompensas. Basándonos en atributos florales observados, como la anthesis diurna, la forma infundibuliforme y el color de la flor, proponemos que las abejas polinizan estas especies.

Palabras clave: Cámara nectarial, néctar, nectarios florales, nectarostoma.

Plant-pollinator interactions are reciprocal, as the pollinator has a direct effect in the plant and vice-versa. The floral features, such as color, size and shape are closely related to the pollinator attraction, due to the rewards offered by the plant (pollen, oils, fragrances, resins and nectar), in the process, the plant receives or donates pollen with every visit (Grajales-Conesa *et al.* 2011, Domínguez & Pérez 2013). The nectar is produced in nectaries located inside and/or outside the flowers. The nectaries located in any part of the flower are called floral nectaries, while those developed on vegetative structures of the plant are called extrafloral nectaries (Bernardello 2007). Floral nectaries are directly associated with pollination and reproductive efficiency (Richards 1986, Pacini *et al.* 2003, Irwin *et al.* 2004, Díaz-Castelazo *et al.* 2005, Villamil *et al.* 2013). On the other hand, extrafloral nectaries are generally associated to mutualist relationships among plants and animals, mainly insects providing protection against herbivores and receiving sugars as a reward (Heil & McKey 2003, Leins & Erbar 2010).

The nectaries produce sugar-rich fluids (mainly saccharose, glucose and fructose), also contain proteins (mainly enzymes like transglucosidases and transfructosidases), amino acids, lipids, organic acids, ascorbic acid, minerals, phosphates, alkaloids and vitamins (Fahn 1979, 1988, Leins & Erbar 2010). The nectaries can be composed of structural tissues (nectariferous parenchyma cells and glandular tissue associated with vascular bundles) or a group of glands (formed by secretory trichomes on the epidermis). Glandular tissues are composed of secretory parenchyma, epidermis (which can also be secretory) and a nearby vascular bundle (Pacini *et al.* 2003, Pacini & Nicolson 2007). If the epidermis is not one of the secretory tissues, then the nectar comes out of gaps in the cellular wall and cuticle, or through stomata that have lost the capacity of closing the pore because the guard cells are no longer contracting and lack chlorophyll (Leins & Erbar 2010). The cuticle in the nectary can be permeable through various structures, like pores or microchannels secreting nectar, or it can burst due to the pressure of nectar itself (Fahn 1979, Nepi 2007).

Cactaceae usually present floral nectaries, although some species have also extrafloral nectaries, mainly associated to areoles in stems (Buxbaum 1953), like in *Opuntia stricta* (Oliveira *et al.* 1999), *Cylindropuntia acanthocarpa* (Pickett & Clark 1979), *Sclerocactus scheeri* (Mauseth 1982), *Ferocactus histrix* (Del Castillo 1994) and *F. cylindraceus* subsp. *lecontei* (Ruffner & Clark 1986). Although the floral nectaries are present in the studied species of Cactaceae, the presence of nectar and characterization of nectaries have not been thoroughly proved and described. Most studies carried out on Cactaceae regarding floral nectaries provide information on their location and morphology, even though some of them deepen in their structure, anatomy, way of secreting nectar and chemical composition of sugars and other substances related to the process of pollination and their pollinator types, e.g. Hylocereae and Rhipsalideae (Almeida *et al.* 2013), *Polaskia chende*, *P. chichipe* and *Stenocereus quevedonis* (Gudiño *et al.* 2015). Three different types of nectaries have been proposed for Cactaceae: a) Chamber; b) Annular, and c)

Furrow nectaries (Buxbaum 1953), although this classification does not cover all the types of nectaries of the species within the family. For example, Fuentes-Pérez *et al.* (2009) studied five species of the genus *Opuntia* and they propose that the term “furrow” not apply to the type of nectaries they have. Therefore, the objective of the herein presented work is to study the location, morphology, anatomy and secretion of nectar in the floral nectaries of *Strombocactus*, an endemic genus of Mexico in risk of extinction.

The genus *Strombocactus* belong to the tribe Cacteeae in the Cactoideae subfamily (Anderson 2001). It was described originally as *Mammillaria* by De Candolle (1828) and was later proposed as a monotypic genus by Britton & Rose (1922), *Strombocactus disciformis* (DC.) Britton & Rose. Currently, two species are recognized, *S. disciformis* (DC.) Britton & Rose (with the subspecies *S. disciformis* subsp. *disciformis* and *S. disciformis* subsp. *esperanzae* Glass & S. Arias), and *S. corregidora* S. Arias & E. Sánchez (Arias & Sánchez-Martínez 2010). These species are distributed in a canyon system belonging to the states of Querétaro, Guanajuato, and Hidalgo (Hernández *et al.* 2004, Sánchez-Martínez *et al.* 2006). The species of *Strombocactus* have similar habitat: small rock crevices filled with fine soil, on steep slopes and vertical walls, and emerge in places with calcareous shales, preferably in areas devoid of vegetation or sparsely vegetated (Álvarez *et al.* 2004, Arias & Sánchez-Martínez 2010).

Materials and methods

Studied species. Twenty floral buds and 20 flowers in anthesis were analyzed from a minimum of 10 different individuals of every species of *Strombocactus*, during February and March of 2016 and 2017. Buds and flowers of *S. disciformis* subsp. *disciformis* and *S. corregidora* were collected in the municipality of Cadereyta de Montes, Querétaro. We did not find *S. disciformis* subsp. *esperanzae* in their natural population in the municipality of Xichú, Guanajuato, for that buds and flowers were collected from the living collections of the Botanical Garden in the National Autonomous University of Mexico (UNAM) and the Regional Botanical Garden of Cadereyta, Querétaro. The samples were fixed in FAA (formaldehyde, ethylic alcohol 96 %, glacial acetic acid, distilled water; ratios 10:50:5:35, respectively) for 48 hours.

Floral morphology. The color and shape flower to each species was based on botanical descriptions. The anthesis type (diurnal/nocturnal) was described based on personal observations in the field and in the greenhouse in at least 30 flowers of each taxon.

Light microscopy and scanning electron microscopy. To know the anatomy of the floral nectaries and their micromorphology, the fixed material in FAA was washed with water to eliminate the excess of fixative, dissected and dehydrated in a gradual ethanol series (from 30 to 100 %) and embedded in Paraplast. The embedded material was cut in sections of 6 - 10 µm thick with an American Optical 820 rotatory

microtome and stained with safranin and fast green. The obtained preparations were observed with an Olympus Provis AX70 microscope and microphotographs were taken. For nectary micromorphology, several flowers were dissected and dehydrated in a graded ethanol series (from 30 to 100 %). Afterwards, they were critically-point dried with CO₂ in a critical-point dryer CPD-030 Bal-Tec, and then mounted on metallic sample holders with a carbon conducting tape and later covered in gold with a Denton Vacuum Desk-II ionizer so that they could be observed and photographed with the scanning electron microscope JSM-5310LV (Tokyo, Japan). Some of the photographs were artificially colored with the Adobe Photoshop CS6 software.

Histochemical tests. Four tests were carried out on the obtained sections of the embedded material in Paraplast: (1) Oil red “O” for lipidic reserves, (2) Periodic acid–Schiff (PAS) for insoluble polysaccharides, (3) Naphthol Blue Black - PAS for proteins and insoluble polysaccharides, respectively, and (4) Lugol for starch (López-Curto *et al.* 2005, Márquez-Guzmán *et al.* 2016). The obtained preparations in every histochemical sample were observed in an Olympus Provis AX70 microscope and microphotographies were taken.

Nectar concentration. The collection of nectar was carried out in February 2018 in plants of the living collection of the Botanical Garden (UNAM), for the three studied taxa. The samples of nectar were obtained at 3 pm from 15 flowers of different individuals of each taxon of *Strombocactus*. The extraction of nectar was done with an insulin syringe (commercial brand) and the concentration was measured using a refractometer Brix30 (Spectrum Technologies, Inc.). Degrees Brix are used as the measuring unit of dissolved solids, which correspond to the percentage of saccharose in a solution. One degree Brix is 1 gram of saccharose dissolved in 100 grams of solution. Therefore, a solution with 50 °Brix has 50 grams of saccharose (Suárez & Diana 2003).

Results

Floral morphology. The flowers of the three taxa of *Strombocactus* are infundibuliform and diurnal. The units of the perianth (tepals) of *S. disciformis* subsp. *disciformis* are white to yellowish white, abaxially magenta at the midvein (Figure 1A, B). The tepals in *S. disciformis* subsp. *esperanzae* are intense magenta, slightly paler towards the margins (Figure 1C, D). The units of the perianth in *S. corregidora* can be intense or pale yellow, with reddish tones on the underside of the tepals (Figure 1E, F).

Location and morphoanatomy of the floral nectary. The three taxa present a small and open chamber nectary, which is limited to the proximal end of the inner side of the receptacular tube (Figures 2A, D, G; 3A, D, G). The nectary is located underneath the insertion region of the innermost filaments of the perianth, specifically in the hypanthium. It presents a ring shape and in the upper region its ends are free and exerted showing widened and undulated protuberances, which lon-

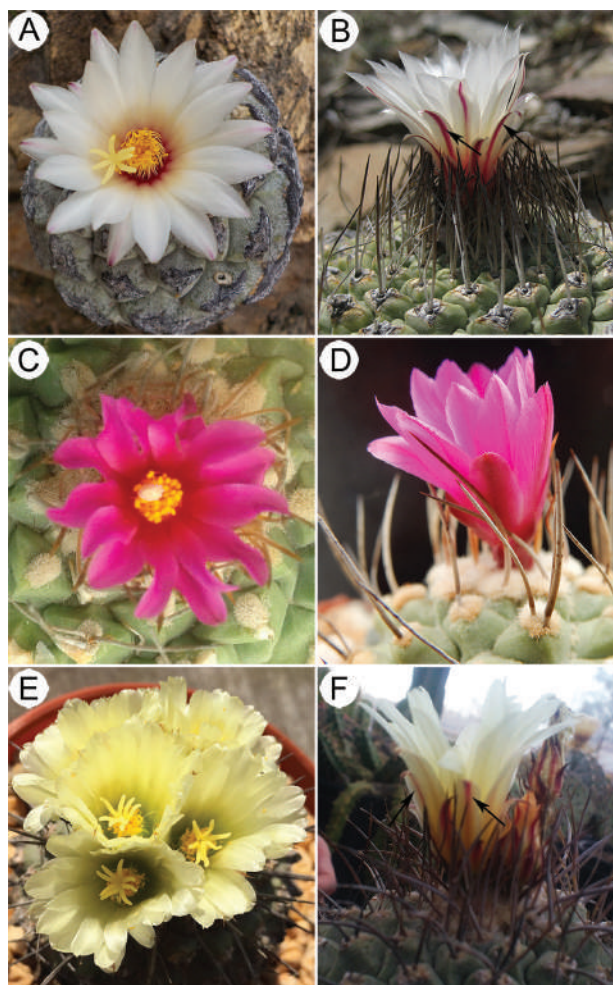


Figure 1. Flowers of *Strombocactus*. A, B. *S. disciformis* subsp. *disciformis*. C, D. *S. disciformis* subsp. *esperanzae*. E, F. *S. corregidora*. A. Flower in anthesis. B. Flowers at early anthesis, the outer tepals with slight magenta color in the underside of the limb (arrows). C. Flower in anthesis. D. Flowers at the beginning of anthesis. E. Flower in anthesis. F. Flower at the end of anthesis, outer tepals slightly reddish on the underside (arrows).

gitudinally appear corniculate (Figure 3A, D, G), and more conspicuous in *S. disciformis* subsp. *esperanzae* (Figure 3D). The subnectariferous parenchyma is directly associated with vascular bundles that are parallel in the hypanthium, in the upper region of the ovary, and perpendicular to the nectary (Figure 3A, D, G). Underneath the epidermis there are approximately 7-12 layers of parenchymatic secretory cells, and several layers of associated parenchymatic, non-secretory cells, which are connected to the adjacent secretory cells; on the other end are located the vascular bundles (Figure 3A, D, G).

The nectary of the three taxa of *Strombocactus* is composed of an epidermis of isodiametric cells, slightly bulked towards the exterior (Figure 2B, E, H), being more bulked in *S. corregidora* (Figure 2H) and less in *S. disciformis* subsp.

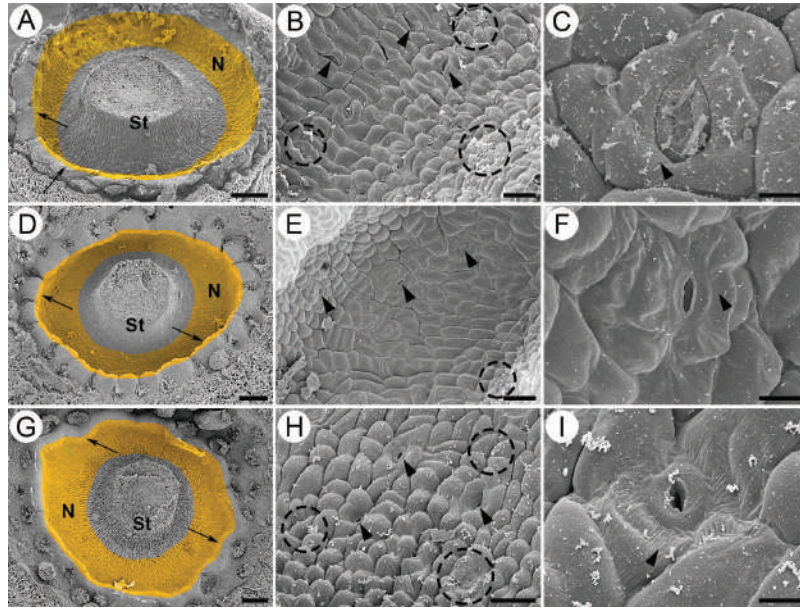


Figure 2. Micromorphology of the nectary in *Strombocactus*. A-C. *S. disciformis* subsp. *disciformis*. D-F. *S. disciformis* subsp. *esperanzae*. G-I. *S. correidorae*. A, D, G. Front view of the nectary chamber (close-up). The secretory tissue is a ring underneath the insertion of the innermost filaments. The ring has an apical protuberance (arrows). B, E, H. Close-up of the epidermis of the nectary chamber; nectarostomata are observed (arrowheads); the epidermal cells are swollen in *S. correidorae* (H) and less swollen in *S. disciformis* subsp. *esperanzae* (E); remains of the secretions are observed on the epidermal cells (dotted circles). C, F, I. Close-up of nectarostomata, which are open before anthesis; striated ornamentation is observed in the cuticle (arrowhead). N, nectary; S, style. Scale bars: A, D, G = 200 µm; B, E, H = 40 µm; C, F, I = 10 µm.

esperanzae (Figure 2E). Throughout the epidermis, there are several open stomata prior and during the anthesis, which is the secretory period of nectar, showing sugar remains even after the process of fixation, washing and dehydration of the material during the SEM process (Figure 2B, C, E, F, H, I). The cuticle of the epidermal cells exhibits slightly striated ornamentation (Figure 2C, F, I). The epidermis is unistratified, with vacuolated cells and thin walls (Figure 3B, E, F, H), under the stomata, there are large substomatal chambers (Figures 3C, I; 4F, G; 6B).

Under the epidermis there is the nectariferous secretory parenchyma (Figures 3B, E, F, H; 4C, E, N; 5E, H, K; 6F, N), which comprise isodiametric cells, small and very compact, with thin walls, large and central or eccentric nucleus, patent vacuoles and dense cytoplasm; there are also some intercellular spaces (Figures 3C, F; 5F, L; 6G, O). The secretory tissue of the nectary is 10-12 layers thick in *S. disciformis* subsp. *disciformis* (Figures 3B; 4E, F); 8-9 in *S. disciformis* subsp. *esperanzae* (Figures 3E, F; 5E, H) and 7-8 in *S. correidorae* (3H; 6F, N). The subnectariferous parenchyma is subjacent to the nectariferous secretory parenchyma, whose cells are distinguished for being larger than the ones of the nectariferous parenchyma (Figures 3B, E, H; 4E, N; 5E, H, K; 6F, I, N). These cells present thin walls, conspicuous vacuoles, poorly dense cytoplasm and eccentric nucleus (Figures 3F; 4E, N; 6N). This parenchyma presents intercellular spaces and abundant nearby vascular bundles, with both xylem and phloem (Figures 4D, E, M, N; 5E; 6F, N).

Histochemical tests. The test of oil red “O” for cuticle of the epidermal cells in the nectary of the three species of *Strombocactus* was positive (Figures 4 A-C; 5A-C; 6A-C), due to the waxy compounds it presents, although no other structure that presented lipidic compounds (Table 1).

With the PAS test applied on flowers prior and during anthesis of the three taxa, there were abundant insoluble polysaccharides in the cellular walls and the cytoplasm of the nectariferous parenchyma, indicating its secretory features, and they were scarce in the subnectariferous parenchyma (Figures 4D-G, I; 5D-F; 6D-G; Table 1). These compounds were also abundant in the style parenchyma and the upper region of the ovary (Figures 4H; 5D; 6D). The presence of starch in the style and non-nectariferous parenchyma of the hypanthium was corroborated with the Lugol test (Figures 4J, K; 5G, H; 6H, I), which could suggest a storage function of this tissue. A distinctive Maltese cross was observed under polarized light, which corroborates the presence of starch in these tissues (Figures 4L; 5I; 6J).

After the Naphthol Blue Black - PAS test for proteins and insoluble polysaccharides, all three taxa presented high amounts of proteins in the cytoplasm of the secretory cells compared to those of the subnectariferous parenchyma (Figures 4M-O; 5J-L; 6K-O; Table 1), which indicate greater activity in the secretory tissue.

Concentration of nectar. The secretion of nectar in the species of *Strombocactus* is too little to be quantified, even though it can be observed under stereoscopy (Figure S1).

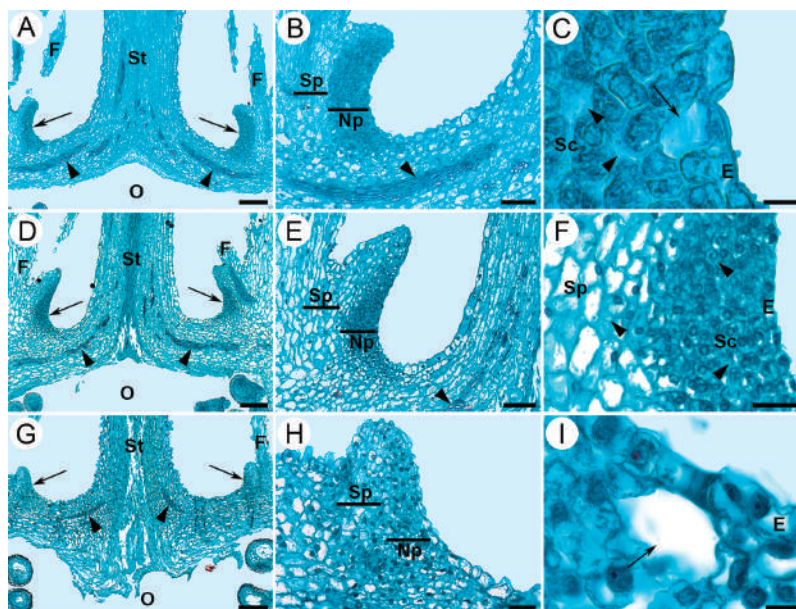


Figure 3. Longitudinal sections of flowers in anthesis of *Strombocactus*. A-C. *S. disciformis* subsp. *disciformis*. D-F. *S. disciformis* subsp. *esperanzae*. G-I. *S. correjidorae*. A, D, G. The nectary below the insertion region of the innermost filaments, the arrows indicate the location of the nectary, the arrowheads indicate the vascular bundles. B, E, H. Both the nectariferous and subnectariferous parenchyma, the arrowheads indicate vascular bundles. C, I. Sections of nectarostomata, showing the subnectarostomic cavity (arrow), intercellular space (arrowheads). F. Enhancement of E; secretory cells with intercellular spaces (arrowheads). E, epidermis; F, filament; Np, nectariferous parenchyma; O, ovary; Sc, secretory cells; Sp, subnectariferous parenchyma; St, style. Scale bars: A, D, G = 200 µm; B, E = 100 µm; C, I = 12 µm; F, H = 40 µm.

The average concentration of solutes in the nectar of *S. correjidorae* was 16.12 ± 4.48 °Brix, in *S. disciformis* subsp. *disciformis* was 22.09 ± 7.42 °Brix and in *S. disciformis* subsp. *esperanzae* was 8.65 ± 3.98 °Brix.

Discussion

The nectaries of *Strombocactus* had not been thoroughly studied before. Only Buxbaum (1953) mentioned information regarding *S. disciformis*. In the genus *Strombocactus*, the nectary forms a ring which is located surrounding the base of the style, below the insertion region of the innermost series of filaments. Therefore, the nectary chamber is part of the hypanthium and collects the nectar, which together with the pollen itself are the greatest rewards for pollinators (Simpson & Neff 1983, Proctor *et al.* 1996, Domínguez & Pérez 2013).

According to the classification of Bernardello (2007), the nectary in the species of *Strombocactus* corresponds to a hypanthial nectary, due to its location underneath the insertion of the innermost filaments, surrounding the style. According to the classification of Buxbaum (1953), three types of nectary (chamber, disc, and furrow) are recognized for different Cactaceae. Chamber type is found in some genera of Cactoideae (Buxbaum 1953, Fuentes-Pérez 2004, Urías 2009, Almeida *et al.* 2013, Torres-Sánchez 2013, Gudiño *et al.* 2015), while the nectary type disc has been reported for some species of *Maihueiopsis*, *Opuntia* and *Maihueia* (Fuentes-Pérez 2008). The furrow nectary has a half-open or closed chamber due the curved base of the innermost stamens or by a protuberance of the receptacular hypanthial tissue (Buxbaum 1953), and it has been reported for some species of the tribes: Rhipsalideae (Almeida *et al.* 2013), Trichocereae and Cactaeae, including *Strombocactus* (Buxbaum 1953). However,

Table 1. Histochemical tests in the nectary of the genus *Strombocactus*. NBB-PAS, Naphthol Blue Black-Periodic acid-Schiff; Np, nectariferous parenchyma; PAS, Periodic acid-Schiff; Sp, subnectariferous parenchyma. Test was positive (+) or negative (-).

