



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

FACULTAD DE CIENCIAS

BIOLOGIA REPRODUCTIVA DE LA CACTACEA
PACHYCEREUS PRINGLEI (UNA PLANTA TRIOICA
DEL DESIERTO SONORENSE) EN CUATRO
POBLACIONES CON FRECUENCIAS CONTRASTANTES
DE SEXOS

297683

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:

B I O L O G O

P R E S E N T A :

MAURICIO PABLO CERVANTES SALAS

DIRECTOR DE TESIS: DR. FRANCISCO E. MOLINA FREANER

ESTA TESIS NO SALE
DE LA BIBLIOTECA

2001





Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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



UNIVERSIDAD NACIONAL
AUTÓNOMA DE
MÉXICO

M. EN C. ELENA DE OTEYZA DE OTEYZA
Jefa de la División de Estudios Profesionales de la
Facultad de Ciencias
Presente

Comunicamos a usted que hemos revisado el trabajo de Tesis: "Biología Reproductiva de la Cactácea *Pachycereus pringlei* (una planta tríoica del desierto sonorense) en cuatro poblaciones con frecuencias contrastantes de sexos."

realizado por Mauricio Pablo Cervantes Salas

con número de cuenta 9354971 - 0 , pasante de la carrera de Biólogo

Dicho trabajo cuenta con nuestro voto aprobatorio.

Atentamente

Director de Tesis

Propietario Dr. Francisco Elizandro Molina Freañer

Francisco E. Molina F
ef. 10/11/11

Propietario Dr. Eduardo Morales Guillaumin

Propietario Dr. Luis Enrique Eguiarte Fruns

Luis Enrique Eguiarte Fruns

Suplente Dra. María del Carmen Mandujano Sánchez

María del Carmen Mandujano Sánchez

Suplente Biol. Juan Enrique Fornoni Agnelli

Juan Enrique Fornoni Agnelli

FACULTAD DE CIENCIAS
U N A M.

Consejo Departamental de BIOLOGIA

[Firma manuscrita]

Dra. Patricia Ramos Morales



DEPARTAMENTO
DE BIOLOGIA

“Todos tenemos en el fondo la misma tendencia, es decir, a irnos viendo en las diferentes etapas de nuestra vida como el resultado y el compendio de lo que nos ha ocurrido y de lo que hemos logrado [...] como si fuera tan sólo eso lo que conforma nuestra existencia. [...] Cada trayectoria se compone también de nuestras pérdidas y nuestros desperdicios, de nuestras omisiones y de nuestros deseos incumplidos, de lo que alguna vez dejamos de lado o no elegimos o no alcanzamos, de los proyectos frustrados y los anhelos falsos y tibios, de los miedos que nos paralizaron, de lo que abandonamos o nos abandonó a nosotros. Las personas tal vez consistimos, en suma, tanto en lo que somos como en lo que no hemos sido, [...] de lo que fue y de lo que pudo ser”.

Javier Marias

A Betzabé, por lo que fuimos, dejamos de ser, por lo que somos y no hemos sido.

Este trabajo fue posible gracias a la beca otorgada por Fundación U.N.A.M. y al apoyo económico otorgado por el proyecto CONACYT 3274P – N9607.

Le agradezco a un país maravilloso, a su pueblo cálido el haberme enseñado a leer y escribir, que los árboles efectivamente dan frutos y que los murciélagos vuelan, que las abejas pican y que el tiburón también anda en agua dulce... que la lluvia también es tibia. Le agradezco a "El Capi" y a los Compas, a Venancio y Venancia el dulce sabor de su compañía. A Nicaragua con todo mi amor.

Hay dos familias a las cuales no sólo les agradezco sino que también les dedico este trabajo. A Mario, Diana y Dani Bronfman Rubli y a Luz Amanda, Luis (Papá) y Claudio Yáñez Fernández, por haber estado siempre apoyándome, por haber compartido sus asados, espaguetis y ensaladas, por esas empanadas, y sin fin de más comidas en un momento en el que mi estómago exigía grandes cantidades. Por haberme hecho parte de su familia y hacerme sentir seguro. Todo mi amor para ustedes.

A Pablo Lach, Juan Garibay, Rodrigo Garibay, Diego Corvalán, Ariel Margolis, al Dawn, al Estoban, a Emiliano Godoy, Miguel Dittner, al Champi, Yari Donatella, a la Tatiana, a María Minera, a Alejandra Elizalde, por esos viajes de antaño, por la música tan buena que tanto disfruté, por su cálida amistad y siempre solidaridad.

Aquí amerita el separar a mis dos carnalitos del alma, al Queso (Gabriel) y al Yañez (Luis), que aunque los tengo un poco abandonados siempre han sido dos grandes hermanos con los que tanto he disfrutado, por sus pláticas sensibles e inteligentes, por su música y amor. Saben bien que los traigo aquí del lado izquierdo del pecho siempre bien pegados. A ustedes gracias y esta tesis.