Taxon	<i>S. disciformis</i> subsp. <i>disciformis</i>		<i>S. disciformis</i> subsp. <i>esperanzae</i>		<i>S. correjidorae</i>	
Histochemical tests / Tissue type	Np	Sp	Np	Sp	Np	Sp
Oil red "O"	-	-	-	-	-	-
PAS	+	+	+	+	+	+
Lugol	-	-	-	-	-	-
NBB-PAS	+	+	+	+	+	+

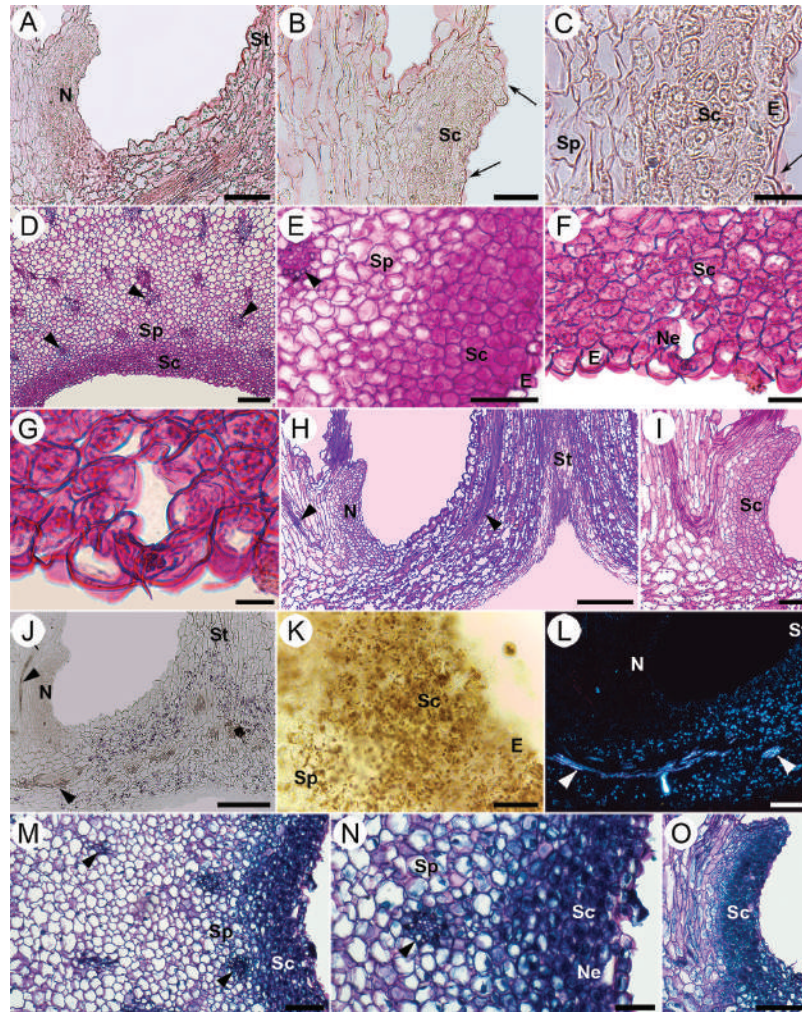


Figure 4. Histochemical tests of the nectary of *S. disciformis* subsp. *disciformis*. Longitudinal (A-C, H-J, L, O) and transversal (D-G, K, M, N) sections. A-C. Oil red “O” test. Only the cuticle presented lipids (arrows). D-I. The test of Periodic acid–Schiff (PAS) was positive for insoluble polysaccharides in nectary, style and superior wall of the ovary. The arrowheads indicate vascular bundles. G. A nectarostome. J, K. Lugol test was positive for starch in the style and non-nectariferous parenchyma of the hypanthium. The arrowheads indicate vascular bundles. L. The Maltese cross was observed with polarized light, which indicates the presence of starch in the same sites as the lugol test. The arrowheads indicate vascular bundles. M-O. Naphthol Blue Black-PAS test positive for proteins and insoluble polysaccharides in nectary. E, epidermis; N, nectary; Ne, nectarostome; Sc, secretory cells; Sp, subnectariferous parenchyma; St, style. Scale bars: A, D, E, N = 50 μ m; B, F, K = 25 μ m; C, G = 12 μ m; H, I, J, L, M, O = 100 μ m.

based on our results the term “furrow” cannot be used to describe the nectary because the innermost stamens are neither curved nor forming a protuberance, as in *Hattiora gaertneri*, *Lepismium cruciforme* and *L. warmingianum* (Almeida *et al.* 2013). The three taxa of *Strombocactus* present a ring with bulky protuberances in the upper edge, which corroborates this structure as an annular nectary based on our results, similar to that of *Rhipsalis* (Almeida *et al.* 2013). We also consider essential to revise once again the type of nectary present in the genera related to *Strombocactus* (e.g., *Turbincarpus s.s.*, *Ariocarpus*, *Epithelantha*; Vázquez-Sánchez *et al.* 2013), as the flowers are equally small, with short receptacles, which could eventually be a feature of taxonomic importance.

As for the anatomy, the nectary of the species of *Strombocactus* is composed of epidermis with nectarostomata, a nectariferous parenchyma with numerous vascular bundles associated to the subnectariferous parenchyma. This arrangement and features of the subtending cells of the epidermis are typical of the floral nectaries described in some species of *Cylindropuntia*, *Opuntia*, *Pterocactus*, *Pereskioopsis*, *Maihuenia*, *Maihueniopsis*, *Tephrocactus*, *Tunilla* (Fuentes-Pérez 2008), *Epiphyllum* (Almeida *et al.* 2010, 2013), *Neobuxbaumia* (Torres-Sánchez 2013; currently known as *Cephalocereus*, Tapia *et al.* 2017), and *Stenocereus* (Urias 2009).

It is noteworthy that the epidermal cells on nectarial tissue

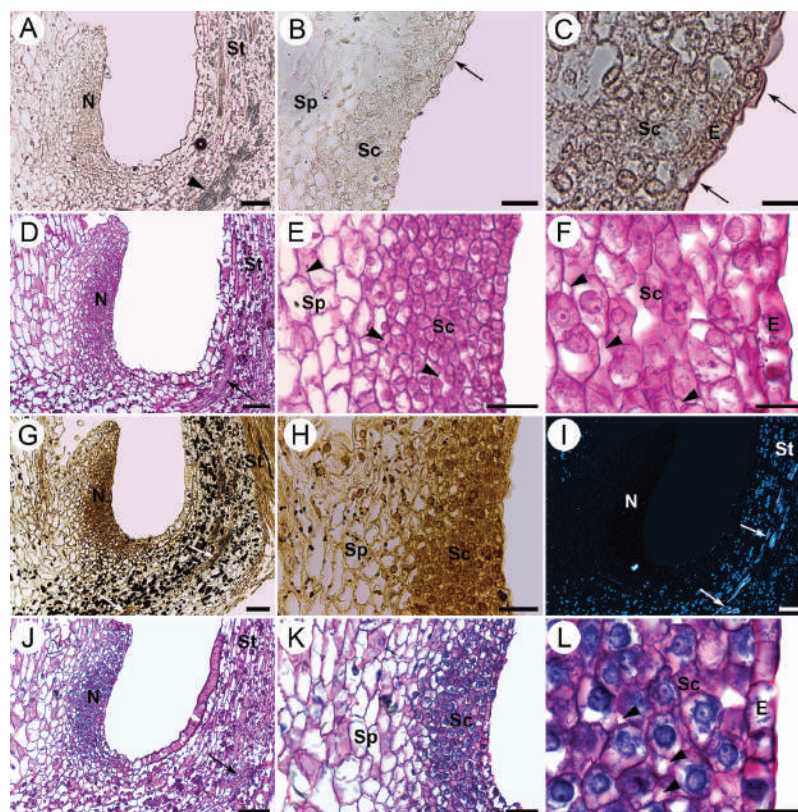


Figure 5. Histochemical tests of the nectary of *S. disciformis* subsp. *esperanzae*. Longitudinal sections. A-C. Oil red “O” test, in which the arrows indicate the cuticle with positive result for waxes. The arrowheads indicate a vascular bundle. D-F. Periodic acid–Schiff (PAS) test was positive for insoluble polysaccharides in the nectary, style and superior wall of the ovary. The arrow indicates a vascular bundle. The arrowheads indicate intercellular spaces. G, H. Lugol test, was positive for starch in the style and non-nectariferous parenchyma located in the hypanthium. The arrows indicate vascular bundles. I. Under polarized light, starch grains appear bright showing the Maltese cross in the same sites in which the lugol test was positive. The arrows indicate vascular bundles. J-L. Naphthol Blue Black - PAS test was positive for proteins and insoluble polysaccharides in the nectary. The arrow indicates a vascular bundle. The arrowheads indicate intercellular spaces. E, epidermis; N, nectary; Sc, secretory cells; Sp, subnectariferous parenchyma; St, style. Scale bars: A, D, G, I, J = 80 μm ; B, E, H, K = 40 μm ; C, F, L = 16 μm .

of the three taxa of *Strombocactus* does not show tannins, as in other species of columnar cactus like *Escontria chiotilla*, *Cephalocereus mezcalaensis*, *Stenocereus pruinosus* (Fuentes-Pérez 2004), *C. tetetzo*, *C. columna-trajani* (Torres-Sánchez 2013) and some species of *Opuntia* and *Tephrocactus* (Fuentes-Pérez 2008). The latter genera have large flowers, with more open floral tubes developing on stems with more magnificent exposition to solar radiation, in contrast with the taxa of *Strombocactus*, whose size barely surpasses the soil and is many times found in association with a nurse plant.

The nectar in the species of *Strombocactus* is secreted through modified stomata called nectarostomata, which cannot regulate its opening or closure (Nepi 2007). The discharge of nectar through nectarostomata is the most common way of secretion. According to Leins & Erbar (2010), these are stomata whose occlusive cells lack chloroplasts and are not functional in gas exchange, and they are present in many dicotyledons (Bernardello 2007). The nectar secreted by nectarostomata is frequent in Cactaceae (Fuentes-Pérez 2004, Almeida *et al.* 2013, Torres-Sánchez 2013, Gudiño

et al. 2015). It has also been reported the secretion of nectar through secretory trichomes in *Disocactus ackermannii*, *Epiphyllum guatemalense* and *Hylocereus undatus* (Almeida *et al.* 2013), across pores in *Polaskia chichipe*, and through fissures in the cuticle in *P. chende* (Gudiño *et al.* 2015).

During the study of the species of *Strombocactus* and given the density of the cytoplasm, size of the vacuoles, large nucleus and numerous intercellular spaces in the nectariferous parenchyma (secretory cells), the tissue is considered to present merocrine secretion, meaning that the cells remain alive during this process without disintegrating tissue (Fahn 1979, Nepi 2007). The Naphthol Blue Black test indicates great metabolic activity of these cells, as is it proves the presence of abundant proteins. On the other hand, starch was not detected, probably because this is not a storage tissue and because carbohydrates break down rapidly to produce nectar or other components, which is the case of *Platanthera chlorantha* (Orchidaceae, Stpiczynska *et al.* 2005).

Regarding the characteristics of the nectar in *Strombocactus* species (low volume and percentage of saccharose < 33 %),

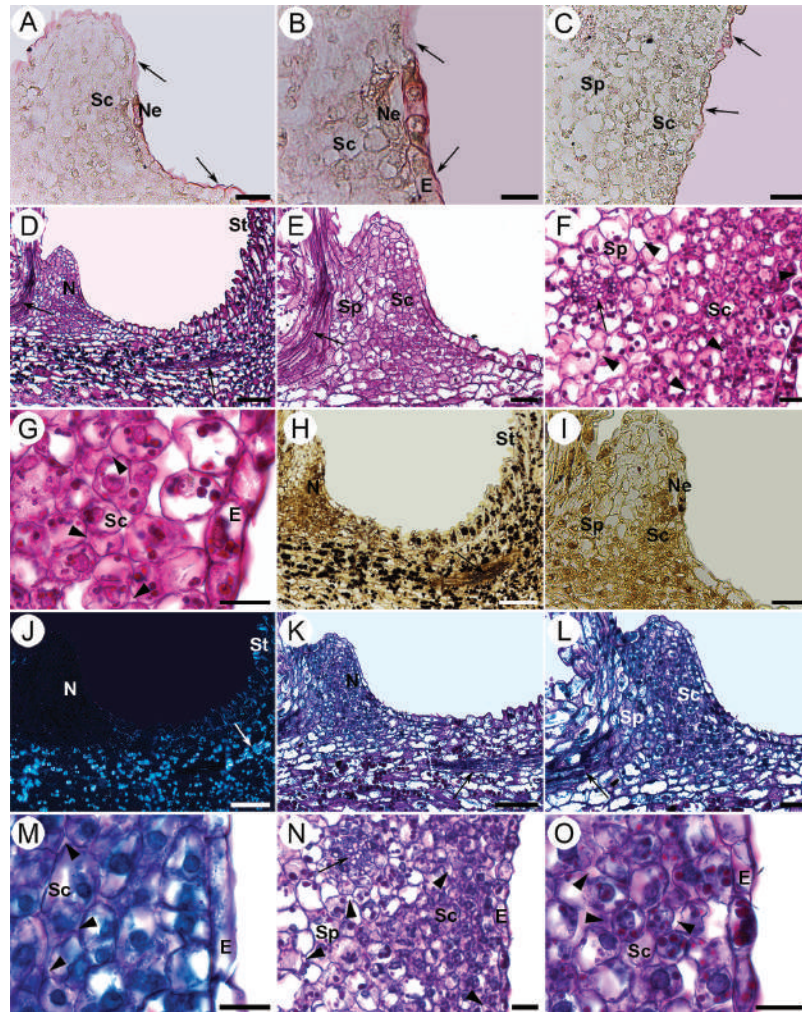


Figure 6. Histochemical tests of the nectary of *S. correidorae*. Longitudinal (A, B, D, E, H-M) and transversal (C, F, G, N, O) sections. A-C. Oil red “O” test, in which the arrows indicate the cuticle which was positive for the presence of waxes. B. Enhancement of a nectarostome. D-G. Periodic acid–Schiff (PAS) test was positive for insoluble polysaccharides in the nectary, style and upper region of the ovary. The arrows indicate vascular bundles. The arrowheads indicate intercellular spaces. H-I. Lugol test was positive for starch in style and non-nectariferous parenchyma located in the hypanthium. The arrow indicates a vascular bundle. J. The Maltese cross was observed under polarized light, indicating the presence of starch in the same places as in the lugol test. The arrow indicates a vascular bundle. K-O. Naphthol Blue Black - PAS test was positive for proteins and insoluble polysaccharides in the nectary. The arrows indicate vascular bundles, the arrowheads, intercellular spaces. E, epidermis; N, nectary; Ne, nectarostome; Sc, secretory cells; Sp, subnectariferous parenchyma; St, style. Scale bars: A, C, E, I, L = 40 μ m; B, G, M, O = 16 μ m; D, H, J, K = 100 μ m; F, N = 20 μ m.

it is necessary detailed analysis its chemical composition and its temporal production dynamics to generate a more concrete idea of how these characteristics are associated with pollinators as suggested by Baker & Baker (1983, 1990), Cruden *et al.* (1983) and Nicolson & Thornburg (2007) in other species. However, based on floral characteristics of the three *Strombocactus* taxa studied, as diurnal anthesis, infundibular shape flower, color flower, nectar and pollen as rewards, these attributes indicate that they can be pollinated by bees, as proposed by Faegri & Van Der Pijl (1979), Fenster *et al.* (2004) and Domínguez & Pérez (2013) based on the flower features associated with the pollination syndromes.

Acknowledgements

This study was supported by the DGAPA-PAPIIT Program (IN-223814) and CONACyT (101771) to SVS. This paper constitutes a partial fulfillment of the Graduate Program in Biological Sciences of the National Autonomous University of México (UNAM) for A. Camacho-Velázquez, who acknowledges scholarship and financial support provided by the National Council of Science and Technology (CONACyT), and UNAM. We are grateful to Silvia Espinosa Matías and Ana Isabel Bieler for technical support in the Scanning Electron Microscopy and Light microscopy pictures.

To Jerónimo Reyes and Gabriel Olalde (JB-IB-UNAM), Emiliano Sánchez M. and Magdalena Hernández M. (JBR Cadereyta), Patricia Olgún Santos (FC-UNAM) y Daniel Sánchez Carbajal (CONACyT-U de G) for their help with the biological collections. We are also grateful to Estela Sandoval Z., Mercedes Castro L. and the anonymous reviewers for their valuable comments of the manuscript.

Literature cited

- Almeida OJG, Cota-Sánchez JH, Paoli AAS. 2013. The systematic significance of floral morphology, nectaries, and nectar concentration in epiphytic cacti of tribes Hylocereeae and Rhipsalideae (Cactaceae). *Perspectives in Plant Ecology, Evolution and Systematics* **15**: 255-268. DOI: <http://doi.org/10.1016/j.ppees.2013.08.001>
- Almeida OJG, Sartori-Paoli AA, Souza LA. 2010. Flower morpho-anatomy in *Epiphyllum phyllanthus* (Cactaceae). *Revista Mexicana de Biodiversidad* **81**: 65-80. DOI: <http://doi.org/10.22201/ib.20078706e.2010.001.185>
- Álvarez R, Godínez-Álvarez H, Guzmán U, Dávila P. 2004. Aspectos ecológicos de dos cactáceas mexicanas amenazadas: implicaciones para su conservación. *Boletín de la Sociedad Botánica de México* **75**: 7-16. DOI: <http://doi.org/10.17129/botsoci.1690>
- Anderson EF. 2001. The Cactus Family. Oregon: Timber Press Portland. ISBN: 978-0881924985
- Arias S, Sánchez-Martínez E. 2010. Una especie nueva de *Strombocactus* (Cactaceae) del río Moctezuma Querétaro, México. *Revista Mexicana de Biodiversidad* **81**: 619-624. DOI: <http://doi.org/10.22201/ib.20078706e.2010.003.633>
- Baker HG, Baker I. 1983. Floral nectar sugar constituents in relation to pollinator type. In: Jones CE, Little RJ, eds. *Handbook of Experimental Pollination Biology*. New York: Scientific Academic Editions, 117-141. ISBN: 0-442-2467-5
- Baker HG, Baker I. 1990. The predictive value of nectar chemistry to the recognition of pollinator types. *Israel Journal of Botany* **39**: 157-166. DOI: <http://doi.org/10.1080/0021213X.1990.10677140>
- Bernardello G. 2007. A systematic survey of floral nectaries. In: Nicolson SW, Nepi M, Pacini E, eds. *Nectaries and Nectar*. New York: Springer, 19-128. DOI: 10.1007/978-1-4020-5937-7; ISBN: 978-1-4020-5936-0
- Britton NL, Rose JN. 1922. *The Cactaceae*, third vol. Washington DC: The Carnegie Institution of Washington. DOI: <http://doi.org/10.5962/bhl.title.46288>
- Buxbaum F. 1953. *Morphology of Cacti*. Section II: Morphology of the Flower. Pasadena: Abbey Garden Press, 93-170.
- Cruden RW, Hermann SM, Peterson S. 1983. Patterns of nectar production and plant pollinator coevolution. In: Bentley B, Elias T, eds. *The Biology of Nectaries*. New York: Columbia University Press, 80-125. ISBN-13: 978-0231044462
- De Candolle AP. 1828. Revue de la famille des cactées. *Mémoires du Muséum D'Histoire Naturelle* **17**: 1-119.
- Del Castillo RF. 1994. Polinización y otros aspectos de la biología floral de *Ferocactus histrix*. *Cactáceas y Suculentas Mexicanas* **39**: 36-42.
- Díaz-Castelazo C, Rico-Gray V, Ortega F, Ángeles G. 2005. Morphological and secretory characterization of extrafloral nectaries in plants of coastal Veracruz, México. *Annals of Botany* **96**: 1175-1189. DOI: <http://doi.org/10.1093/aob/mci270>
- Domínguez C, Pérez JR. 2013. La biología de la polinización. En: Márquez-Guzmán J, Collazo-Ortega M, Martínez-Gordillo M, Orozco-Segovia A, Vázquez-Santana S, eds. *Biología de Angiospermas*. Ciudad de México: Prensas de la Facultad de Ciencias, UNAM, 101-109. ISBN: 9786070227059
- Faegri K, Van Der Pijl L. 1979. *The Principles of Pollination Ecology*. Oxford: Pergamon. ISBN: 978-0-08-023160-0
- Fahn A. 1979. Ultrastructure of nectaries in relation to nectar secretion. *American Journal of Botany* **66**: 977-985. DOI: <http://doi.org/10.2307/2442240>
- Fahn A. 1988. Secretory tissues in vascular plants. *New Phytologist* **108(3)**: 229-257. DOI: <http://doi.org/10.1111/j.1469-8137.1988.tb04159.x>
- Fenster CB, Armbruster WS, Wilson P, Dudash MR, Thomson JD. 2004. Pollination syndromes and floral specialization. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics* **35**: 375-403. DOI: <http://doi.org/10.1146/annurev.ecolsys.34.011802.132347>
- Fuentes-Pérez M. 2004. *Anatomía floral de siete especies de la tribu Pachycereeae (Cactaceae)*. BSc Thesis, Universidad Nacional Autónoma de México.
- Fuentes-Pérez M. 2008. *Estudio comparativo de la anatomía floral en Opuntioideae K. Schum. (Cactaceae)*. MSc Thesis, Institución de Enseñanza e Investigación en Ciencias Agrícolas. Colegio de Posgraduados.
- Fuentes-Pérez M, Terrazas T, Arias S. 2009. Anatomía floral de cinco especies de *Opuntia* (Opuntioideae, Cactaceae) de México. *Polibotánica* **27**: 89-102.
- Grajales-Conesa J, Meléndez-Ramírez V, Cruz-López L. 2011. Aromas florales y su interacción con los insectos polinizadores. *Revista Mexicana de Biodiversidad* **82**: 1356-1367. DOI: <http://doi.org/10.22201/ib.20078706e.2011.4.762>
- Gudiño W, Márquez-Guzmán J, de la Barrera E. 2015. Structural implications for nectar secretion by nectaries of three columnar cacti. *Maejo International Journal of Science and Technology* **9**: 156-164. DOI: <http://doi.org/10.14456/mi-jst.2015.13>
- Heil M, McKey D. 2003. Protective ant-plant interactions as model systems in ecological and evolutionary research. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics* **34**: 425-453. DOI: <http://doi.org/10.1146/annurev.ecolsys.34.011802.132410>
- Hernández HM, Gómez-Hinostrosa C, Goettsch B. 2004. Checklist of Chihuahuan Desert Cactaceae. *Harvard papers in Botany* **9**: 51-68.
- Irwin RE, Adler LS, Brody AK. 2004. The dual role of floral traits: pollinator attraction and plant defense. *Ecology* **85**: 1503-1511. DOI: <http://doi.org/10.1890/03-0390>
- Leins P, Erbar C. 2010. *Flower and Fruit: Morphology, Ontogeny, Phylogeny, Function and Ecology*. Stuttgart: Schweizerbart Science Publishers. ISBN-13: 978-3510652617
- López-Curto ML, Márquez-Guzmán J, Murguía-Sánchez G. 2005. *Técnicas para el Estudio del Desarrollo en Angiospermas*. Ciudad de México: Prensas de la Facultad de Ciencias,

- UNAM. ISBN: 968-36-4822-3
- Márquez-Guzmán J, Wong R, Pérez M, López L, Murguía G. 2016. *Técnicas de Laboratorio para el Estudio del Desarrollo en Angiospermas*. Ciudad de México: Prensas de la Facultad de Ciencias, UNAM. ISBN: 9786070282522
- Mauseth DF. 1982. Development and ultrastructure of extrafloral nectaries in *Ancistrocactus scheeri* (Cactaceae). *Botanical Gazette* **143**: 273-277. DOI: <http://doi.org/10.1086/337300>
- Nepi M. 2007. Nectary structure and ultrastructure. In: Nicolson SW, Nepi M, Pacini E, eds. *Nectaries and Nectar*. New York: Springer, 129-166. ISBN: 978-90-481-7481-2
- Nicolson SW, Thornburg R. 2007. Nectar chemistry. In: Nicolson SW, Nepi M, Pacini E, eds. *Nectaries and Nectar*. New York: Springer, 215-264. ISBN: 978-90-481-7481-2
- Oliveira PS, Rico-Gray V, Díaz-Castelazo C, Castillo-Guevara C. 1999. Interaction between ants, extrafloral nectaries and insect herbivores in Neotropical coastal sand dunes: herbivore deterrence by visiting ants increases fruit set in *Opuntia stricta* (Cactaceae). *Functional Ecology* **13**: 623-631. DOI: <http://doi.org/10.1046/j.1365-2435.1999.00360.x>
- Pacini E, Nepi M, Vesprini JL. 2003. Nectar biodiversity: a short review. *Plant Systematics and Evolution* **238**: 7-21. DOI: <http://doi.org/10.1007/s00606-002-0277-y>
- Pacini E, Nicolson S. 2007. Introduction. In: Nicolson SW, Nepi M, Pacini E, eds. *Nectaries and Nectar*. New York: Springer, 1-18. ISBN: 978-90-481-7481-2
- Pickett CH, Clark WD. 1979. The function of extrafloral nectaries in *Opuntia acanthocarpa* (Cactaceae). *American Journal of Botany* **66**: 618-625. DOI: <http://doi.org/10.1002/j.1537-2197.1979.tb06265.x>
- Proctor M, Yeo P, Lack A. 1996. *The Natural History of Pollination*. London: HarperCollins Publishers. ISBN-13: 978-0881923520
- Richards AJ. 1986. *Plant Breeding Systems*. Boston: Allen & Unwin. ISBN: 9780045810208
- Ruffner GA, Clark WD. 1986. Extrafloral nectar of *Ferocactus acanthodes* (Cactaceae): Composition and its importance to ants. *American Journal of Botany* **73**: 185-189. DOI: <http://doi.org/10.1002/j.1537-2197.1986.tb08519.x>
- Sánchez-Martínez E, Chávez-Martínez RJ, Hernández-Oria JG, Hernández-Martínez MM. 2006. *Especies de Cactáceas Prioritarias para la Conservación en la Zona Árida Queretano-Hidalguense*. Querétaro: Consejo de Ciencia y Tecnología del Estado de Querétaro.
- Simpson BB, Neff JL. 1983. Evolution and diversity of floral rewards. In: Jones CE, Little RJ, eds. *Handbook of Experimental Pollination Biology*. New York: Scientific and Academic Editions, 142-159. ISBN: 0-442-2467-5
- Stpiczynska M, Milanese C, Faleri C, Cresta M. 2005. Ultrastructure of the nectary spur of *Platanthera chlorantha* (Custer) Rchb. (Orchidaceae) during successive stages of nectar secretion. *Acta Biologica Cracoviensia Series Botanica* **47**: 111-119.
- Suárez M, Diana X. 2003. *Guía de Procesos para la Elaboración de Néctares, Mermeladas, Uvas Pasas y Vinos*. Bogotá: Convenio Andrés Bello.
- Tapia HJ, Bárcenas-Argüello ML, Terrazas T, Arias S. 2017. Phylogeny and circumscription of *Cephalocereus* (Cactaceae) based on molecular and morphological evidence. *Systematic Botany* **42**: 1-15. DOI: <http://doi.org/10.1600/036364417X696546>
- Torres-Sánchez DE. 2013. *Estructura de los nectarios florales en miembros de la Tribu Pachycereeae (Cactaceae Juss.)*. BSc. Thesis. Universidad Nacional Autónoma de México.
- Urias J. 2009. *Anatomía de las estructuras reproductivas de Stenocereus alamosensis (J. M. Coult.) A. C. Gibson y K. E. Horak (Cactaceae)*. MSc. Thesis, Colegio de Posgraduados, México.
- Vázquez-Sánchez M, Terrazas T, Arias S, Ochoterena H. 2013. Molecular phylogeny, origin and taxonomic implications of the tribe Cacteeae (Cactaceae). *Systematics and Biodiversity* **11**: 103-116. DOI: <http://doi.org/10.1080/14772000.2013.775191>
- Villamil N, Márquez-Guzmán J, Boege K. 2013. Understanding ontogenetic trajectories of indirect defense: ecological and anatomical constraints in the production of extrafloral nectaries. *Annals of Botany* **112**: 701-709. DOI: <http://doi.org/10.1093/aob/mct005>

Associated editor: Silvia Aguilar Rodríguez

Author contributions: ACV designed and carried out the experiments, wrote the manuscript; SVS conceived and designed the project and the experiments, wrote the manuscript. SA and JMG reviewed and corrected the manuscript. All authors read and approved the manuscript.

Capítulo 4

Seed development and germination of *Strombocactus* species (Cactaceae): A comparative morphological and anatomical study

Publicado en *Flora*



Research Article

Seed development and germination of *Strombocactus* species (Cactaceae): A comparative morphological and anatomical study

Aldebaran Camacho-Velázquez^a, Salvador Arias^b, Florencia García-Campusano^c,
Emiliano Sánchez-Martínez^d, Sonia Vázquez-Santana^{a,*}

^a Laboratorio de Desarrollo en Plantas, Departamento de Biología Comparada, Facultad de Ciencias, Universidad Nacional Autónoma de México, Ciudad de México, 04510, México

^b Jardín Botánico, Instituto de Biología, Universidad Nacional Autónoma de México, Ciudad de México, 04510, México

^c Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias, CENID-COMEF, Progreso 5, Coyoacán, Ciudad de México, 04010, México

^d Jardín Botánico Regional de Cadereyta Ing. Manuel González de Cosío, CONCYTEQ, 76500 Cadereyta de Montes, Querétaro, México

ARTICLE INFO

Edited by Alessio Papini

Keywords:

Aril
Cactaceae
Germination
Seed appendage
Seedling

ABSTRACT

Seed development, germination and seedling establishment were compared between *Strombocactus* species, *S. corregidorae*, *S. disciformis* ssp. *disciformis* and *S. disciformis* ssp. *esperanzae*, emphasizing the origin and role of the seed appendage, which is present only in both *S. disciformis* subspecies. The development and morpho-anatomy of both seeds and seedlings were evaluated using standard light microscopy and scanning electron microscopy. Embryo and seed development proceeded similarly in all three taxa. However, we unequivocally demonstrate the funicular origin and aerenchymatic structure of the seed appendage, the aril in *S. disciformis* ssp. *disciformis* and *S. disciformis* ssp. *esperanzae*, which differentiates soon after fertilization. Other distinguishing features include the delayed growth of the testa in the micropyle in *S. corregidorae*, and testa micromorphology in mature seeds. Seed potential and production were similar between species, although seed efficiency was higher in both subspecies of *S. disciformis*, which may reflect pollination problems in *S. corregidorae* natural populations. Seed flotation occurs in the three taxa, due to the presence of air spaces in the lumen of the seed coat cells and the aril aerenchymatic, when present. Neither physiological nor structural dormancy were detected in *Strombocactus*, and a high percentage of seeds germinated in the different taxa, as no scarification or disinfection treatments were necessary. The absence of the aril in *S. corregidorae* shows that further genetic, phylogenetic and comparative ontogenic studies that include the three taxa of *Strombocactus* and the nearest genera, such as *Ariocarpus*, *Turbincarpus* and *Epithelantha*, are required in order to determine if this structure was gained or lost during evolution of *Strombocactus*. This research provides a greater understanding of the reproductive biology of this endangered genus endemic to Mexico, necessary for the establishment of future restoration and conservation programs.

1. Introduction

Cactaceae species have evolved a diversity of life forms and various adaptations to aridity, which are reflected in their morphological and physiological characteristics, as well as in their reproductive versatility (Mandujano et al., 2010; Arias and Flores, 2013). The genus *Strombocactus* are shrubs that belong to the tribe Cacteae in the Cactoideae subfamily (Anderson, 2001; Arias and Sánchez-Martínez, 2010). *Strombocactus* was originally described as *Mammillaria* by De Candolle (1828), and was later proposed as a monotypic genus by Britton and Rose (1922) (*Strombocactus disciformis* (DC.) Britton & Rose). Currently, two species are recognized, *S. disciformis* (DC.) Britton & Rose (with the

subspecies *S. disciformis* ssp. *disciformis* and *S. disciformis* ssp. *esperanzae* Glass & S. Arias), and *S. corregidorae* S. Arias & E. Sánchez (Arias and Sánchez-Martínez, 2010). To date, cacti phylogenies that include the three taxa are still lacking. These species are associated with dry environments in the Chihuahuan-Queretaroan desert, have a very restricted distribution and are experiencing a decline in the number of mature individuals (Álvarez et al., 2004; Arias and Sánchez-Martínez, 2010). Although many cacti have efficient reproductive strategies and produce numerous seeds, commonly the survival and establishment of the seedlings is low, as in *Neobuxbaumia tetetzo* (Valiente-Banuet and Ezcurra, 1991). *Strombocactus* exhibits increased vulnerability, due to low seedling recruitment (personal observation), as well as to the

* Corresponding author.

E-mail address: svs@ciencias.unam.mx (S. Vázquez-Santana).

<https://doi.org/10.1016/j.flora.2018.03.006>

Received 15 July 2017; Received in revised form 8 March 2018; Accepted 8 March 2018

Available online 11 March 2018

0367-2530/ © 2018 Elsevier GmbH. All rights reserved.

overall decrease in population numbers as a result of the pressures exerted by human activity, mainly by land-use change for agriculture and illegal trade (Glass and Arias, 1996; Lüthy, 2001; Arias and Sánchez-Martínez, 2010; Jiménez, 2011). Currently, they are included in Appendix A Appendix I of the CITES (Convention on International Trade in Endangered Species, 2010) and are listed as threatened by the Mexican government (Norma Oficial Mexicana, SEMARNAT, 2010). The natural range of this genus includes the States of Querétaro, Hidalgo and Guanajuato (Glass and Arias, 1996; Anderson, 2001; Scheinvar, 2004; Arias and Sánchez-Martínez, 2010). Species of *Strombocactus* appear to colonize relatively similar habitats: small rock crevices filled with fine soil, on steep slopes and vertical walls, and emerge in places with calcareous shales, preferably in areas devoid of vegetation or sparsely vegetated. *Strombocactus* plants are often observed growing under the canopy of nurse plants (Álvarez et al., 2004; Arias and Sánchez-Martínez, 2010).

Seed developmental patterns and germination are pivotal to our understanding of the natural settings in which Cactaceae species are inserted, by revealing some of the interrelationships responsible for a successful reproduction, a prerequisite for the temporal persistence of this plant group at a given locality. Early studies found that certain seed characteristics were linked to the type of seed or fruit dispersers that are attracted by them, thus the interpretations of the (easily observable) dispersal syndrome has been widely used as a substitute for direct observations (Bregman, 1988). However, in some cases the evidence regarding the predicted versus the actual dispersers is erroneous. For example, Ritter (1981) assumed that the seeds of *Frailea* are dispersed by wind, however its hatshape may be regarded as an adaptation to transportation by water when it rains, additionally to being dispersed by ants (Machado, 2007). This has opened the door to a general criticism as to the value of seed development and anatomy in understanding dispersal and germination.

Many of the associated characteristics such as seed shape, size, color, the presence of different appendages, as well as germination pattern and seedling morphology, are useful to identify different taxa and understand their ecological interactions (Flores, 1976; Gibson and Horak, 1978; Barthlott and Hunt, 2000; Arreola-Nava and Terrazas, 2003; Arias and Terrazas, 2004; Arroyo-Cosultchi et al., 2006, 2007). Particularly, greater understanding on the origin and function of the seed appendage, may provide further insight into the role of these structures in the evolution and current distribution of these species.

There are several terms that describe each of the seed appendages based on the ontogenic origin, chemical composition and morphoanatomy (Van Der Pijl, 1972; Bewley and Black, 1994; Bewley et al., 2013; Márquez-Guzmán, 2013). However, the terminology employed by different authors is often inconsistent, and terms such as aril, elaiosome, strophiole and caruncle are commonly used as synonyms of one another. In *Strombocactus*, Bravo-Hollis and Sánchez-Mejorada (1991) indicate that the seed of *S. disciformis* has an aril, whereas Barthlott and Hunt (2000) named this structure as strophiole. Anderson (2001) states that the seed of this species can be arillate (page 35) or strophiolate (page 651), whereas Rojas-Aréchiga (2009) mentions the presence of an elaiosome, although in later work she uses the terms strophiole and elaiosome as synonyms (Rojas-Aréchiga, 2012). Given the confusion in the terminology used to describe the seed appendage, developmental studies that include the characterization of this structure are necessary to clarify its origin, chemical composition and morphoanatomy, in order to provide a more exact appraisal type of appendage and its potential function during seed dispersal.

The purpose of this study was to describe and compare the ontogenic events that occur during seed and seedling development in the genus *Strombocactus* to gain insight into the reproductive biology of the group. Attention was focused on the ultrastructural changes that give rise to the seed appendage in both *S. disciformis* subspecies, and flotation experiments were performed to discern if this structure could potentially function in seed dispersal by water. In addition, we examined

whether seed production and germinability were compromised to infer potential causes of the low reproductive efficiency found in this endangered genus in its natural habitat. The main question of this study is What is the nature of the seed appendage and what is its role during seed dispersion?

2. Materials and methods

2.1. Study species and sites

The species of *Strombocactus* are distributed in a canyon system between the States of Querétaro, Guanajuato and Hidalgo (Hernández et al., 2004; Sánchez-Martínez et al., 2006; Hernández-Oria et al., 2007). The distribution of *S. corregidorae* is restricted to three localities in the area known as Infiernillo Canyon in Querétaro, whereas *S. disciformis* ssp. *disciformis* has a wider but fragmented distribution and has been reported in at least 9 localities in Querétaro, Hidalgo and Guanajuato. For each of these species, a single locality in Querétaro was studied from 2014 to 2017. The type of climate of the studied localities is BSk, with a maximum temperature 33.6 °C, minimum −3.3 °C and annual mean of 17.3 °C; annual mean precipitation of 506 mm and an annual mean wind speed of 3.5 Km/h. We were unable to find any specimens of *S. disciformis* ssp. *esperanzae* in its natural habitat near Xichú, Guanajuato (type of climate BSh, annual mean temperature of 20.9 °C and annual mean precipitation of 579 mm), so material from the living collection of the Botanical Garden of the UNAM and from The Cadereyta Regional Botanical Garden were used in this research.

2.2. Seed morpho-anatomy

Flowers in anthesis (n = 20) and fruits (n = 20) at various developmental stages, from a minimum of 10 different plants from each taxon, were collected and fixed in FAA (10: 50: 35, formaldehyde, 95% ethanol, acetic acid, distilled water). Three seeds were extracted from each of the fruits and processed for light microscopy (n = 60); these were dehydrated in an ascending ethanol series, embedded in medium grade LR-White Resin (Electron Microscopy Sciences, Fort Washington, PA, USA), sectioned at 1.0–1.25 µm using a JMC-MT 990 ultramicrotome, and stained with aqueous toluidine blue. In order to corroborate the presence of polyphenols, the potassium permanganate stain was performed (Herrera-Flores et al., 2005). Slides were mounted with Entellan (Merck) and examined using an Olympus Provis AX70 light microscope equipped with a digital camera. For scanning electron microscopy (SEM) analysis, mature ovules, developing seeds and seedlings were fixed in FAA and dehydrated in a graded ethanol series. Specimens were critical point dried with CO₂ in a critical point dryer CPD-030 Bal-Tec, then mounted on metallic holders, sputter coated with gold using a Denton Vacuum Desk-II sputter coater following standard protocols, and viewed in a Jeol JSM-5310LV (Tokyo, Japan) scanning electron microscope. Images were taken from different seed regions: lateral, dorsal and hilum-micropylar (Fig. S1). When pertinent, the seed appendage was removed in order to expose the detail of the hilum-micropylar region. The terminology for seed morphology used here is based on that proposed for the Cactaceae by Barthlott and Hunt (2000). For the morphological analysis of germination and seedling development, 200 seeds from each taxon were placed on Petri dishes and covered with moistened filter paper. The dishes were sealed with Parafilm tape to maintain humidity. For each taxon three germinated seeds and three seedlings at different post-germination times (3, 6, 12, 24 h and then every 24 h) and developmental stages were fixed in FAA and processed as mentioned for SEM.

For each taxon, seed diameter and length (from the chalaza to the hilum-micropylar zone) was measured using a Leica microscope and the LAS EZ version 2.0 software. Four seeds from eight fruits from different plants (n = 32) were used.

2.3. Seed germination experiments

For the germination tests, eight replicates of 30 seeds (from different individuals) per taxon were placed on moistened filter paper in Petri dishes, under a 12 h photoperiod at 25 °C, according to Álvarez et al. (2004). Seeds were checked daily for 30 days and the number of germinated seeds was registered. Seeds were considered germinated when the radicle tip emerged from the seed coat (germination *sensu stricto*). Seed germinability (%), emergence rate index and mean germination time were calculated.

2.4. Seed production potential and estimation of efficiency

To compare seed efficiency, ovule number per ovary and seed number per fruit were counted in *S. disciformis* ssp. *esperanzae* (n = 10), in *S. disciformis* ssp. *disciformis* (n = 15) and in *S. corregidora* (n = 17). Seed production potential (SPP) was considered as the mean number of ovules per ovary. The mean number of developed seeds (NDS), number of collapsed seeds (NCS) and total seed number (TSN, developed and collapsed) per fruit were obtained. An estimation of percentage developed seeds (PDS) was calculated using the mean values obtained for NDS and TSN by the formula $PDS = (NDS/TSN) \times 100$, and the seed efficiency (SEf) was calculated using the mean values obtained for SPP and NDS by the formula $SEf = NDS/SPP$, the formulas were modified from Bramlett et al. (1977) and Mendizábal-Hernández et al. (2010).

2.5. Seed flotation

Seed flotation was tested using 20 seeds per taxon (from different fruits and plants) using two treatments: (1) 265 ml of distilled water, (2) 265 ml of distilled water and 30 mg of commercial powder detergent (to break superficial tension). For each treatment five replicates were used. To simulate the effect of water currents during rain, seeds from each taxon were placed in 265 ml of distilled water in a 300 ml container and subjected to a 0.3 ml jet of water using an insulin syringe (commercial), the time it took for each seed to reach the bottom of the container and return to the surface was registered. Only seeds that had reached the bottom of the container were timed. There were 40 replicates with different seeds for each taxon.

2.6. Statistical analyses

Number of ovules and seeds, seed measurements, germinability (%), the emergence rate index and mean germination time were expressed as mean \pm standard deviation (SD) values. In each case, the Shapiro-Wilk normality test was applied. Differences in ovule and seed number, seed measurements and mean germination time among taxa were tested for statistical significance using a one-way ANOVA, whereas a Kruskal-Wallis (*K-W*) test was applied to seed diameter, germinability (%), the emergence rate index values and seed resurfacing. For each taxon and in each replicate, an arcsine transformation was applied to the accumulated germinability (%) in time and then adjusted to a sigmoid using the program TableCurve 2D v5.01 to obtain the maximum germination rate (taking into account the maximum first derivative). All data were analyzed using GraphPad Prism version 5.0 software.

3. Results

3.1. Ovule morphology and anatomy

During anthesis the mature ovules of *S. disciformis* ssp. *disciformis*, *S. disciformis* ssp. *esperanzae* and *S. corregidora* were similar, with differences arising after fertilization. Ovules are campylotropous, bitegmic, with endostome micropyle, formed by a projection of the inner integument (Fig. 1A–C). The funiculus is long; its ventral epidermis is papillate and functions as an obturator (Fig. 1A–D). The epidermis of

the outer integument is enlarged from the chalaza to the micropyle, slightly globose in both *S. disciformis* subspecies (Fig. 1A and B), whereas it is slightly depressed and isodiametric in *S. corregidora* (Fig. 1C). The raphe is shorter in length than the antiraphe (Fig. 1A–D). The ovules are crassinucellate, and the nucellus consists of 4–5 layers of cells; both integuments are bilayered, become thickened and multi-layered (up to 4 layers) near the micropylar region (Fig. 1D). The vascular bundle ends at the chalaza (not shown). The embryo sac and nucellus are curved; in both species the embryo sac is Polygonum type, heptacellular and octanucleate, with three ephymorous antipodes (not shown), a binucleate central cell with a large vacuole and small amount of cytoplasm, two synergids and the egg cell (Fig. 1D and E). A pronounced growth of parenchymatic cells in the distal region of funiculus was observed in *S. disciformis* ssp. *disciformis* (Fig. 1A and D) and in *S. disciformis* ssp. *esperanzae* (Fig. 1B), but not in *S. corregidora* (Fig. 1C).

3.2. Ontogeny of arillate seeds in the *Strombocactus disciformis* subspecies

Soon after fertilization, before cellular divisions of the zygote become apparent, in both *S. disciformis* subspecies localized divisions of subepidermal cells in the distal portion of the funiculus give rise to a distinctive protuberance, which from hereon will be referred to as a seed appendage type aril (Fig. 2A–D).

This is followed by the first transversal zygotic division that produces a large vacuolated basal cell and a densely cytoplasmic apical cell (Fig. 2E). At this time, the endosperm is nuclear type with a chalazal and micropylar domain. Further transverse cell divisions of the zygote give rise to a three to four celled linear proembryo (Fig. 2F–I). Growth of the aril is sustained by divisions in the apical portion of the funiculus, without the participation of the integuments (Fig. 2F and H). Although initially undifferentiated, both testa and tegmen are bilayered, notwithstanding the exotesta is visibly enlarged (Fig. 2F). At the quadrant embryo stage, the endosperm cytoplasm begins to accumulate starch grains near the proembryo and the micropyle is clogged by the remnants of the pollen tube (Fig. 2G–I). The aril begins to widen taking on a “horseshoe shape”, without covering the micropyle and the testa is still shorter than tegmen (Fig. 2J and K).