A Alejandro Romo por esas clases de guitarra tan buenas y divertidas. Por su amistad y apoyo.

A la UNAM por una educación pública, gratuita y de calidad. A cada uno de los maestros y estudiantes por haberme abierto los ojos a los miles de mundos tan interesantes que la biología y las personas guardan. Recalco aquí mi admiración y agradecimiento a Antonio Lazcano y a Arturo Becerra por esas cátedras tan bellas, llenas de cultura y amor. Y no puedo dejar de lado a Radio UNAM, fiel compañía durante este trabajo de tesis.

A los de la facultad (si se olvida alguien ya habrá tiempo para reclamos). A la Janaka, Marcela, la Cardeña, a la Fer, la Lore, Pilar Camacho, por las miles de sonrisas, abrazos y sus muestras de amor. Por haber estado siempre apoyándome y regañándome, por esos bailongos y sueños contruidos. Para ustedes mi amor. A la Leo, que aunque un poco tarde, hemos comenzado a deshilar una rica amistad. Al Sotres, al Demon, por esos revens, trabajos y salidas de campo tan divertidas, por ser tan carnales. A la Madinina, por lo compartido. Al Lemus, la Gadea y al Cuaco, a ustedes por todas esas pláticas, construcciones y destrucciones del mundo material, por su siempre crítica constructiva, su amor, y sensibilidad, por estar siempre y haberme sabido transmitir la certeza de que siempre estarán. A ustedes esta tesis.

A todos los cuates de Hermosillo, Marion, Olaya, Clara, Celine, La chori, Albert, El cochino, el Chico, Jocelyn, el José, la Christina y a Ricardo Clark. Al Luna Dance y en especial a Mónica Luna, al Paco Luna, a Hilda Castillo y a la memoria de Victor Lay, por su cariño y amistad. Gracias por esas noches tan divertidas y llenas de enseñanza. A Conrado Valenzuela y Oscar Gutiérrez por su ayuda en el trabajo de campo.

A Toño, por ser mi hermano y familia en Sonora y aún después. Por haber sido tan buen alumno de programación en el Luna Dance (¡nunca me superaste!).

Le agradezco También a Pancho y Clara su amistad, apoyo incondicional y las comidas compartidas durante mi estancia en Hermosillo. Pancho te agradezco la confianza brindada y haberme dado la oportunidad de ser tu tesista. Así mismo al Dr. Theodore H. Fleming, por haber formado parte de este trabajo de tesis, por la ayuda brindada en el campo y las discusiones compartidas.

A Eduardo Morales, Luis Eguiarte y Ma. del Carmen Mandujano por la revisión de la tesis; a Juan Fornoni, además, por haberme sacado del pantano tantas veces. A Arturo Silva por el tiempo dedicado y los comentarios hechos al manuscrito de este trabajo.

También quiero compartir esta tesis con mis compañeros de El COLMEX y con cada uno de mis maestros.

A mi tío Pablo, a sus hijos; a la memoria de mi tía Blanquita. A Octavio Jarquín y Marcela, a mi Tía Lilia, a mi tío Enrique, A Octavio Bernal, a Gaby, Mariana y Gloria. Por su amistad y amor. Por sus exquisitas comidas. A mis tíos Beto, Norma, Pepita, Toño, Pedro, Tessy y Maribel. A mis primos Toño, Juan, Beto, Tiño, Pancho, Caudia, Rosy, Ana Pau, y al Roquer por su maravillosa sonrisa y haberme sustituido.

Esta Tesis se la quiero dedicar a dos grandes revolucionarios y luchadores sociales, por ser tan sensibles, amorosos e inteligentes, por nunca claudicar. Por ser los que me dieron la vida y las herramientas necesarias para sobrevivir, por su apoyo incondicional. A mis padres Alejandro Cervantes y Guadalupe Salas. Para ustedes todo mi amor.

A mis hermanos. Por los juegos y peleas compartidas, sobre todo a Lalo. A Mariana por habernos dado la alegría de ser padres a tan corta edad, por su sensibilidad. A Ricardo, que aunque siempre guardó distancia también siempre estuvo al tanto de nuestros cuidados. A Alejandro por haberle cambiado los pañales al Charolito Gómez, por haberlo cuidado y apoyado siempre. A Todos ustedes les dedico esta tesis. A Tomás y Frida, por su amor de pelos.

A mis abuelas Conchita y Lochita, quienes se fueron comiendo la vida, pasito a pasito, siempre alegres y amorosas, de carácter suave y excelente mano para la cocina. Por ahí nos seguiremos encontrando... en la esquina de los sueños.