When the embryo proper is in the octant stage, the suspensor has two tiers of 4–5 vacuolated cells that push the embryo into the endosperm. At the micropyle region, the testa has elongated covering the tegmen. The exotesta has thick walls and contain dark-staining substances resembling polyphenolic compounds (data not shown), whereas cells of tegmen are compactly arranged and have thinner walls (Fig. 2L and M). The perisperm cells near the micropyle have dense cytoplasm and starch granules (Fig. 2M). The aril is formed by parenchymatous epidermis and an aerenchyma with large intercellular spaces (Figs. Figure 2N, Figure 3B). At this time, the seed coat exotesta is formed by globose cells, especially near the raphe and antiraphe, which is particularly noticeable in *S. disciformis* ssp. *disciformis*. In the distal portion of the funiculus the aril is enlarged and rounded (Figs. Figure 2O, Figure 3A). The micropyle is formed by collapsed tegmen cells (Fig. 3C).

At the beginning of the globular embryo stage the endosperm is still nuclear, the exotesta accumulates polyphenolic inclusions, and the aril cells extend towards the distal portion of the seed (Fig. 3D). During late globular embryo stage, the endosperm becomes cellular and vacuolated. The embryo presents a protodermis and the future radicle meristem differentiates in the region adjacent to the suspensor, whereas cells of the suspensor are immersed in the perisperm and endosperm. The exotesta shows differential thickening of the cell walls (Fig. 3E and F). The aril is completely aerenchymatic (Fig. 3G) and grows towards the distal portion of the seed, without covering the micropyle (Fig. 3H).

The heart embryo stage begins with the elongation of the cotyledons, with the apical meristem located at the distal end of the embryo and the procambium at the center; the suspensor cells are still present (Fig. 3K and L). The aril elongates towards the chalaza, covering about

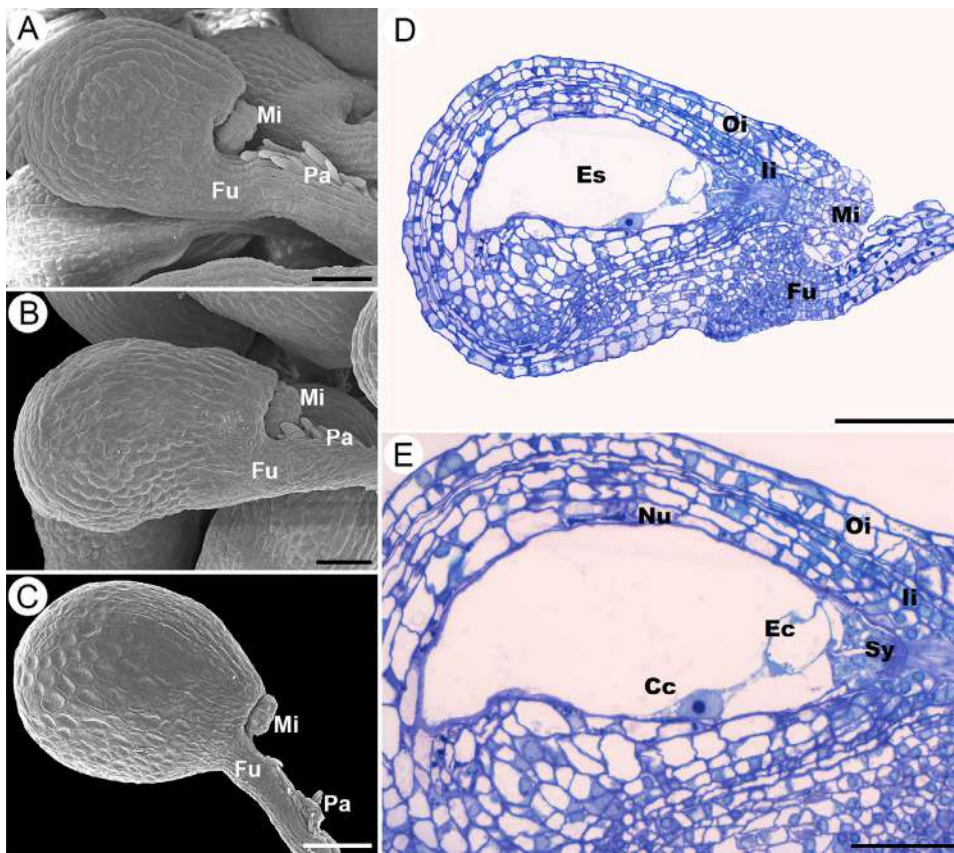


Fig. 1. Morphology of the mature ovules. A, D and E *Strombocactus disciformis* ssp. *disciformis*; B, *S. disciformis* ssp. *esperanzae* and C, *S. corregidorae*. (A, B, C) Mature ovule, the funiculus has papillae on its ventral surface. (D) Anatomy of campitotropous, bitegmic and crassinucellate ovule. (E) Polygonum embryo sac showing two synergids, egg cell and central cell. Cc, central cell; Ec, egg cell; Es, embryo sac; Fu, funiculus; li, inner integument; Mi, micropyle; Nu, nucellus; Oi, outer integument; Pa, papillae; Sy, synergids. Scale bars = 50 μ m (A, B), 100 μ m (C), 80 μ m (D), 40 μ m (E).

a quarter of the seed, while leaving the micropyle partially exposed (Fig. 3I). Cells of the aril begin to collapse (Fig. 3J). The exotesta is completely filled with polyphenols, evidencing its role in hardening the seed coat and providing mechanical strength (Fig. 3K).

At the equivalent of the torpedo stage, the seed coat is formed by the exotesta, the endotesta and exotegmen. At the early cotyledonary stage, the cotyledons and radicle are clearly distinguishable and the suspensor is degraded (Fig. 4A and B). The seed coat near the antiraphe is formed by a thick exotesta rich in polyphenols, an endotesta with one or two cell layers, and a degenerated tegmen. The perisperm has two cell layers while the endosperm is single layered and shows signs of degradation. The embryo cells expand to accumulate storage material and are vacuolated (Fig. 4C). Near the chalaza and raphe, the endosperm, perisperm and endotesta are multilayered (Fig. 4D), whereas near the micropyle they are single-layered (Fig. 4E). Therefore, the perisperm is limited to the area of the raphe and the endosperm is scarce in both *S. disciformis* subspecies.

The mature seeds are globose and arillate. The final structure of the exotesta consists of a dense layer of dark-staining polyphenols (data not shown) and sclerenchymatic cells with a large lumen (empty space) (Fig. 4F and G). The embryo occupies most of the seed due to its massive expansion during the later developmental stages; it is straight and globose, comprised mainly of a large hypocotyl, reduced cotyledons and radicle (Figs. Figure 4G, Figure 6). The hypocotyl-radicle axis and short cotyledons contain most of the reserve material that consists of starch granules and proteins, as confirmed by the lugol and naphthol blue black histochemical tests (not shown). Near the antiraphe, the exotesta is thick, the endotegmen consists of large, irregularly shaped degenerating parenchymatic cells, the perisperm is absent and the endosperm is a layer of longitudinally flattened cells (Fig. 4H). Whereas at the chalazal and raphe end the seed coat is formed by collapsed endotegmen, the exotesta has fully-developed secondary wall thickenings, and there is a starchy layer of endosperm and a bilayered and

vacuolated perisperm (Fig. 4I). At the micropyle region the tegmen is collapsed, the endotesta is multilayered and the exotesta is lignified (Fig. 4J).

3.3. Ontogeny of the non-arillate *Strombocactus corregidorae*

Seed development in *S. corregidorae* is similar to the other taxa, except for the formation of the protuberance in the distal part of the funiculus, which fails to develop, making the seeds non-arillate (Fig. 5A–J). Furthermore, in contrast to *S. disciformis*, where the testa covers the tegmen at the early globular stage, in *S. corregidorae* growth of the testa is slower and does overcome tegmen until the heart stage (Fig. 5K–M). At maturity, *S. corregidorae* seeds (Fig. 5N–R) have a similar structure to both *S. disciformis*, except by the absence of the aril. The seed coat in *S. corregidorae* is formed by sclerenchymatic cells with thick walls and an empty lumen in the interior (Fig. 5N, O, Q and R).

3.4. Seed micromorphology and size

Strombocactus mature seeds are globose to ovoid, brownish-red in color (Fig. 7A, G and M). Micromorphology reveals distinctive characters among the different species. In non-arillate seeds of *S. corregidorae* (Fig. 7A and B), both the micropyle and the hilum scar can be observed together, forming a single complex, but separated by a band of sclerified tissue (Fig. 7C and D). The outer cell walls of the testa in this species are flat and the ultrasculpture consists of folded sometimes reticulate cuticle, whereas the anticlinal cell walls are straight (Fig. 7E); the cells of the dorsal surface are rectangular (Fig. 7F) and those of the lateral surface are irregularly shaped (Fig. 7E).

Seeds of *S. disciformis* ssp. *disciformis* (Fig. 7G, H and I) have a whitish aril that contrasts with the brownish-red seed coat (Fig. 7G). When the aril is removed, the exposed micropyle is cup-shaped and the hilum-area is wide (Fig. 7J). The periclinal cell walls of the lateral area

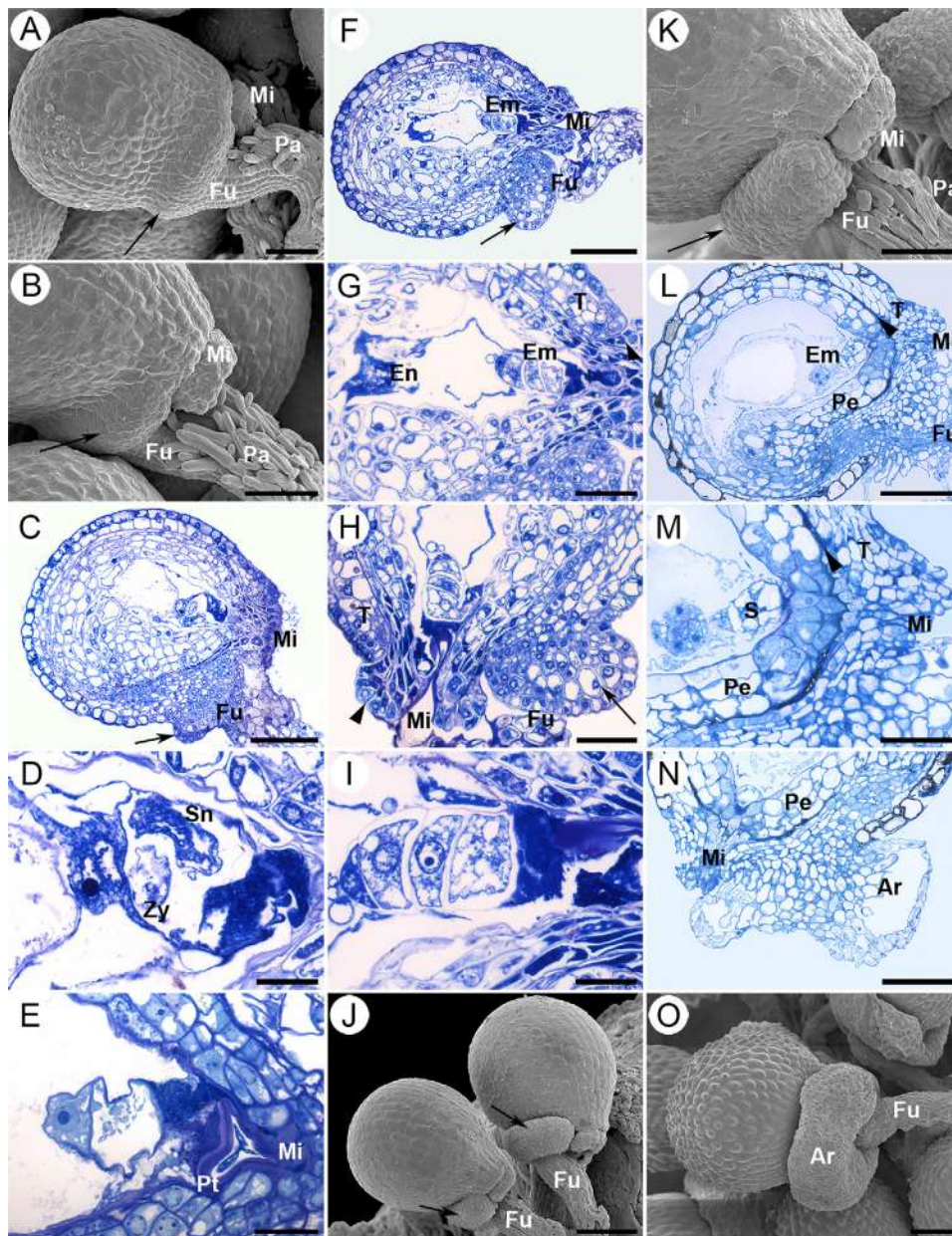


Fig. 2. Seed morphology and ontogeny, from zygote to early octante embryo in *Strombocactus disciformis*. A–K and O, *S. disciformis* ssp. *disciformis*; L–N, *S. disciformis* ssp. *esperanzae*. (A, B, C) At fertilization time, the initiation of a protuberance is observed at the distal end of the funiculus (arrows). (D) The zygote is observed and the other spermatid nucleus will fuse with the polar nuclei. (E) First transverse division of the zygote. (F–I) Tetracellular proembryo stage. (G) Proliferation of the nuclei of the endosperm, the testa is short with respect to the tegmen (arrowhead) in the micropyle. (H) The appendage (arrow) continues to increase in size. The arrowhead indicates the tegmen. (I) Tetracellular proembryo. (J, K) At the stage of the tetracellular proembryo, the seed appendage begins to widen in the form of a horseshoe (arrows), without covering the micropyle. (L–O) Octant stage. (L) The testa already covers the collapsed tegmen (arrowhead). (M) The embryo with a multicellular suspensor. The arrowhead indicates the tegmen. (N) In the interior of the aril the aerenchyma starts to differentiate. (O) The aril continues to grow without covering the micropyle. Ar, aril; Fu, funiculus; Mi, micropyle; Pa, papillae; Pt, pollen tube; Em, embryo; En, endosperm; Pe, perisperm; S, suspensor; Sn, sperm nucleus; T, testa; Zy, zygote. Scale bars = 50 μm (A, B, K, M), 80 μm (C, F), 16 μm (D, E, I), 40 μm (G, H), 100 μm (J, L, N, O).

of the testa are bulgy and slightly conical (Fig. 7K), whereas very conical in the dorsal area (Fig. 7L); the ultrasculpture consists of slightly folded cuticle and the anticlinal cell walls are sinuous (Fig. 7K).

Seeds of *S. disciformis* ssp. *esperanzae* also exhibit a whitish aril that covers the hilum-micropylar region (Fig. 7M–O); when the appendage is removed the micropyle and the hilum scar are exposed (Fig. 7P). The periclinal cell walls of the seed coat are bulging and the ultrasculpture consists of reticulate cuticle; the anticlinal cell walls are slightly sinuous (Fig. 7Q and R), the cells of the dorsal surface are rectangular (Fig. 7R) and those of the lateral surface have irregular shape (Fig. 7Q).

In the three taxa of *Strombocactus*, seeds belong to the “very small” category (according to Barthlott and Hunt, 2000). Seed diameter was similar in all taxa ($K-W = 5.747$, $P = 0.056$), with mean \pm SD values of 0.37 ± 0.01 mm in *S. correjidorae*, 0.38 ± 0.01 mm in *S. disciformis* ssp. *disciformis* and 0.36 ± 0.02 mm in *S. disciformis* ssp. *esperanzae*. Seed length without the aril differed significantly between taxa ($F = 60.06$, $P = 0.0001$), with mean \pm SD of 0.48 ± 0.01 mm in *S. correjidorae*, 0.41 ± 0.02 mm in *S. disciformis* ssp. *disciformis* and 0.46 ± 0.03 mm in *S. disciformis* ssp. *esperanzae*. Furthermore, whole

seed length (including the aril) also differed significantly ($F = 38.67$, $P = 0.0001$) between arillate seeds, ranging from 0.46 – 0.62 (0.53 ± 0.04) mm in length in *S. disciformis* ssp. *disciformis*, and between 0.48 – 0.68 (0.57 ± 0.04) mm in *S. disciformis* ssp. *esperanzae*.

3.5. Seed potential production

In order to assess the reproductive potential of each taxon, the number of ovules and seeds produced were counted. The total number of ovules per ovary was considered the seed production potential (SPP). The mean \pm SD number of ovules per ovary was significantly greater ($F = 13.98$, $P = 0.0001$) in *S. correjidorae* (1611 ± 481.1), than in either *S. disciformis* ssp. *disciformis* (1035 ± 253.3) or *S. disciformis* ssp. *esperanzae* (933 ± 307.5). However, no significant differences ($F = 1.44$, $P = 0.2474$) were observed in the mean \pm SD number of developed seeds (NDS) per fruit, which was 838 ± 487.5 in *S. correjidorae*, 768 ± 258.4 in *S. disciformis* ssp. *disciformis* and 596 ± 177.6 in *S. disciformis* ssp. *esperanzae*. Interestingly, in all taxa between 94 and 96% of total seeds developed normally. To identify the developmental

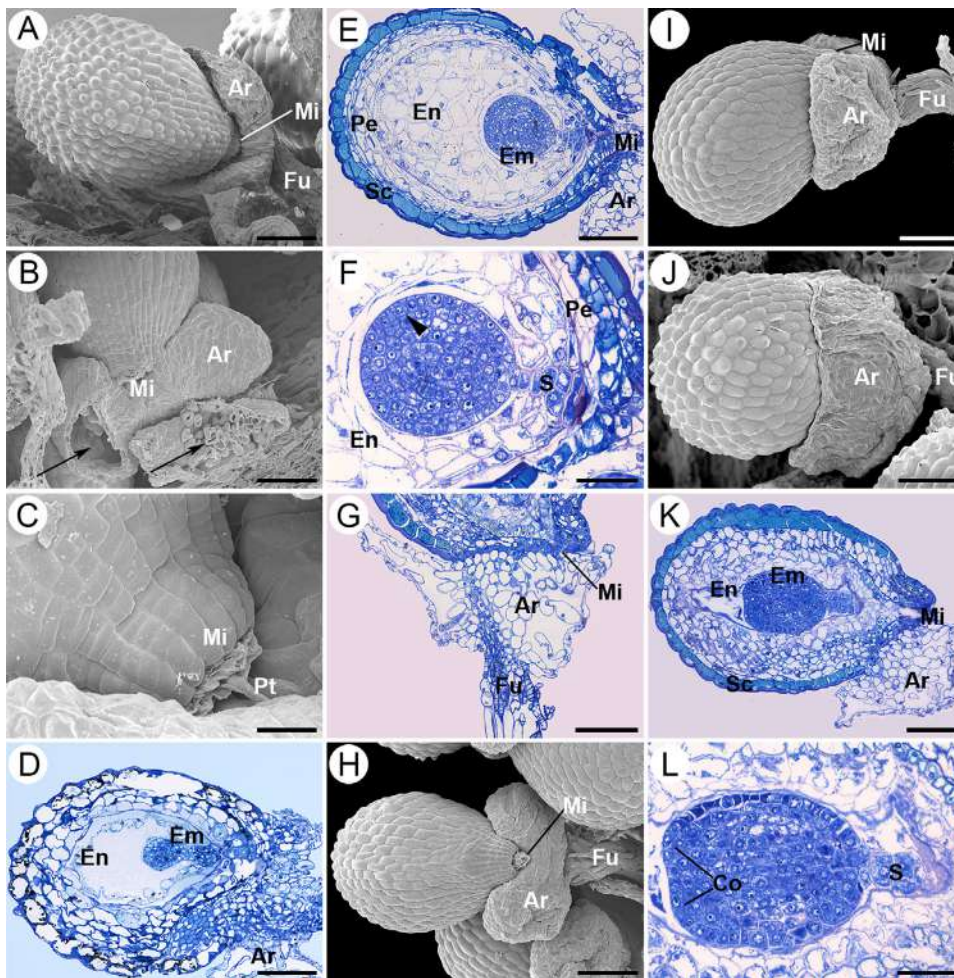


Fig. 3. Ontogeny of arillate seeds (early development). A, C, D and J, *Strombocactus disciformis* ssp. *disciformis*; B, E–I, K and L, *S. disciformis* ssp. *esperanzae*. A–C, In octant stage; D, early globular embryo stage; E–H, advanced globular embryo stage; I–L, heart shape embryo stage. (A) In octant stage the aril continues to grow without covering the micropyle. (B) In the interior of the aril the aerenchyma begins to differentiate (arrow). (C) Remains of a pollen tube seen entering the micropyle. (D) Young globular embryo surrounded by nuclear endosperm and perisperm. (E, F) Differentiation of the protodermis (arrowhead) and a suspensor; the cellular endosperm and perisperm surround the embryo. (G) The aerenchyma inside the aril continues to develop. (H) Advanced globular embryo stage, the aril extends in cup-shape towards the distal zone of seed, the micropyle is free. (I, J) The aril continues to increase its size towards the chalaza. (K, L) The cotyledons become visible and the suspensor is larger. Ar, aril; Co, cotyledons; Em, embryo; En, endosperm; Fu, funiculus; Mi, micropyle; Pe, perisperm; Pt, pollen tube; S, suspensor; Sc, seed coat. Scale bars = 100 µm (A, B, H, I, J), 20 µm (C), 80 µm (D, E, G, K), 40 µm (F, L).

stage and possible contributing causes of seed loss and diminished reproductive success, an estimate of the seed efficiency (SEf) was calculated. Based on the mean ovule number per ovary, SEf in *S. disciformis* ssp. *disciformis* was 74.20%, whereas in *S. disciformis* ssp. *esperanzae* and *S. corregidorae* it was 63.87% and 52.01%, respectively.

3.6. Seed flotation

In the three taxa, all seeds floated initially in distilled water and were still floating after 25 days (Fig. S2). However, seed floatability was affected by the presence of detergent; after 6 days, only $67 \pm 8.36\%$ of the *S. disciformis* ssp. *disciformis* seeds, $58 \pm 18.91\%$ of *S. disciformis* ssp. *esperanzae* and $45 \pm 32.79\%$ of *S. corregidorae* seeds were still floating. The mean time \pm SD it took for purposefully sunken seeds to resurface (8 cm) varied between the different taxa ($K-W = 80.82$; $P < 0.0001$), and was significantly shorter for arillate seeds, which was of 2.61 ± 0.53 s for *S. disciformis* ssp. *disciformis* (Video S1), and of 1.74 ± 0.65 s in *S. disciformis* ssp. *esperanzae* (Video S2), whereas in *S. corregidorae* it took 4.72 ± 1.55 s (Video S3).

3.7. Seed germination

A high percentage of seeds germinated in all taxa and no significant differences were observed between the arillate seeds and those non-arillate ($K-W = 2.686$, $P = 0.261$), therefore the aril did not have an effect on germinability. In *S. disciformis* ssp. *disciformis* mean seed germination was $97.08 \pm 3.75\%$, whereas in *S. disciformis* ssp. *esperanzae* and *S. corregidorae* it was $92.08 \pm 7.75\%$ and $96.67 \pm 4.36\%$, respectively. Furthermore, mean germination time was also similar

between taxa (ANOVA, $F = 0.882$, $P = 0.428$), lasting 5.27 ± 0.06 days for *S. disciformis* ssp. *esperanzae*, 5.29 ± 0.04 days for *S. disciformis* ssp. *disciformis* and 5.31 ± 0.06 days for *S. corregidorae*. The highest emergence rate was reached by *S. disciformis* ssp. *esperanzae* (32.37 ± 5.98 seeds d^{-1}), although no significant differences were obtained with *S. corregidorae* or *S. disciformis* ssp. *disciformis* (29.50 ± 4.49 and 28.91 ± 6.49 seeds d^{-1} , respectively; $K-W = 2.015$, $P = 0.365$). In all taxa, seed germination begins 2–3 days after imbibition when the testa breaks allowing the emergence of the radicle, causing the formation of a circular groove around the hilum-micropylar area known as operculum, which is where the testa comes off (Fig. 8A). Due to the expansion of the hypocotyl, a longitudinal groove is formed in the dorsal portion, which extends from the micropyle to the chalaza through the antiraphe zone (Fig. 8F and K). In *S. disciformis* ssp. *disciformis* (Fig. 8G) and *S. disciformis* ssp. *esperanzae* (Fig. 8L), the emerging radicle pushes through the operculum and the aril, whereas in *S. corregidorae* the radicle emerges through the former (Fig. 8B).

The aril, when present, causes the radicle to curve as soon as it emerges from the seed coat, while the hypocotyl expands radially (Fig. 8G). In the three taxa, the radicle is short and broad, and exhibits numerous root hairs that form at a short distance from the root meristem and grow along the periphery and length of the radicle, rendering the cell elongation zone inconspicuous (Fig. 8B and L). The seed coat opens in two irregular valves, due to the widening and elongation of the hypocotyl (Fig. 8L). Both the cotyledons and hypocotyl turn green 2–3 days post-germination, indicating strong metabolic activity and chlorophyll synthesis. The radicle stops growing early and the number of root hairs increases (Fig. 8C). At the shoot, small cotyledons cover

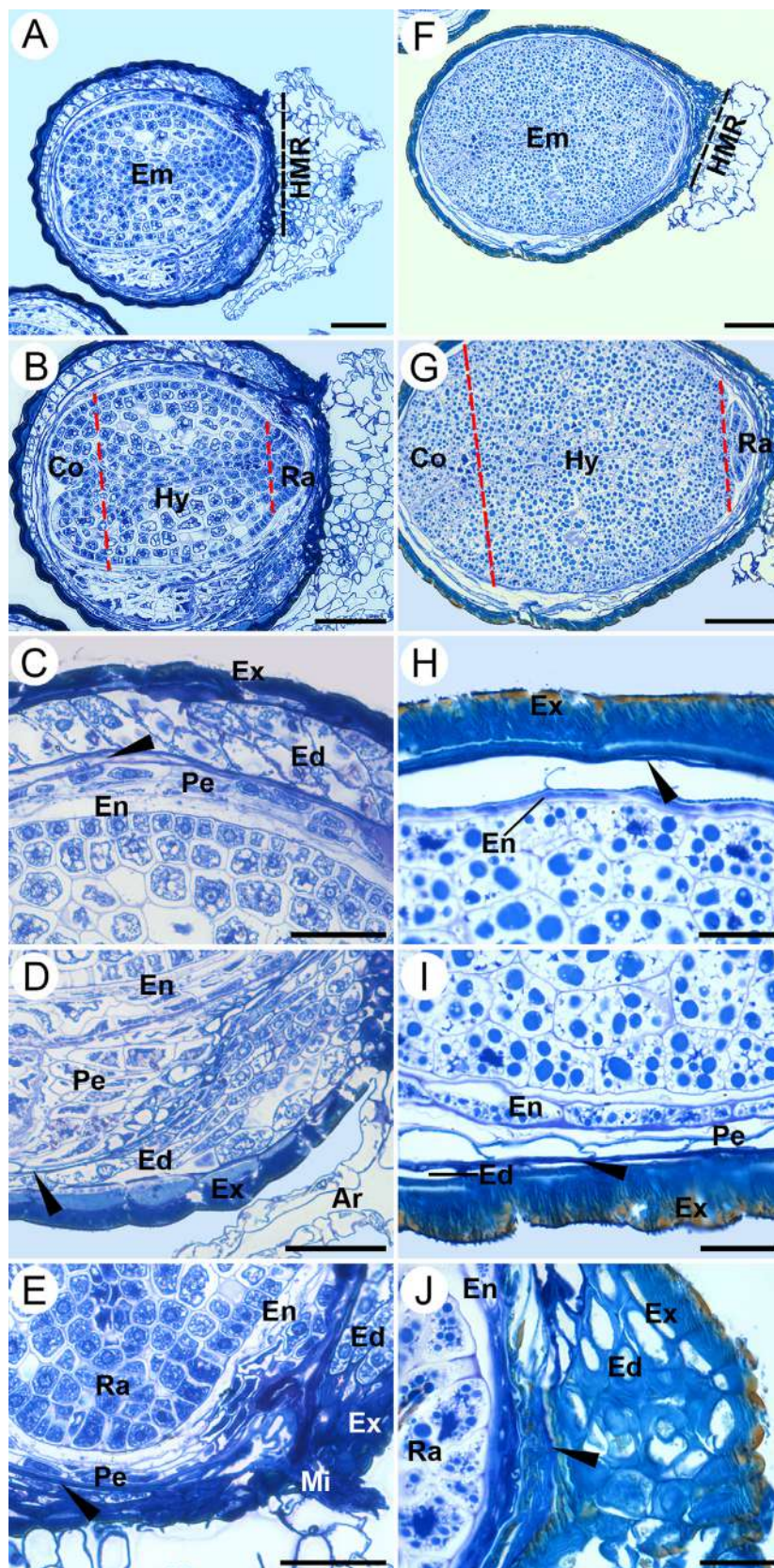


Fig. 4. Ontogeny of arillate seeds (late development). A–E, Seeds of *S. disciformis* ssp. *disciformis* at cotyledonary stage embryo; F–J, Mature seeds of *S. disciformis* ssp. *esperanzae*. (A, F) Whole seeds with the aril covering the hilum, but the micropyle is free; dotted black lines indicate the hilum-micropylar region. (B, G) The whole embryos showing short cotyledons that are broad at the base; the radicle is short and broad; the embryo cells are vacuolated. (C, H) Antiraphe zone. (D, I) Raphe zone. (E, J) Micropilar region; arrowheads indicate the remnants of the tegmen. Ar, aril; Co, cotyledons; Ed, endotesta; Em, embryo; En, endosperm; Ex, exotesta; HMR, hilum-micropylar region; Hy, hypocotyl; Mi, micropyle; Pe, perisperm; Ra, radicle. Scale bars = 80 μ m (A, B, F, G), 40 μ m (C, D, E), 16 μ m (H, I, J).

the apical meristem (Fig. 8C and H). The seedling is globose, with a much wider hypocotyl than cotyledons or radicle (Fig. 8D, I, M and N). Stomata develop early in the hypocotyl and can be seen as depressions in the epidermis (Fig. 8I). Later, podaria begin to differentiate in the

apical region; these are very small and flattened, and the areola can be distinguished at the axil (Fig. 8E, J and O).

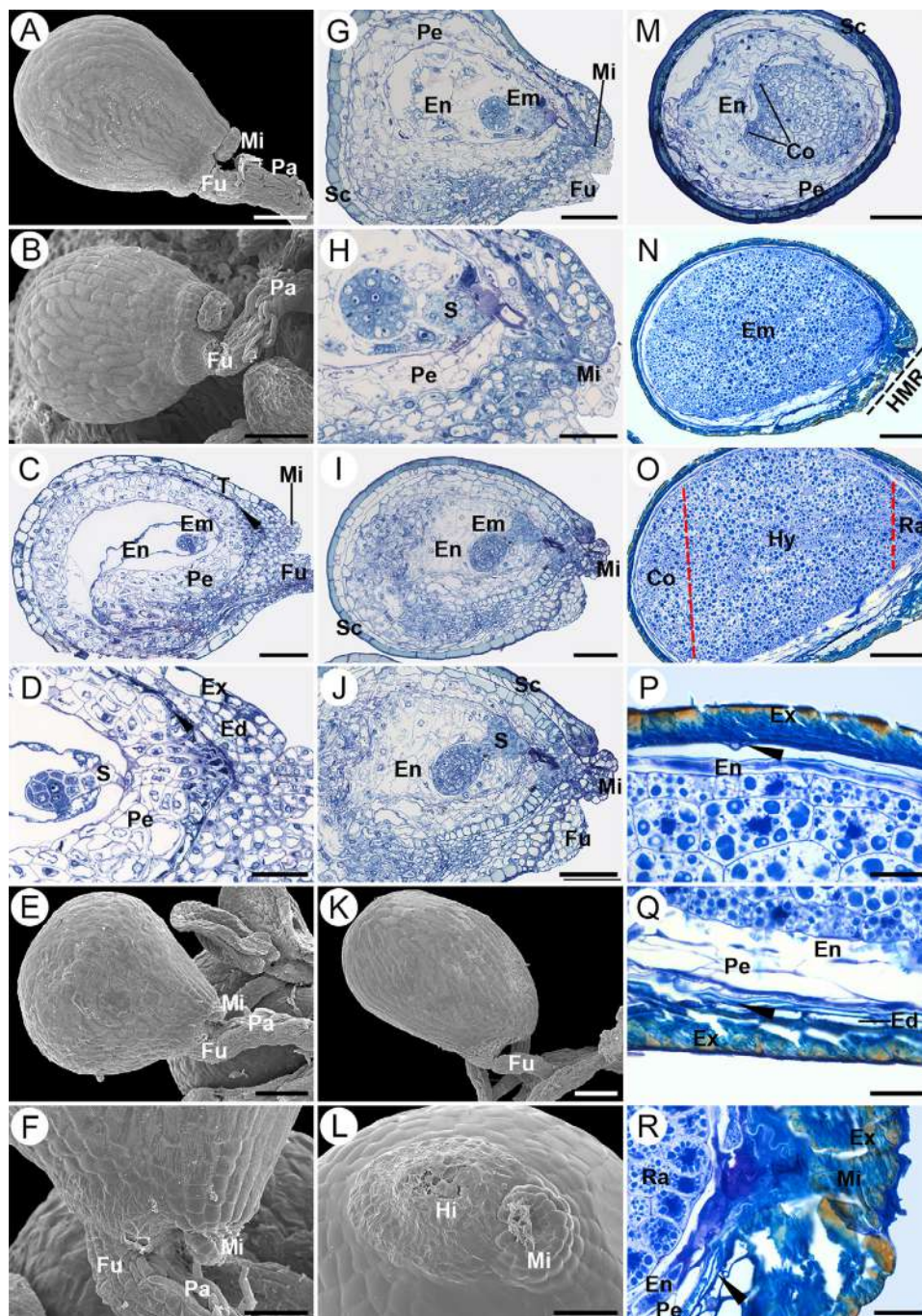


Fig. 5. Ontogeny of non-arillate seeds in *S. correidorae*. (A, B) After fertilization no protuberance is seen in the distal part of the funiculus. (C–F) At the beginning of the globular embryo and nuclear endosperm, the tegmen still surpasses the testa. (G, H) At earlier globular stage the perisperm is multi-layered and the endosperm becomes cellularized; remnants of pollen tube are still observed. (I, J) When the endosperm is abundant and completely cellular the suspensor has a broad base; the exotesta and endotegmen become lignified, whereas the endotesta and exotegmen are parenchymatic. (K) At early heart-shaped embryo stage the testa begins to cover the tegmen. (L) During heart embryo stage the testa forms the micropyle, close to the hilum, but no appendage is observed. (M) Heart-shaped embryo stage, the cotyledons begin to appear, the cellular endosperm is copious and the perisperm starts to collapse; the exotesta thickens. (N) Longitudinal section of mature seed without seed appendage; the embryo is straight; the dotted black line indicates the hilum-micropylar region. (O) The embryo has short cotyledons, but is broad at the base; the radicle is short and wide; dotted red lines indicate the limits of hypocotyl. (P) Antiraphe zone. (Q) Raphe zone. (R) Micropylar region; arrowhead indicates the remnants of the tegmen. Co, cotyledons; Ed, endotesta; Em, embryo; En, endosperm; Ex, exotesta; Fu, funiculus; Hi, hilum; HMR, hilum-micropylar region; Hy, hypocotyl; Mi, micropyle; Pa, papillae; Pe, perisperm; Ra, radicle; S, suspensor; Sc, seed coat. Scale bars = 100 µm (A, B, E, K, L), 80 µm (C, G, I, J, M, N, O), 40 µm (D, H), 50 µm (F, L), 16 µm (P, Q, R). (For interpretation of the references to colour in this figure legend, the reader is referred to the web version of this article.)

4. Discussion

In this study we present a detailed analysis of the different stages involved in seed and early seedling development in *S. correidorae* and two subspecies of *S. disciformis*, the only known representatives of *Strombocactus*, a vulnerable genus native to central Mexico. We provide new seed characters and variations in seed coat anatomy and ultra-sculpture, which represent a new and effective way to differentiate between the taxa. Furthermore, we provide unequivocal evidence on the origin and nature of the seed appendage found exclusively in *S. disciformis* ssp. *disciformis* and *S. disciformis* ssp. *esperanzae*, and discuss its potential usefulness in the identification and classification of the members of this genus, as well as its role in seed dispersal.

4.1. Comparative seed and seedling morpho-anatomy in *Strombocactus*

The early stages of embryogenesis and endospermogenesis appear similar in the three taxa, however differences were observed in the pattern of micropyle formation and in seed appendage differentiation in both subspecies of *S. disciformis*. In cacti, the micropyle is formed by the tegmen, however, as maturation progresses, growth of the testa cell layer gradually overtakes and encloses the seed, eventually crushing the tegmen (Corner, 1976). In *Strombocactus*, the time required for the testa to overtake the tegmen during its development differs notably between taxa, whereas in both *S. disciformis* subspecies this occurs early in the octant embryo stage, in *S. correidorae* the growth of the testa is not completed until the heart embryo stage. In general, there are very few research papers describing seed and seedling development in Cactaceae (Ganong, 1898; Engleman, 1960; Flores and Engleman, 1976; Almeida

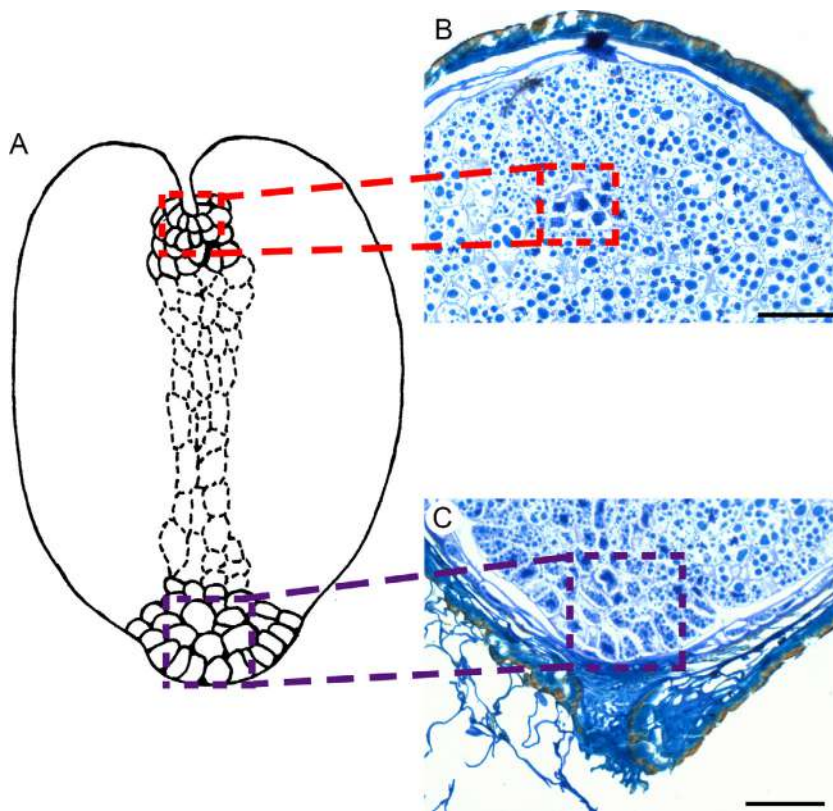


Fig. 6. Diagram of a *Strombocactus* embryo showing the meristematic zones. (A) *Strombocactus* embryo. (B) Close up to the chalaza region. (C) Close up to the micropylar region of a mature seed of *S. disciformis* ssp. *esperanzae*. The red boxes indicate the shoot apical meristem. The purple boxes indicate root apical meristem. Scale bars = 40 μ m (B, C). (For interpretation of the references to colour in this figure legend, the reader is referred to the web version of this article.)

et al., 2013), so we could not compare this information with what occurs in other related species nor ascribe its physiological significance, notwithstanding it was a stable character within each taxon.

At maturity, the seed proper always looks more or less rounded, contains an embryo with a well developed hypocotyl, short cotyledons and radicle, the perisperm is limited to the raphe end, and the endosperm is scarce, similar to other globose Cactoideae taxa, such as *B. liliputana* (Barthlott and Porembski, 1996) and *Astrophytum myriostigma* (Engelman 1960; Johri et al., 1992). In *Strombocactus*, the hypocotyl increases notoriously its size and accumulates reserve material, even the short radicle contains reserves. The reduction in perisperm and endosperm volume is consistent with a scenario in which the function of reserve accumulation to sustain rapid germination has been transferred to the embryonic tissues, which agrees with the notorious increase in size of the hypocotyl and reduction of cotyledons (Johri et al., 1992; Barthlott and Hunt, 2000; Ritz et al., 2012). It was recently shown that during embryogenesis and germination in *Cereus jamacaru*, reserves are moved to the embryo axes and cotyledons before seed dehydration takes place (Alencar et al., 2012). In *Mammillaria* and *Parodia* the hypocotyl has assumed the function of accumulating reserves almost completely, and constitutes 90% of the volume of the embryo (Barthlott and Hunt, 2000).

In the mature seed, ultrastructure of the testa also varied between the taxa, in *S. correjidorae* the testa is formed by flattened cell walls, with folded and reticulate cuticle in some areas, whereas *S. disciformis* ssp. *disciformis* exhibits globose conical cells, and a slightly folded cuticle. Interestingly, although in *S. disciformis* ssp. *esperanzae* the outer cell walls are also globose, the cells are flatter with a reticulate cuticle, and the overall appearance is closer to *S. correjidorae*. These characters may be used to distinguish between the *S. disciformis* subspecies, as it has proven suitable to identify closely related taxa in other Cactaceae, Orchidaceae (Behnke and Barthlott, 1983) and Loasaceae (Noguera and Jáuregui, 2006); however, further phylogenetic testing is necessary to validate their usefulness as diagnostic characters in this clade.

After germination, the three taxa of *Strombocactus* form a broad and

short radicle and develop root hairs. The newly emerged *Strombocactus* seedlings are small in size, about 0.5 mm high. This is also characteristic of the seedlings of *Turbincarpus pseudomacrolele*, a closely related species (Álvarez et al., 2004). The *Strombocactus* seedlings are globose, as in *Ariocarpus retusus* and *A. fissuratus* (Buxbaum, 1950), emphasizing the role of the hypocotyl in water and nutrient storage.

4.2. Origin of the seed appendage

The seed appendage described in *S. disciformis* ssp. *disciformis* and *S. disciformis* ssp. *esperanzae*, does not exist in *S. correjidorae*, or in other related genera, such as *Ariocarpus*, *Turbincarpus* and *Epithelantha* (Bravo-Hollis and Sánchez-Mejorada, 1991; Barthlott and Hunt, 2000; Anderson, 2001; Scheinvar, 2004). Based on our observations of the funicular origin of this structure, the appendage is positively defined as an aril, since it originates solely from the funiculus (Van Der Pijl, 1972; Zhang et al., 2011; Silveira et al., 2016). In the literature, the term aril is often used erroneously and interchangeably with several other structures, such as the strophiole, caruncle or elaiosome, even though their ontogeny and chemical nature differs, which for many species has not been clarified (Buxbaum, 1955; Engelman, 1960; Bravo-Hollis, 1978; Bravo-Hollis and Sánchez-Mejorada, 1991; Barthlott and Porembski, 1996). The strophiole is formed from the raphe zone of the ovule (Van Der Pijl, 1972; Karaki et al., 2012; Silveira et al., 2016), whereas the caruncle is a fleshy structure that is formed from the integument, nearby the micropyle (Van Der Pijl, 1972; Zhang et al., 2011, 2014). On the other hand, the term elaiosome refers to any structure with nutritive content (irrespective of its ontogenetic origin) that represents a reward for dispersers, mainly ants (Hughes and Westoby, 1992; Leal et al., 2007; Linhart, 2014). Although the presence of an elaiosome has been suggested in various genera of Cactaceae, such as *Parodia*, *Aztekium*, *Rebutia*, *Notocactus* and *Gymnocalycium* (Bregman, 1988), specific developmental studies to clarify its nature have not been performed.

In the particular case of *Strombocactus*, the seed appendage has been

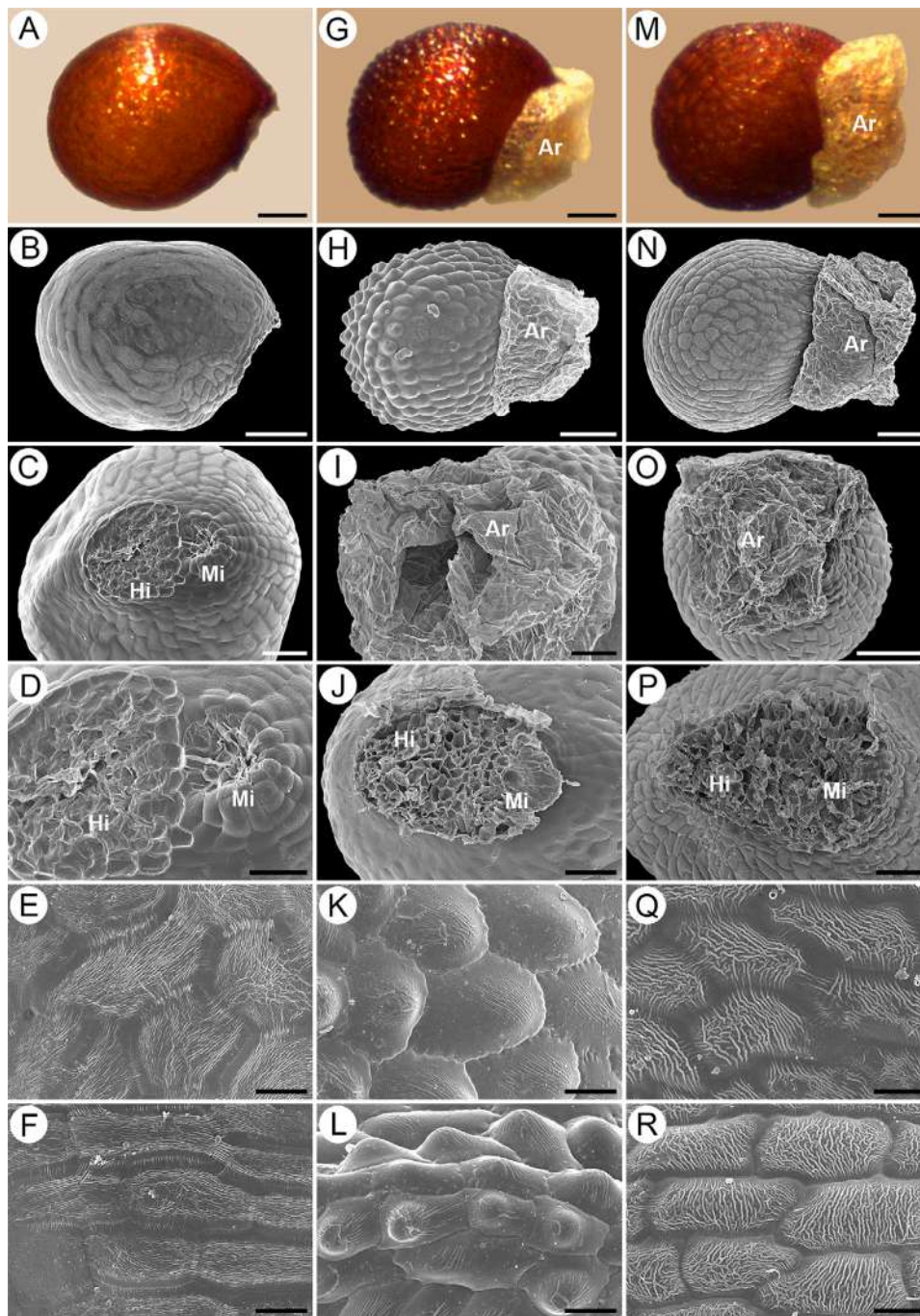


Fig. 7. Seed micromorphology in the genus *Strombocactus*. A-F, Non-arillate *S. corregidorae*; G-L, arillate *S. disciformis* ssp. *disciformis* and M-R, *S. disciformis* ssp. *esperanzae*. (A, G, M) Lateral view of the seeds, which are brownish-red color; the aril is pale yellow when present. (B, H, N) Lateral view of the seeds showing their micromorphology. (B, N) Flattened seed coat cells in *S. corregidorae* and *S. disciformis* ssp. *esperanzae* respectively. (H) Globose testa cells in *S. disciformis* ssp. *disciformis*. (C) Hilum-micropylar view of *S. corregidorae* seed. (I, O) Hilum-micropylar view in both *S. disciformis* subspecies, it is covered by the papiraceous aril seed appendage. (D) Detail of the hilum-micropylar region of *S. corregidorae*. (J, P) Detail of the hilum-micropylar region in both *S. disciformis* subspecies, the aril was manually removed. (E, K, Q). Detail of cells of the lateral zone; straight and flattened cells and reticulate cell walls in *S. corregidorae* (E) and *S. disciformis* ssp. *esperanzae* (Q), but globose cells and striate cuticle in *S. disciformis* ssp. *disciformis* (K). (F, L, R). Detail of cells of the dorsal zone; straight, rectangle and flattened cells and reticulate cuticle in *S. corregidorae* (F) and *S. disciformis* ssp. *esperanzae* (R) but rounded and globose cells with striate cuticle in *S. disciformis* ssp. *disciformis* (L). Ar, aril; Hi, hilum; Mi, micropyle. Scale bars = 100 μ m (A, B, G, H, M–O), 50 μ m (C, I, J, P), 30 μ m (D), 20 μ m (E, F, K, L, Q, R). (For interpretation of the references to colour in this figure legend, the reader is referred to the web version of this article.)

commonly mentioned as a strophiole and is used as a diagnostic character (Scheinvar, 2004; Arias and Sánchez-Martínez, 2010; Rojas-Aréchiga, 2012), notwithstanding its absence from *S. corregidorae* (among other morphological characters). However, the structure was named a strophiole without performing prior developmental studies to demonstrate its origin. Our results clarify the origin of the aril in the *S. disciformis* subspecies and opens the door to its use as an informative taxonomic character for future phylogenetic studies. Further ontogenic studies need to be performed in the various species of the Cactaceae in order to clarify if the appendages are homologous structures.

4.3. Aril function in *Strombocactus*

It has been argued that the main function of the aril is for dispersal by ants, since the appendage is usually associated with soft tissues and

lipid reserves (Van Der Pijl, 1972; Bregman, 1988; Rojas-Aréchiga and Vázquez-Yanes, 2000). Furthermore, in some species of the family Euphorbiaceae the elaiosome serves as a support structure used by ants to transport the seeds to their nests (Leal et al., 2007). However, in *S. disciformis* the aril is not fleshy and it does not contain reserves, therefore it does not constitute an elaiosome and does not represent a reward for the ants. Our field observations showed fruit dispersal by *Atta* sp. ants (Video S4, Fig. S3), although we did not detect the movement of individual seeds to suggest the aril plays a role in anemochory. In the cactus *Denmoza rhodacantha*, ants carry away individual seeds (Eggl and Giorgetta, 2015), however, it is not clear whether these seeds have an appendage, although article photos are suggestive of its presence.

Alternatively, the aril may function as a flotation structure for dispersion by water; seeds belonging to the genera *Astrophytum*

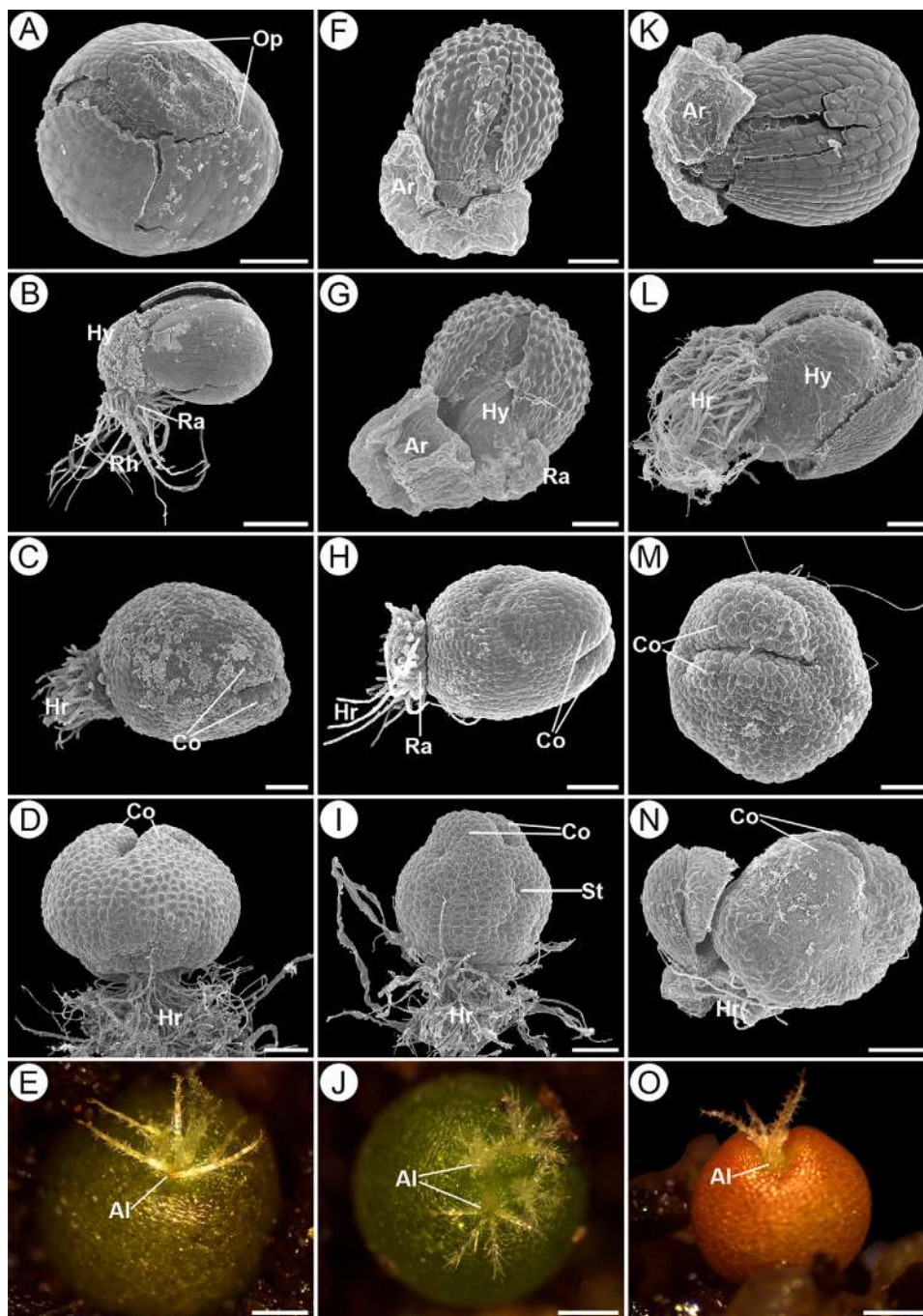


Fig. 8. Morphology of seedlings of the genus *Strombocactus*. A–E, *S. correidorae*; F–J, *S. disciformis* ssp. *disciformis*, and K–O, *S. disciformis* ssp. *esperanzae*. (A, F, K) Seeds during germination, slots originate around the hilum-micropylar region and throughout the antiraphe zone; germination is by an operculum. (B, G, L) The radicle emerges pushing the operculum and aril in *S. disciformis* ssp. *disciformis* and *S. disciformis* ssp. *esperanzae*, and only the operculum in *S. correidorae*. The seed coat fractures creating two valves, by hypocotyl growth. The radicle is short, has hairs and it curves upon leaving the seed coat. (C, H, M) In the apical part of the seedlings the cotyledons are observed and long root hairs are seen in the radicle. (D, I, N) The seedlings are globose, the hypocotyl continues to grow radially and some stomata are seen as depressions in the epidermis; the root has long root hairs; at this time some seedlings have remnants of seed coat and aril. (E, J, O) In the apical region of young plants are observed very small and flattened podaria with their areoles. Al, areole; Ar, aril; Co, cotyledon; Hy, hypocotyl; Op, operculum; Ra, radicle; Rh, root hairs; St, stoma. Scale bars = 100 μ m (A, C, F–H, K–M), 200 μ m (B, D, I, N), 500 μ m (E, J, O).

(Sánchez-Salas et al., 2012), *Espositoa*, *Frailea*, *Gymnocalycium* and *Matucana* have flotation mechanisms, mainly a broad and deep hilum, small and light embryos, thin testa and naviform shape, that allow them to be transported by runoff caused by heavy rains (Bregman, 1988). In the particular case of *Selenicereus wittii*, seeds have an air chamber that allows them to float (Barthlott et al., 1997). The presence of the aerenchyma in the aril of *S. disciformis* supports its role as a flotation structure; however, our data on seed flotation did not show differences between arillate and non arillate seeds. This may be partially explained by the presence of air spaces in the lumen of sclerenchymatic testa cells in both *S. correidorae* as in *S. disciformis*. Moreover, observed differences in testa microsculpturing could also contribute to seed floatability, since surface structure is known to impact on hydrophobicity (wettability), keeping/trapping air bubbles under water, water movement under tension and reducing drag in moving objects (Barthlott and

Hunt, 2000; Koch and Barthlott, 2009). This could have had an impact on seed resurfacing upon submergence, in which the more convex cell shapes, as those observed in *S. disciformis*, together with the presence of the aril, may be more effective in trapping air in the cavities between cells, thereby reducing wettability, contributing to the observed overall lower resurfacing time of the seeds. This could have a significant impact on seed dispersal by allowing seeds to remain afloat when subjected to water currents and turbulence on a small scale.

Dispersion is essential, it is the means by which the populations of a certain species can exchange individuals or colonize empty sites (Cain et al., 2000) and thus have a greater opportunity to increase genetic variation among populations. The species that have a wide distribution and an “effective” dispersal system by mammals and/or birds such as *Hylocereus* and *Stenocereus*, tend to show striking and fleshy fruits. Whereas genera that have dry, small, unattractive fruits such as

Ariocarpus, *Aztekium* and *Turbincarpus* usually have a reduced distribution (Hernández and Gómez-Hinostroza, 2011), which may also be the case of *Strombocactus*. Therefore, alternate dispersal strategies are occurring which must be understood in order to further conservation efforts.

4.4. Seed production

Seed production is an important indicator that allows us to recognize the potential for reproductive success in a given species. All three taxa produce a high number of ovules, ranging between 933 and 1611, which were significantly higher in *S. corregidorae* than in *S. disciformis* subspecies. However, when these values are compared with seeds per fruit, this tendency is reversed, with *S. disciformis* ssp. *disciformis* presenting the highest estimated seed efficiency, followed by *S. disciformis* ssp. *esperanzae*, and lastly *S. corregidorae*; in the latter, nearly 50% of the ovules did not form seeds. There are many potential causes for this discrepancy; low seed efficiency may result from ovule abortion (unknown causes) or inadequate pollination, from low number of pollen grains reaching the stigma to problems in pollen germination and pollen tube growth. However, post-fertilization barriers may also be involved, resulting from embryo abortion caused by the expression of homozygous lethal genes as a product of inbreeding, which is common in small, isolated populations (Mandujano et al., 1996). If the latter were the case, embryo abortion must occur at the earliest stages since malformed seeds did not surpass 6% in any of the taxa. External factors such as the attack by herbivores and pathogens may also reduce seed efficiency (López-Upton and Donahue, 1995), however damaged seeds or fruits were not observed in the studied populations. Field observations showed that in *S. disciformis* ssp. *disciformis* flowers were visited by many pollinators, mainly bees (data not shown), whereas the *S. corregidorae* studied populations were poorly visited (personal observation). Because *S. disciformis* ssp. *esperanzae* was grown under greenhouse conditions hand pollinations were performed, however efficiency did not differ from *S. disciformis* ssp. *disciformis*. We consider that the main cause behind low seed efficiency could be the result of inefficient pollination; however further field studies must be undertaken, especially in *S. corregidorae*.

4.5. Seed germination

In the studied taxa, seeds germinate by an operculum, as reported for the subfamilies Cactoideae and Pereskioideae (Bregman and Bouman, 1983). According to the different germination variants proposed, *Strombocactus* would be included either as the variants 3 (*Cereus*) and 4 (*Notocactus*), or a combination of both, since there is an operculum with one or more rows of testa cells (variant 3) or none (variant 4).

In *Strombocactus*, germination begins within the first two days of imbibition, thus it is feasible to assume that this process depends exclusively on reaching appropriate moisture conditions (Rojas-Aréchiga and Vázquez-Yanes, 2000) and that no inhibitory substances are present that hinder the process. In the three studied taxa, over 90% of the seeds germinated within the first five days, which contrasts with previous reports by Álvarez et al. (2004) who mention low germinability in *S. disciformis*, ranging from 25–82%, and which took 12 days to be completed. These authors applied a pre-germinative disinfection treatment which may have affected seed viability, since over exposure (time and concentration) to commercial bleach and other disinfectants are known to damage embryonic tissues and affect germinability (Álvarez-Pardo et al., 2006; Billard et al., 2014), although we cannot rule out the influence of other unidentified factors that may have impacted on seed viability (seed manipulation and storage, maternal effect, etc.). This shows that *Strombocactus* seeds do not exhibit structural or physiological dormancy.

The presence of the aril did not have an effect on germinability,

unlike in the subfamily Opuntioideae where the aril is sclerified and impermeable to water and its removal is necessary to facilitate germination (Bregman and Bouman, 1983); furthermore, this structure did not have the role of a hydrophilous layer as in *Notocactaceae* (Bregman and Graven, 1997), and its removal did not have a deleterious effect on germination. This supports the hypothesis that in *Strombocactus* the aril has a different role, most likely associated to seed dispersal by water. In this study we find that neither seed nor seedling development is compromised and if proper pollination occurs high seed numbers and germinability can be obtained, suggesting there are other post-germinative factors that affect seedling establishment and survival (Álvarez et al., 2004), thereby influencing low number of individuals within populations, which must be considered in future field studies.

5. Conclusions

As part of an ongoing study into the reproductive biology in the genus *Strombocactus*, endangered cacti endemic to Mexico, we provide insight into the morpho-anatomy associated with seed and early seedling development. We show that the seed appendage present in *S. disciformis* ssp. *disciformis* and in *S. disciformis* ssp. *esperanzae* is an aril that originates from the distal part of the funiculus and is aerenchymatous. The presence of this appendage exclusively in both *S. disciformis* subspecies is a fundamental character that makes it especially useful to distinguish this species from *S. corregidorae*. Although this structure might be implicated in seed dispersal by ants, it could also be associated with water dispersal, supported by the presence of lumen spaces, which may provide floatability and promote resurfacing of submerged seeds. Testa microsculpturing also differed among the studied taxa, providing a new character for taxonomy, as well as insight into other structural features potentially involved in dispersal. Seeds in these taxa germinated vigorously and do not appear to have any special requirements, which shows that given the appropriate management they may be suitable candidates for *in situ* and *ex situ* propagation, restoration and conservation programs. Ontogenetic studies provide a better understanding of plant reproductive biology, and are a necessary framework to comprehend the evolution of homologous structures, as well as the role of morphology in ecological interactions.

Acknowledgements

This work was supported by the Program DGAPA-PAPIIT (IN-223814) and CONACyT (101771) to SVS. This paper constitutes a partial fulfillment of the Graduate Program in Biological Sciences of the National Autonomous University of México (UNAM) for A. Camacho-Velázquez, who acknowledges scholarship and financial support provided by the National Council of Science and Technology (CONACyT), and UNAM. We are grateful to Silvia Espinosa Matías and Ana Isabel Bieler for technical support on SEM and Light microscopy pictures; Patricia Olguín Santos for her support during germination experiments; Leticia Bonilla for statistical analysis. We are grateful to Rocío Hernández, Alberto Carrasco, Nadia Castro, César González, Ikal Paredes, Sandra Rios and Fernanda Rodríguez for their help in field work. To Jerónimo Reyes (JB-IB-UNAM) and Magdalena Hernández M. (JBR Cadereyta) for their help with biological collections. The authors also thank anonymous reviewers for their valuable comments on the manuscript.

Appendix A. Supplementary data

Supplementary data associated with this article can be found, in the online version, at <https://doi.org/10.1016/j.flora.2018.03.006>.

References

Álvarez, R., Godínez-Álvarez, H., Guzmán, U., Dávila, P., 2004. Aspectos ecológicos de

- dos cactáceas mexicanas amenazadas: implicaciones para su conservación. *Bol. Soc. Bot. Méx.* 75, 7–16.
- Alencar, N.L., Innecco, R., Gomes-Filho, E., Gallão, M.I., Alvarez-Pizarro, J.C., Prisco, J.T., Oliveira, A.B.D., 2012. Seed reserve composition and mobilization during germination and early seedling establishment of *Cereus jamacaru* DC ssp. *jamacaru* (Cactaceae). *An. Acad. Bras. Cienc.* 84, 823–832.
- Almeida, O.J., Paoli, A.A., Souza, L.A., Cota-Sánchez, J.H., 2013. Seedling morphology and development in the epiphytic cactus *Epiphyllum phyllanthus* (L.) Haw. (Cactaceae: hylocereeae). *J. Torrey Bot. Soc.* 140, 196–214.
- Alvarez-Pardo, V.M., Ferreira, A.G., Nunes, V.F., 2006. Seed disinfection methods for *in vitro* cultivation of epiphyte orchids from Southern Brazil. *Hortic. Bras.* 24, 217–220.
- Anderson, E.F., 2001. The Cactus Family. Timber Press Portland, Oregon.
- Arias, S., Flores, J., 2013. La familia Cactaceae. In: Márquez-Guzmán, J., Collazo-Ortega, M., Martínez-Gordillo, M., Orozco-Segovia, A., Vázquez-Santana, S. (Eds.), *Biología de Angiospermas*. Prensas de la Facultad de Ciencias. Universidad Nacional Autónoma de México, Mexico City, pp. 492–504.
- Arias, S., Sánchez-Martínez, E., 2010. Una especie nueva de *Strombocactus* (Cactaceae) del río Moctezuma Querétaro, México. *Rev. Méx. Biodiv.* 8, 619–624.
- Arias, S., Terrazas, T., 2004. Seed morphology and variation in the genus *Pachycereus* (Cactaceae). *J. Plant Res.* 117, 277–289.
- Arreola-Nava, H.J., Terrazas, T., 2003. Especies de *Stenocereus* con aréolas morenas: clave y descripciones. *Acta Bot. Méx.* 64, 1–18.
- Arroyo-Cosultchi, G., Terrazas, T., Arias, S., Arreola-Nava, H.J., 2006. The systematic significance of seed morphology in *Stenocereus* (Cactaceae). *Taxon* 55, 983–992.
- Arroyo-Cosultchi, G., Terrazas, T., Arias, S., López-Mata, L., 2007. Morfología de la semilla en *Neobuxbaumia* (Cactaceae). *Bol. Soc. Bot. Méx.* 81, 17–25.
- Barthlott, W., Hunt, D., 2000. Seed diversity in the Cactaceae subfamily Cactoideae. *Succ. Plant Res.* 5, 1–173.
- Barthlott, W., Porembski, S., 1996. Ecology and morphology of *Blossfeldia liliputana* (Cactaceae): a poikilohydric and almost astomate succulent. *Bot. Acta* 109, 161–166.
- Barthlott, W., Porembski, S., Kluge, M., Hopke, J., Schmidt, L., 1997. *Selenicereus wittii* (Cactaceae): an epiphyte adapted to Amazonian Igapó inundation forests. *Plant Syst. Evol.* 206, 175–185.
- Behnke, H., Barthlott, W., 1983. New evidence from the ultrastructural and micro-morphological fields in angiosperm classification. *Nor. J. Bot.* 3, 43–66.
- Bewley, J.D., Black, M., 1994. *Seeds. Physiology of Development and Germination*, second ed. Plenum Press, New York.
- Bewley, J.D., Bradford, K.J., Hilhorst, H.W.M., Nonogaki, H., 2013. *Seeds. Physiology of Development, Germination and Dormancy*, third ed. Springer-Verlag, New York.
- Billard, C.E., Dalzotto, C.A., Lallana, V.H., 2014. Desinfección y siembra asimbiótica de semillas de dos especies y una variedad de orquídeas del género *Oncidium*. *Polibotánica* 38, 145–157.
- Bramlett, D.L., Belcher Jr., E.W., DeBarr, G.L., Hertel, G.D., Karrfalt, R.P., Lantz, C.W., Miller, T., Ware, K.D., Yates III, H.D., 1977. *Cone Analysis of Southern Pines – A Guidebook*. Gen. Tech. Rep. USDA Forest Service, Asheville, N.C SE-13.
- Bravo-Hollis, H., Sánchez-Mejorada, H., 1991. *Las Cactáceas de México*, second vol Universidad Nacional Autónoma de México, Mexico City.
- Bravo-Hollis, H., 1978. *Las Cactáceas de México*, first vol Universidad Nacional Autónoma de México, Mexico City.
- Bregman, R., Bouman, F., 1983. Seed germination in Cactaceae. *Bot. J. Linn. Soc.* 86, 357–374.
- Bregman, R., Graven, P., 1997. Subcuticular secretion by cactus seeds improves germination by means of rapid uptake and distribution of water. *Ann. Bot.* 80, 525–531.
- Bregman, R., 1988. Forms of seed dispersal in Cactaceae. *Acta Bot. Neerl.* 37, 395–402.
- Britton, N.L., Rose, J.N., 1922. The Cactaceae, third vol The Carnegie Institution of Washington, Washington D.C.
- Buxbaum, F., 1950. *Morphology of Cacti. Section 1. Roots and Stems*. Abbey Garden Press, Pasadena, California.
- Buxbaum, F., 1955. *Morphology of Cacti Section III. Fruits and Seeds*. Abbey Garden Press, Pasadena, California.
- CITES, 2010. Convención sobre el comercio internacional de especies amenazadas de fauna y flora silvestres. UNEP Apéndices I, II y III.
- Cain, M.L., Milligan, B.G., Strand, A.E., 2000. Long-distance seed dispersal in plant populations. *Am. J. Bot.* 87, 1217–1227.
- Corner, E.J.H., 1976. The Seeds of Dicotyledons, first vol Cambridge University Press, Cambridge.
- De Candolle, A.P., 1828. *Revue de la famille des cactées*. *Memoir. Mus. Hist. Nat.* 17, 1–119.
- Eggl, U., Giorgetta, M., 2015. Flowering phenology and observations on the pollination biology of South American Cacti. 1. *Denmoza rhodacantha*. *Haseltonia* 20, 3–12.
- Engelman, M.E., 1960. Ovule and seed development in certain cacti. *Am. J. Bot.* 47, 460–467.
- Flores, E.M., Engelman, E.M., 1976. Apuntes sobre anatomía y morfología de las semillas de cactáceas: I. Desarrollo y estructura. *Rev. Biol. Trop.* 24, 199–227.
- Flores, E.M., 1976. Apuntes sobre anatomía y morfología de las semillas de cactáceas: II. Caracteres de valor taxonómico. *Rev. Biol. Trop.* 24, 299–321.
- Ganong, W.F., 1898. Contributions to a knowledge of the morphology and ecology of the Cactaceae: II. The comparative morphology of the embryos and seedlings. *Ann. Bot.* 12, 423–474.
- Gibson, A.C., Horak, K.E., 1978. Systematic anatomy and phylogeny of Mexican columnar cacti. *Ann. Missouri Bot. Gard.* 65, 999–1057.
- Glass, C., Arias, S., 1996. A new subspecies of *Strombocactus* from the Sierra Gorda in the northeastern portion of the state of Guanajuato, México. *Brit. Cact. Succul. J.* 14, 198–204.
- Hernández, H.M., Gómez-Hinostrosa, C., 2011. Mapping the cacti of Mexico. *Succ. Plant Res.* 7, 1–128.
- Hernández, H.M., Gómez-Hinostrosa, C., Goettsch, B., 2004. Checklist of Chihuahuan Desert Cactaceae. *Harv. Pap. Bot.* 9, 51–68.
- Hernández-Oria, J., Chávez-Martínez, R., Sánchez-Martínez, E., 2007. Factores de riesgo en las Cactaceae amenazadas de una región semiárida en el sur del desierto chihuahuense México. *Interciencia* 32, 628–734.
- Herrera-Flores, T.S., Cárdenas-Soriano, E., Ortíz-Cereceres, J., Acosta-Gallegos, J.A., Mendoza-Castillo, Ma.D.C., 2005. Anatomía de la vaina de tres especies del género *Phaseolus*. *Agrociencia* 39, 595–602.
- Hughes, L., Westoby, M., 1992. Effect of diaspore characteristics on removal of seeds adapted for dispersal by ants. *Ecology* 73, 1300–1312.
- Jiménez, S.C.L., 2011. Las cactáceas mexicanas y los riesgos que enfrentan. *Rev. Digit. Univ. UNAM* 12, 1–23.
- Johri, B.M., Ambergaskar, K.B., Srivastava, P.S., 1992. *Comparative Embryology of Angiosperms*, first vol Springer-Verlag, Berlin.
- Karaki, T., Watanabe, Y., Kondo, T., Koike, T., 2012. Strophiole of seeds of the black locust acts as a water gap. *Plant Spec. Biol.* 27, 226–232.
- Koch, K., Barthlott, W., 2009. Superhydrophobic and superhydrophilic plant surfaces: an inspiration for biomimetic materials. *Phil. Trans. R. Soc. A* 367, 1487–1509.
- López-Upton, J., Donahue, J.K., 1995. Seed production of *Pinus greggii* Engelm in natural stands in Mexico. *Tree Planters' Notes* 46, 86–92.
- Lüthy, J.M., 2001. The Cacti of CITES. Appendix I. CITES, Berna.
- Leal, I.R., Wirth, R., Tabarelli, M., 2007. Seed dispersal by ants in the semi-arid Caatinga of north-east Brazil. *Ann. Bot.* 99, 885–894.
- Linhart, Y., 2014. Plant pollination and dispersal. In: Monson, R.K. (Ed.), *Ecology and Environment*. Springer, New York, pp. 89–117.
- Márquez-Guzmán, J., 2013. Semilla. In: Márquez-Guzmán, J., Collazo-Ortega, M., Martínez-Gordillo, M., Orozco-Segovia, A., Vázquez-Santana, S. (Eds.), *Biología de Angiospermas*. Prensas de la Facultad de Ciencias. Universidad Nacional Autónoma de México, Mexico City, pp. 137–149.
- Machado, M.C., 2007. Fascinating *Frailea*, part I: general impressions. *CactusWorld* 25, 5–11.
- Mandujano, M.D.C., Montaña, C., Eguarte, L.E., 1996. Reproductive ecology and in-breeding depression in *Opuntia rastrera* (Cactaceae) in the Chihuahuan Desert: why are sexually derived recruitments so rare? *Am. J. Bot.* 83, 63–70.
- Mandujano, M.D.C., Carrillo-Ángeles, I., Martínez-Peralta, C., Golubov, J., 2010. Reproductive biology of Cactaceae. In: Ramawat, K.G. (Ed.), *Desert Plants*. Springer-Verlag, Berlin, pp. 197–230.
- Mendizábal-Hernández, L.D.C., Alba-Landa, J., Márquez-Ramírez, J., Ramírez-García, E.O., Cruz-Jiménez, H., 2010. Potencial de producción y eficiencia de semillas de dos cosechas de *Pinus teocote* Schl. et Cham. *Flor. Veracruz* 12, 21–26.
- Noguera, E., Jáuregui, D., 2006. Micromorfología y estructura de la cubierta seminal de cuatro especies de Loasaceae Juss. presentes en Venezuela. *Rodriguésia* 57, 1–9.
- Ritter, F., 1981. *Kakteen in Süd-Amerika*, band IV. F.Ritter, Selbstverlag, Selbstverlag.
- Ritz, C.M., Reiker, J., Charles, G., Hoxey, P., Hunt, D., Lowry, M., Stuppy, W., Taylor, N., 2012. Molecular phylogeny and character evolution in terete-stemmed Andean opuntias (Cactaceae: Opuntioideae). *Mol. Phylogenet. Evol.* 65, 668–681.
- Rojas-Aréchiga, M., Vázquez-Yanes, C., 2000. Cactus seed germination: a review. *J. Arid. Environ.* 44, 85–104.
- Rojas-Aréchiga, M., 2009. ¿Qué es el elaiosoma? *Bol. Soc. Latin. Carib. Cact. Suc.* 6, 10–12.
- Rojas-Aréchiga, M., 2012. La importancia de la semilla en Cactaceae para estudios taxonómicos y filogenéticos. *Bol. Soc. Latin. Carib. Cact. Suc.* 9, 15–18.
- Sánchez-Martínez, E., Chávez-Martínez, R.J., Hernández-Oria, J.G., Hernández-Martínez, M.M., 2006. Especies de Cactáceas Prioritarias Para la Conservación en La Zona Árida Queretano-Hidalguense. Consejo de Ciencia y Tecnología del Estado de Querétaro, Querétaro.
- Sánchez-Salas, J., Jurado, E., Flores, J., Estrada-Castillón, E., Muro-Pérez, G., 2012. Desert species adapted for dispersal and germination during floods: experimental evidence in two *Astrophytum* species (Cactaceae). *Flora* 207, 707–711.
- SEMARNAT, 2010. Norma Oficial Mexicana NOM-059-ECOL-2010. Protección Ambiental-Especies Nativas de México de Flora y Fauna Silvestres. Categorías de Riesgo y Especificaciones para su Inclusión, Exclusión o Cambio. Diario Oficial. 2ª Sección, Mexico City.
- Scheinvar, L., 2004. *Flora Cactológica del Estado de Querétaro: Diversidad y Riqueza*. Fondo de Cultura Económica, Mexico City.
- Silveira, S.R., Dornelas, M.C., Martinelli, A.P., 2016. Perspectives for a framework to understand aril initiation and development. *Front. Plant Sci.* 7, 1919.
- Valiente-Banuet, A., Ezcurra, E., 1991. Shade as a cause of the association between the cactus *Neobuxbaumia tetetzo* and the nurse plant *Mimosa luisana* in the Tehuacan Valley Mexico. *J. Ecol.* 79, 961–971.
- Van Der Pijl, L., 1972. *Principles of Dispersal in Higher Plants*, second ed. Springer-Verlag, New York.
- Zhang, X., Zhang, Z., Stützel, T., 2011. Aril development in Celastraceae. *Feddes Reperit* 122, 445–455.
- Zhang, X., Zhang, Z., Stützel, T., 2014. Ontogeny of the ovule and seed wing in *Catha edulis* (Vahl) Endl. (Celastraceae). *Flora* 209, 179–184.

DISCUSIÓN GENERAL

Los resultados asentados en los tres capítulos anteriores proporcionan información sobre diversos aspectos de la biología reproductiva de *Strombocactus disciformis* ssp. *disciformis*, *S. disciformis* ssp. *esperanzae* y *S. corregidora*. Lo cual es de gran importancia para identificar factores que podrían limitar la formación de frutos y semillas, a partir de los cuales se integran nuevos individuos a sus poblaciones.

Biología floral y sistemas de apareamiento

Las flores de *Strombocactus* son actinomorfas, hermafroditas con dicogamia y hercogamia. La longevidad floral en este género varía de 1–5 días ó de 1–7 días, dependiendo del taxón, este tiempo está relacionado con la falta de polinización cruzada, si las flores reciben polen de otro individuo ya no abren; en *Mammillaria grahamii* sucede algo parecido, las flores abren un segundo día si la polinización no fue adecuada en el primer día (Bowers, 2002). También, se ha propuesto que la longevidad floral está influenciada por las condiciones ambientales (Martínez, 2007; Mandujano *et al.*, 2010; Martínez-Peralta y Mandujano, 2012). La dicogamia en las flores de *Strombocactus* es de tipo protándrica, debido a que la liberación del polen ocurre aproximadamente dos horas y media antes de que el estigma sea receptivo; mientras que la hercogamia que presentan es de aproximación, es decir, el estigma se encuentra por arriba de las anteras. Ambos mecanismos actúan como barreras para evitar o disminuir la autopolinización, al reducir la interferencia entre las funciones masculinas y femeninas (Lloyd y Webb, 1986; Webb y Lloyd, 1986). Esta disminución de la interferencia entre las funciones sexuales en las flores de *Strombocactus* ocurre al inicio del ciclo floral, debido a que la separación espacial entre el estigma y anteras en estas flores disminuye hasta desaparecer, lo que se conoce como hercogamia dinámica (Nassar y Ramírez, 2004), ya que los filamentos de los estambres siguen elongándose hasta alcanzar el estigma. Asimismo, la separación

temporal que existe entre las dos funciones sexuales se sobrelapan en algún momento del día, por lo que presentan protandria incompleta (Lloyd y Webb, 1986; Çetinbaş y Ünal, 2014). La presencia de hercogamia dinámica en una especie autocompatible, que asegura la producción de semillas cuando se agotaron las posibilidades de entrecruzarse, fue catalogada por Faegri y Van Der Pijl (1979) "a prueba de fallas", lo cual sucede en *S. disciformis* ssp. *esperanzae*, debido a que en el tratamiento de autopolinización natural hay formación de frutos y semillas, razón por la cual presenta autopolinización autónoma.

Con base en el *Índice de entrecruza* propuesto por Cruden (1977), los tres taxones de *Strombocactus* presentan un sistema de apareamiento xenógamo, que requiere de vectores para el transporte de polen entre las flores de diferentes individuos; aunque el resultado obtenido por medio del cociente *P/O* indica que el sistema de apareamiento es por autogamia facultativa, en el cual se producen semillas principalmente por autopolinización, pero también por polinización cruzada (Cruden, 1977). Es importante señalar, que el *P/O* en los tres taxones estudiados es bajo debido al elevado número de óvulos que tienen.

Sistemas de cruce y de incompatibilidad y su implicación en la vulnerabilidad de los taxones

Los resultados de los tratamientos de polinización indican que la formación de semillas ocurre únicamente por la vía sexual en los tres taxones de *Strombocactus*, ya que los tratamientos de apomixis no formaron frutos. Con base en los experimentos de polinización y del cálculo de la tasa de entrecruza, el sistema de cruce que presentan *S. disciformis* ssp. *disciformis* y *S. corregidora* es de entrecruza estricto, ya que sólo se desarrollaron frutos y semillas en los tratamientos control y entrecruza manual; mientras que *S. disciformis* ssp. *esperanzae* presenta un sistema de cruce mixto, debido a que se obtuvieron frutos y semillas en los tratamientos control, entrecruza manual, autocruza natural y manual. La no formación o el bajo

número de frutos y semillas producto de los tratamientos de autocruza manual y natural, puede sugerir la presencia de un sistema de incompatibilidad total o parcial, que evita la formación de semillas por autofecundación (de Nettancourt, 1997; Eaves *et al.*, 2014); o por los efectos de la depresión endogámica, que se pueden presentar a nivel del desarrollo del embrión, germinación o supervivencia de la plántula (Mandujano *et al.*, 1996).

La existencia de un sistema de incompatibilidad en los miembros de una población evita la autofecundación y promueve la entrecruza genética que aumenta la heterocigosis a nivel poblacional (de Nettancourt, 1997; Porcher y Lande, 2005; Eaves *et al.*, 2014). Los resultados del crecimiento de tubos polínicos indican que *S. disciformis* ssp. *disciformis* y *S. corregidora* tienen un sistema de incompatibilidad ovárico (Sedgley, 1994; Gibbs, 2014), ya que en la autocruza la inhibición del crecimiento del tubo polínico se da a nivel del ovario, sin penetrar los óvulos, por lo que no hay formación de frutos, un evento que llama la atención para Cactaceae. Ambos taxones necesitan estrictamente polinización cruzada para dejar descendencia. En Cactaceae, la incompatibilidad ovárica únicamente se había reportado en *Hylocereus lemairei* (Hook.) Britton & Rose (Lichtenzveig *et al.*, 2000), mientras, que en algunas especies de Cactoideae, el rechazo del tubo polínico ocurre en diferentes regiones del estilo, lo que indica incompatibilidad gametofítica (Boyle, 1997, 2003; Boyle e Idnurm, 2001; Martínez-Peralta *et al.*, 2014). La presencia de dicogamia y hercogamia junto con un sistema de incompatibilidad tanto en *S. disciformis* ssp. *disciformis* y *S. corregidora*, sugiere que los dos primeros mecanismos pueden incrementar la adecuación evitando la interferencia sexual (Lloyd y Webb, 1986; Webb y Lloyd, 1986; Richards, 1997; Barrett, 2002).

La presencia de un sistema de incompatibilidad en *S. corregidora* es determinante para su permanencia; ya que, debido al bajo número de individuos en su población, se limita el número posible de cruza compatibles, lo que reduce la probabilidad de formar semillas y adicionar nuevos individuos a la población, y por lo tanto podría disminuir aún más el tamaño

efectivo de la población (Busch y Schoen, 2008), aumentando el riesgo de desaparecer. En el caso de *S. disciformis* ssp. *disciformis*, al presentar un mayor número de individuos en su población, la probabilidad de encontrar una pareja y dejar descendencia es mucho mayor. Sin embargo, ambos taxones requieren de una transferencia eficiente de polen entre flores de diferentes individuos para la formación de semillas, por lo que la atracción de polinizadores puede determinar el éxito reproductivo de las plantas (Aguilar *et al.*, 2006; Vervoort *et al.*, 2011). Además, en poblaciones pequeñas como la de *S. corregidora* el despliegue floral puede verse limitado, lo cual afecta la abundancia, composición y/o conducta de forrajeo de los polinizadores (Wilcock y Neiland, 2002), lo que podría provocar una limitación de polen, poniendo en riesgo la producción de semillas y el reclutamiento de nuevos individuos (Goodwillie *et al.*, 2005; Wilcock y Neiland, 2002). Las diferencias significativas en la producción de semillas entre los tratamientos control y entrecruza manual de cada uno de los taxones de *Strombocactus*, sugieren que puede haber una limitación de polinizadores en sus poblaciones; sin embargo, hace falta realizar tratamientos de polen suplementario para corroborarlo.

Con respecto a *S. disciformis* ssp. *esperanzae*, los resultados del comportamiento de tubos polínicos señalan que es autocompatible. Por lo tanto, puede conservar las ventajas de una alta diversidad genética a través de la entrecruza o asegurar su sobrevivencia vía autocruza (Barrett, 2014) al no depender completamente de sus polinizadores. Debido a que presenta autopolinización autónoma asociada a una hercogamia dinámica que asegura la producción de semillas, ya que le permite evitar la interferencia sexual al inicio del ciclo floral y favorece la autofecundación hacia el final de éste, aún cuando las posibilidades de entrecruzarse se agotaron. Con relación a su tasa de entrecruza a nivel de fruto ($t_e= 0.5$), este taxón tiene un éxito similar en la producción de frutos tanto por entrecruza como por autocruza. Sin embargo, a nivel de semilla la $t_e= 0.59$ señala que los frutos por entrecruza forman un

mayor número de semillas (706 ± 27.13) que los frutos por autocruza (482 ± 28.78), con una diferencia significativa, por lo que *S. disciformis* ssp. *esperanzae* presenta un sistema mixto, con una ligera predilección por la entrecruza a nivel de semilla (Barrett y Eckert, 1990; Mandujano *et al.*, 2010).

La menor producción de semillas en el tratamiento de autocruza manual de *S. disciformis* ssp. *esperanzae*, se puede deber al aborto de óvulos o al de embriones, causado por la expresión de genes letales homocigotos producto de la endogamia, que es común en poblaciones pequeñas y aisladas (Charlesworth y Charlesworth 1987; Mandujano *et al.*, 1996). En el caso particular del tratamiento de autocruza natural en este taxón, además de estas causas, también es posible que pequeñas cantidades de polen propio depositados en el estigma, no estimulen la formación de frutos o resulte en una baja cantidad de semillas (Wilcock y Neiland, 2002). Se determinó que *S. disciformis* ssp. *esperanzae* presenta niveles bajos de depresión por endogamia ($\delta = 0.35$, valor acumulado) comparado con otras cactáceas que presentan un sistema de cruce mixto y un valor acumulado de $\delta > 0.5$ (Mandujano *et al.*, 1996, 2013; Plasencia, 2003; Martínez, 2007). Una baja depresión por endogamia sugiere una presión de selección que puede favorecer la autofecundación (Charlesworth y Charlesworth, 1990; Husband y Schemske, 1996; Barrett; 2014), lo cual indica que la población se puede ver beneficiada al producir semillas por autocruza. Sin embargo, no se analizaron otras etapas del ciclo de vida de *S. disciformis* ssp. *esperanzae*, como la germinación y establecimiento de plántulas, para determinar si hay una reducción de la adecuación de la progenie endogámica a estos niveles, como se ha visto en *Opuntia rastrera* F.A.C. Weber (Mandujano *et al.*, 1996).

La producción de semillas es un indicador importante que permite reconocer el potencial de éxito reproductivo de una especie. Los resultados de la eficiencia en la producción de semillas, indica que en ambas subespecies de *S. disciformis* aproximadamente el 70% de los óvulos se desarrollan en semillas de forma silvestre, mientras que sólo el 50% en *S.*

corregidora. Hay diversos factores potenciales que limitan la formación de semillas, como puede ser el aborto de los óvulos o una polinización inadecuada, debido a una limitación de polinizadores, a una baja cantidad de polen conoespecífico que llegue al estigma, al bloqueo del estigma con polen heteroespecífico (Wilcock y Neiland, 2002), hasta la presencia de un sistema de incompatibilidad (particularmente en *S. disciformis* ssp. *disciformis* y *S. corregidora*); así como, los efectos de la depresión endogámica (especialmente en *S. disciformis* ssp. *esperanzae*) a nivel del desarrollo del embrión (Mandujano *et al.*, 1996).

Debido a que los tres taxones de *Strombocactus* se reproducen únicamente por la vía sexual, éste es el único proceso para reclutar nuevos individuos. Una disminución crítica en sus poblaciones debido a diversos factores extrínsecos como deslaves, destrucción y/o fragmentación de sus hábitats, la colecta ilegal de plantas y semillas para su venta (Lüthy, 2001; Arias y Sánchez-Martínez, 2010; Olmos-Lau y Mandujano, 2016) y a las características propias de cada taxón (la presencia de un sistema de incompatibilidad o depresión endogámica, lento crecimiento, bajo reclutamiento, y poblaciones pequeñas), ponen en riesgo su existencia. Por lo que es necesario también realizar estudios demográficos de cada taxón, que junto con la información generada sobre la biología reproductiva, permitiría generar programas concretos de propagación y conservación. Asimismo, para reevaluar el estatus de conservación específico de cada taxón en las diferentes listas nacionales (NOM-059-SEMARNAT) e internacionales (lista roja UICN y apéndices CITES). Únicamente se ha realizado un estudio demográfico de *S. disciformis* ssp. *disciformis* en Agua del Ángel, Querétaro (Olmos-Lau, 2016); donde se indica que uno de los factores importantes que limita el crecimiento de la población es el bajo reclutamiento de plántulas; asimismo, la venta ilegal de plantas y semillas vía internet y la presencia de ganado feral que causan severos daños a las plantas.

La alta producción de semillas a través de la polinización cruzada asistida en los tres taxones de *Strombocactus*, permitiría realizar estrategias de conservación *in situ*, donde los lugareños podrían reintroducir nuevos individuos y recibir un ingreso monetario a través de la venta legal de plantas, aumentando el número de individuos en sus poblaciones y disminuyendo el saqueo de ejemplares silvestres. Además, de la conservación *ex situ* en jardines botánicos, donde se preservarían ejemplares, así como su propagación y venta. El esfuerzo debe de ser mayor en *S. disciformis* ssp. *esperanzae* y *S. corregidora*, ya que estos taxones presentan pocas y reducidas poblaciones, además de un reclutamiento reducido.

Visitantes florales

Los caracteres florales que aumentan la atracción de visitantes generalmente están vinculados a una polinización eficiente (Vervoort *et al.*, 2011). En el caso de los atributos florales que presentan los taxones de *Strombocactus* son típicos de plantas melitófilas (Faegri y Van Der Pijl, 1979; Fenster *et al.*, 2004; Domínguez y Pérez, 2013). Sus flores tienen antesis diurna, colores brillantes (blanco, amarillo o magenta, dependiendo del taxón), de forma infundibuliforme, con tépalos como una superficie de aterrizaje; además del polen y néctar ofrecidos como recompensas. Este último se produce en un nectario floral, el cual se ubica por debajo de la inserción de los estambres más internos y llega hasta la parte superior del ovario, formando un nectario anular e hipantial. Las observaciones de los visitantes florales de *Strombocactus* no son suficientes para obtener la mejor interpretación acerca de los polinizadores efectivos, debido a que falta aumentar el tiempo de observaciones en cada taxón. Se requiere realizar tratamientos de exclusión de polinizadores y relacionar sus visitas con el éxito reproductivo de la planta. Con base en las observaciones preliminares realizadas y de acuerdo a la conducta y constantes visitas, los potenciales polinizadores en *S. disciformis* ssp.

disciformis son abejas solitarias (Megachilidae, Melittidae y *Lasioglossum* sp.), mientras que, los dípteros de la familia Tephritidae fueron visitantes florales ocasionales.

Varias de las flores de la población de *S. disciformis* ssp. *disciformis* presentaron algún grado de florivoría, ya sea únicamente por el consumo de granos de polen por escarabajos (Anobiidae, Curculionidae, Buprestidae, *Acmaeodera* sp. y *Lampetis* sp.), avispas (Vespidae) y hormigas (*Camponotus*); partes florales enteras (tépalos, gineceo y androceo) o incluso la flor completa por hormigas (*Atta* sp.) y ortópteros (Romaleidae). Lo que puede ocasionar una reducción en el éxito reproductivo de las plantas, debido al consumo de los órganos sexuales y/o al daño de estructuras llamativas para los polinizadores, reduciendo el número de visitas (McCall e Irwin, 2006; McCall, 2008; Cardel y Koptur, 2010). En un experimento de florivoría artificial realizado por Cárdenas-Ramos y Mandujano (2018) en *Ariocarpus retusus* Scheidw., eliminando el 50% del perianto, no hubo una reducción en la frecuencia de los polinizadores, argumentando que los visitantes no discriminan entre flores intactas y dañadas. En este mismo trabajo observaron que el 2% de los estigmas fueron parcial o totalmente consumidos por algunos coleópteros y lepidópteros, provocando una reducción en la formación de frutos debido a la muerte de las flores. Por lo que se puede concluir que el éxito reproductivo de las plantas se ve potencialmente más afectado cuando sus órganos sexuales son consumidos. Una floración sincrónica y masiva se ha sugerido que puede amortiguar los efectos negativos causados por la florivoría, provocando que los herbívoros se sacien sin dañar a todas las flores de la población, además de aumentar los recursos para los polinizadores (Janzen, 1976; Augspurger, 1981; Domínguez, 1990; Martínez-Peralta y Mandujano, 2011).

Dispersión de semillas

Los taxones de *Strombocactus* habitan lugares similares, sobre acantilados verticales y paredes muy inclinadas (Glass y Arias, 1996; Álvarez *et al.*, 2004; Arias y Sánchez-Martínez,

2010). Se distribuyen en grupos discretos, con pocos o un considerable número de individuos a nivel local. La dispersión de las diásporas es restringida, realizada por hormigas, agua o posiblemente por viento. Las semillas de las subespecies de *S. disciformis* presentan un arilo, el cual se ha sugerido que interviene en la dispersión por hormigas (Van Der Pijl, 1972; Bregman, 1988), lo cual no fue observado para *S. disciformis*, aunque no se descarta esta posibilidad. Lo que sí se corroboró fue la dispersión de frutos por hormigas *Atta* sp. Asimismo, el arilo puede funcionar como una estructura de flotación para la dispersión de las semillas por agua, debido a su constitución aerenquimatosa que puede funcionar como un mecanismo de flotación durante las lluvias o formación de corrientes por los acantilados. Esto se ha propuesto para semillas de los géneros *Astrophytum* (Sánchez-Salas *et al.*, 2012), *Espostoa*, *Frailea*, *Gymnocalycium*, *Matucana* (Bregman, 1988) y *Selenicereus* (Barthlott *et al.*, 1997), que presentan mecanismos de flotación, como cámaras de aire, un hilo amplio y profundo, embriones ligeros y pequeños, testa delgada y semillas naviformes, que les permite la dispersión por agua. Sin embargo, en el caso de *Strombocactus*, los resultados sobre la flotación de semillas no mostraron diferencias entre las semillas ariladas de las subespecies de *S. disciformis* y no ariladas de *S. corregidora*. Aunque las semillas de *S. corregidora* no tienen arilo, presentan espacios de aire en el lumen de las células esclerenquimáticas de la testa como la de los otros dos taxones, permitiéndoles flotar. Además, la microescultura de la testa también podría contribuir a la flotabilidad de la semilla, ya que se sabe que la estructura de la superficie afecta la hidrofobicidad (humectabilidad; Barthlott y Hunt, 2000; Koch y Barthlott, 2009). Esto podría tener un impacto significativo en la dispersión de las semillas al permitir que permanezcan a flote cuando se someten a corrientes de agua y turbulencias a pequeña escala, causadas por la lluvia, lo cual provoca que las semillas sean arrastradas por los acantilados y queden atrapadas en ranuras, germinen y las plántulas se establezcan en esos sitios. Dado que en esos sitios las plantas están expuestas también a corrientes fuertes

de aire se puede presentar el desprendimiento de frutos maduros y deshidratados. A pesar de ello la dispersión de las diásporas es restringida, por lo que las oportunidades de un intercambio genético interpoblacional y la colonización de nuevas áreas se ve reducido. Asimismo, es de esperarse que la entrecruza existente en los tres taxones promueva la heterocigosis y conserve la variabilidad genética dentro de cada población.

CONCLUSIONES

Los tres taxones de *Strombocactus* poseen atributos florales que favorecen la entrecruza, como flores grandes con dicogamia (protandria), hercogamia, néctar y alta producción de polen. Con base en estas características florales presentan un sistema de apareamiento xenógamo. Sin embargo, *S. disciformis* ssp. *esperanzae* es autocompatible y tiene un sistema de cruza mixto; pero muestra baja depresión por endogamia a nivel de frutos y semillas. Mientras, que *S. disciformis* ssp. *disciformis* y *S. corregidora* tienen un sistema de incompatibilidad ovárico, por lo que dependen de polinizadores para que se lleve con éxito la polinización cruzada.

Los atributos florales como antesis diurna, colores brillantes, forma infundibuliforme, polen y néctar ofrecidos como recompensas en *Strombocactus*, son distintivos de plantas melitófilas. En *S. disciformis* ssp. *disciformis*, las observaciones preliminares señalan que los potenciales polinizadores son abejas solitarias (Megachilidae, Melittidae y *Lasioglossum* sp.), de acuerdo con su conducta y sus constantes visitas. Sin embargo, las observaciones no son suficientes para obtener la mejor interpretación acerca de los polinizadores efectivos.

La dispersión de las diásporas en *Strombocactus* es restringida; los frutos secos son transportados por hormigas *Atta* sp. o por corrientes de aire que provocan su desprendimiento. Las semillas de las subespecies *S. disciformis* presentan un arilo aerenquimático que puede funcionar como una estructura de flotación, que les permite a las semillas ser transportadas por corrientes de agua cuando llueve. Las semillas de *S. corregidora* también flotan, aunque no presentan arilo, tienen espacios de aire en el lumen de las células de la cubierta seminal.

El reclutamiento de nuevos individuos en *Strombocactus* únicamente se da por la vía sexual. Por lo que los factores particulares de cada taxón, como la presencia de depresión endogámica o un sistema de incompatibilidad, bajo reclutamiento y población reducida; así como la destrucción y/o fragmentación de sus hábitats, saqueo de plantas y semillas ponen en

riesgo mayor su permanencia. Por lo que es necesario realizar estudios demográficos, que, junto con la información aquí generada de biología reproductiva, ayudaría a plantear programas concretos de propagación y conservación, y reevaluar el estatus de conservación de cada taxón en una futura revisión de las distintas listas de especies amenazadas tanto nacionales e internacionales.

PERSPECTIVAS

Corroborar si hay limitación de polinizadores en las poblaciones de cada taxón de *Strombocactus*, mediante tratamientos de polen suplementario.

Aumentar el tiempo de observación de los visitantes florales en cada taxón por al menos tres temporadas reproductivas, así como, realizar tratamientos de exclusión de polinizadores y relacionar sus visitas con el éxito reproductivo de la planta, para determinar si las abejas solitarias son los polinizadores efectivos.

Analizar otras etapas del ciclo de vida de *S. disciformis* ssp. *esperanzae*, como la germinación y el establecimiento de plántulas, para determinar si hay una reducción de la viabilidad de la descendencia autógama a estos niveles.

Realizar estudios demográficos de cada taxón de *Strombocactus*, de ser posible en más de una localidad para generar información sobre su distribución, abundancia, edades y tasas de crecimiento de cada localidad, que junto con la información aquí generada de su biología reproductiva, permitirá tomar acciones específicas para la conservación y propagación de cada uno de los taxones.

Literatura citada

- Aguilar R., Ashworth L., Galetto L. y Aizen M.A. 2006. Plant reproductive susceptibility to habitat fragmentation: review and synthesis through a meta-analysis. *Ecology Letters* 9: 968-980.
- Álvarez R., Godínez-Álvarez H., Guzmán U. y Dávila P. 2004. Aspectos ecológicos de dos cactáceas mexicanas amenazadas: implicaciones para su conservación. *Boletín de la Sociedad Botánica de México* 75: 7-16.
- Arias S. y Sánchez-Martínez E. 2010. Una especie nueva de *Strombocactus* (Cactaceae) del río Moctezuma Querétaro, México. *Revista Mexicana de Biodiversidad* 8: 619-624.
- Augspurger C.K. 1981. Reproductive synchrony of a tropical shrub: experimental studies on effects of pollinators and seed predators in *Hybanthus prunifolius* (Violaceae). *Ecology* 62(3): 775-788.
- Barrett S.C.H. 2002. Sexual interference of the floral kind. *Heredity* 88(2): 154-159.
- Barrett S.C.H. 2014. Evolution of mating systems: outcrossing versus selfing. En: Losos J. (ed.), *The Princeton Guide to Evolution*. Princeton University Press, New Jersey, 356-362.
- Barrett S.C.H. y Eckert C.G. 1990. Variation and Evolution of Mating Systems in Seed Plants. En: Kawano S. (ed.), *Biological Approaches and Evolutionary Trends in Plants*. Academic Press, London, 229-254.
- Barthlott W. y Hunt D. 2000. Seed diversity in the Cactaceae subfamily Cactoideae. *Succulent Plant Research* 5: 1-173.
- Barthlott W., Porembski S.T., Kluge M., Hopke J. y Schmidt L. 1997. *Selenicereus wittii* (Cactaceae): an epiphyte adapted to Amazonian Igapó inundation forests. *Plant Systematics and Evolution* 206: 175-185.
- Bowers J.E. 2002. Flowering patterns and reproductive ecology of *Mammillaria grahamii* (Cactaceae), a common, small cactus in the Sonoran Desert. *Madroño* 49: 201-206.
- Boyle T.H. 1997. The genetics of self-incompatibility in the genus *Schlumbergera* (Cactaceae). *Journal of Heredity* 88: 209-214.
- Boyle T.H. 2003. Identification of self-incompatibility groups in *Hattiora* and *Schlumbergera* (Cactaceae). *Sexual Plant Reproduction* 16: 151-155.
- Boyle T.H. y Idnurm A. 2001. Physiology and genetics of self-incompatibility in *Echinopsis chamaecereus* (Cactaceae). *Sexual Plant Reproduction* 13(6): 323-327.
- Bregman R. 1988. Forms of seed dispersal in Cactaceae. *Acta Botanica Neerlandica* 37(3): 395-402.
- Busch J.W. y Schoen D.J. 2008. The evolution of self-incompatibility when mates are limiting. *Trends in Plant Science* 13(3): 128-136.
- Cardel Y.J. y Koptur S. 2010. Effects of florivory on the pollination of flowers: an experimental field study with a perennial plant. *International Journal of Plant Sciences* 171(3): 283-292.
- Cárdenas-Ramos D., Mandujano M.C. 2018. Florivory effects on pollinator preference and the reproductive output of a threatened living rock cactus, *Ariocarpus retusus* (Cactaceae). *Haseltonia* 25, 133-139.
- Çetinbaş A. y Ünal M. 2014. An overview of dichogamy in angiosperms. *Research in Plant Biology* 4(5): 9-27.
- Charlesworth D. y Charlesworth B. 1987. Inbreeding depression and its evolutionary consequences. *Annual Review of Ecology and Systematics* 18: 237-268.
- Charlesworth D. y Charlesworth B. 1990. Inbreeding depression with heterozygote advantage and its effect on selection for modifiers changing the outcrossing rate. *Evolution* 44(4): 870-888.
- Cruden R.W. 1977. Pollen-ovule ratios: a conservative indicator of breeding systems in flowering plants. *Evolution* 31: 32-46.
- de Nettancourt D. 1997. Incompatibility in angiosperms. *Sexual Plant Reproduction* 10(4): 185-199.
- Domínguez C. 1990. *Consecuencias ecológicas y evolutivas del patrón de floración sincrónico y masivo de Erythroxylum havanense Jacq. (Erythroxylaceae)*. Tesis de Doctorado. Centro de Ecología, UNAM. México, D.F.
- Domínguez C. y Pérez J.R. 2013. La biología de la polinización. En: Márquez-Guzmán J., Collazo-Ortega M., Martínez-Gordillo M., Orozco-Segovia A. y Vázquez-Santana S. (eds.), *Biología de Angiospermas*. Prensas de la Facultad de Ciencias, UNAM, México, 101-109.
- Eaves D.J., Flores-Ortiz C., Haque T., Lin Z., Teng N. y Franklin-Tong V.E. 2014. Self-incompatibility in *Papaver*: advances in integrating the signaling network. *Biochemical Society Transactions* 42: 370-376.
- Faegri K. y Van Der Pijl L. 1979. *The Principles of Pollination Ecology*. Oxford: Pergamon.
- Fenster C., Armbruster W., Wilson P., Dudash M. y Thomson J. 2004. Pollination Syndromes and floral specialization. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics* 35: 375-403.
- Gibbs P.E. 2014. Late-acting self-incompatibility—the pariah breeding system in flowering plants. *New Phytologist* 203(3): 717-734.
- Glass C. y Arias S., 1996. A new subspecies of *Strombocactus* from the Sierra Gorda in the northeastern portion of the state of Guanajuato, México. *British Cactus and Succulent Journal* 14: 198-204.

- Goodwillie C., Kalisz S. y Eckert C.G. 2005. The evolutionary enigma of mixed mating systems in plants: occurrence, theoretical explanations, and empirical evidence. *Annual Review of Ecology Evolution and Systematics* 36: 47-79.
- Husband B.C. y Schemske D.W. 1996. Evolution of the magnitude and timing of inbreeding depression in plants. *Evolution* 50: 54-70.
- Janzen D.H. 1976. Why bamboos wait so long to flower. *Annual Review of Ecology and Systematics* 7: 347-391.
- Koch K. y Barthlott W. 2009. Superhydrophobic and superhydrophilic plant surfaces: an inspiration for biomimetic materials. *Philosophical Transactions of the Royal Society A: Mathematical, Physical and Engineering Sciences* 367(1893): 1487-1509.
- Lichtenzweig J., Abbo S., Nerd A., Tel-Zur N. y Mizrahi Y. 2000. Cytology and mating systems in the climbing cacti *Hylocereus* and *Selenicereus*. *American Journal of Botany* 87(7): 1058-1065.
- Lloyd D.G. y Webb C.J. 1986. The avoidance of interference between the presentation of pollen and stigmas in angiosperms I. Dichogamy. *New Zealand Journal of Botany* 24: 135-162.
- Lüthy J.M., 2001. *The Cacti of CITES*. Appendix I. CITES, Berna.
- Mandujano M.C, Carrillo-Ángeles I., Martínez-Peralta C. y Golubov J. 2010. Reproductive Biology of Cactaceae. En: Ramawat K.G. (ed.), *Desert Plants*. Springer-Verlag, Berlín, 197-230.
- Mandujano M.C., Golubov J. y Huenneke L. 2013. Reproductive ecology of *Opuntia macrocentra* (Cactaceae) in the northern Chihuahuan Desert. *The American Midland Naturalist* 169(2): 274-285.
- Mandujano M.C., Montaña C. y Eguiarte L.E. 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(1): 63-70.
- Martínez J.G. 2007. *Dinámica poblacional del falso peyote *Astrophytum asterias* (Zucc) Lem. (Cactaceae), una especie amenazada del Noreste de México*. Tesis de Doctorado. Facultad de Ciencias Forestales, Universidad Autónoma de Nuevo León. Nuevo León, México.
- Martínez-Peralta C. y Mandujano M.C. 2011. Reproductive ecology of the endangered living rock cactus, *Ariocarpus fissuratus* (Cactaceae). *The Journal of the Torrey Botanical Society* 138(2): 145-155.
- Martínez-Peralta C. y Mandujano M.C. 2012. Biología de la polinización y fenología reproductiva del género *Ariocarpus* Scheidweiler (Cactaceae). *Cactáceas y Suculentas Mexicanas* 57: 114-127.
- Martínez-Peralta C., Márquez-Guzmán J. y Mandujano M.C. 2014. How common is self-incompatibility across species of the herkogamous genus *Ariocarpus*? *American Journal of Botany* 101: 530-538.
- McCall A.C. 2008. Florivory affects pollinator visitation and female fitness in *Nemophila menziesii*. *Oecologia* 155(4): 729-737.
- McCall A.C. e Irwin R.E. 2006. Florivory: the intersection of pollination and herbivory. *Ecology letters* 9(12): 1351-1365.
- Nassar J.M. y Ramírez N. 2004. Reproductive biology of the melon cactus, *Melocactus curvispinus* (Cactaceae). *Plant Systematics and Evolution* 248: 31-44.
- Olmos-Lau V.R. 2016. Demografía para la conservación de *Strombocactus disciformis* (DC.) Britton & Rose, en la localidad Agua del Ángel en el municipio de Peñamiller, Querétaro, México. Tesis de Licenciatura. Facultad de Ciencias, UNAM. México.
- Olmos-Lau V.R. y Mandujano M.C. 2016. An open door for illegal trade: online sale of *Strombocactus disciformis* (Cactaceae). *Nature Conservation* 15: 1-9.
- Plasencia L.M.T.P. 2003. *Biología reproductiva de *Opuntia bradtiana* (Cactaceae) en Cuatro ciénegas, Coahuila*. Tesis de Licenciatura, Facultad de Ciencias, Universidad Nacional Autónoma de México. México.
- Porcher E. y Lande R. 2005. Loss of gametophytic self-incompatibility with evolution of inbreeding depression. *Evolution* 59(1): 46-60.
- Richards A.J. 1997. *Plant breeding systems*. Chapman & Hall, Cambridge.
- Sánchez-Salas J., Jurado E., Flores J., Estrada-Castillón E. y Muro-Pérez G., 2012. Desert species adapted for dispersal and germination during floods: experimental evidence in two *Astrophytum* species (Cactaceae). *Flora* 207: 707-711
- Sedgley M. 1994. Self-incompatibility in woody horticultural species. En: Williams E., Clarke A. y Knox R. (eds.), *Genetic Control of Self-incompatibility and Reproductive Development in Flowering Plants*. Kluwer Academic, London, UK, 141-163.
- Van Der Pijl L., 1972. *Principles of Dispersal in Higher Plants*, 2 ed. Springer-Verlag, New York.
- Vervoort A., Cawoy V. y Jacquemart A.L. 2011. Comparative reproductive biology in co-occurring invasive and native *Impatiens* species. *International Journal of Plant Sciences* 172(3): 366-377.
- Webb C.J. y Lloyd D.G. 1986. The avoidance of interference between the presentation of pollen and stigmas in angiosperms II. Herkogamy. *New Zealand Journal of Botany* 24: 163-178.

Wilcock C. y Neiland R. 2002. Pollination failure in plants: why it happens and when it matters. *Trends in Plant Science* 7(6): 270-277.