Quisiera dedicarles esta tesis también a Ricardo, Georgina, Olga, Sergio, Cristina y Ricardo Valdez. Por todo el cariño y apoyo que nos han brindado, muchas gracias.

A esos ojos, que desde la primera vez que los vi me dejaron encantado, a esa persona de firmes convicciones y amorosa vida. Por lo que estamos construyendo y nos falta por construir. Por compartir conmigo tu vida. A Betzabé.

ÍNDICE

RESUMEN	1
INTRODUCCIÓN	2
Evolución de sistemas reproductivos	2
La importancia de los polinizadores	9
Variación geográfica de los sexos	11
El caso de <i>pachycereus pringlei</i>	15
HIPÓTESIS DE LA ABUNDANCIA DEL POLINIZADOR NOCTURNO	17
PREDICCIONES	18
OBJETIVOS	19
MATERIAL Y MÉTODOS	20
Áreas de estudio	20
Especie de estudio	22
Limitación por polen y eficiencia reproductiva	23
Número de semillas por fruto	25
Adecuación absoluta y relativa de las clases sexuales	26
Depresión por endogamia	27
Corrimientos electroforéticos	27
Lectura de geles y tasas de entrecruzamiento	30
Análisis estadístico	31
RESULTADOS	35
Adecuación	35
Componentes de la adecuación	37
Depresión por endogamia	46
Tasas de entrecruzamiento	49
DISCUSIÓN	51
Diferencias entre poblaciones	52
Limitación por recursos vs limitación por polinizadores	56
Diferencias entre sexos	58
Diferencias entre individuos	61
Tasas de entrecruzamiento y depresión por endogamia	62
Aspectos evolutivos sobre el dioicismo y ginodioicismo	66
CONCLUSIONES	69
BIBLIOGRAFÍA	71
APÉNDICE A	78
APÉNDICE B	81
APÉNDICE C	85

RESUMEN

Pachycereus pringlei (Cactaceae) es una planta autotetraploide y autocompatible del desierto sonorense que se caracteriza por tener un sistema reproductivo trioico (presencia de machos, hembras y hermafroditas), cuya distribución por sexo varía geográficamente.

Se ha planteado que esta variación se encuentra asociada con la abundancia de un polinizador nocturno especailizado (el murciélago *Leptonycteris curasoae*), en esta hipótesis se propone que como la adecuación de machos y hembras es más dependiente del polinizador nocturno que la de los hermafroditas, las poblaciones trioicas estarán en áreas donde la abundancia del polinizador sea alta, mientras que las poblaciones ginodioicas (coexistencia de hembras y hermafroditas) se encontrarán en áreas de baja abundancia de murciélagos. Según los modelos nucleares sobre la evolución de la dioecia, las hembras podrán establecerse en una población, si su ventaja reproductiva es al menos dos veces mayor que la de hermafroditas. Si la hipótesis del polinizador nocturno es correcta y si se cumple la condición para el establecimiento del ginodioicismo, se esperarían dos escenarios: 1) que en poblaciones trioicas se presente menor limitación por polinizadores, tasas de entrecruzamiento altas en hermafroditas, y mayor ventaja reproductiva (kh) y adecuación de las hembras con respecto a hermafroditas; y 2) que en poblaciones ginodioicas se presente mayor limitación por polinizadores, menor tasa de entrecruzamiento en hermafroditas, y menor ventaja reproductiva (kh) y disminución de la adecuación de las hembras con respecto a hermafroditas.

En este trabajo se estudiaron, en cuatro poblaciones con frecuencias contrastantes de sexos, la variación geográfica de la adecuación y sus componentes (número de semillas por fruto, masa de las semillas, proporción de flores transformadas en frutos y tasas de entrecruzamiento) en hembras y hermafroditas de *Pachycereus pringlei* para poner a prueba la hipótesis de la abundancia del polinizador nocturno y ver si la ventaja reproductiva de las hembras (kh) de cada población cumple con lo planteado por el modelo nuclear de la evolución del dioicismo y ginodioicismo formulado por Charlesworth y Charlesworth en 1978.

Los resultados obtenidos no apoyan la hipótesis de la abundancia del polinizador nocturno. Se obtuvieron altas tasas de entrecruza ($tm \approx 1$) en ambos escenarios y los experimentos de polinización manual mostraron evidencia de limitación por polinizadores en el escenario (1). Así mismo, contrario a lo esperado se obtuvo una disminución de la adecuación de las hembras con respecto a los hermafroditas en el escenario (1) y una aumento en el escenario (2). La ventaja reproductiva de las hembras (Kh) fue entre 5.19 y 1.34 veces mayor en todas las poblaciones, por lo que el modelo sobre la evolución del dioicismo y ginodioicismo logró explicar la coexistencia de hembras y hermafroditas en tres de las cuatro poblaciones trabajadas.

INTRODUCCIÓN

Evolución de sistemas reproductivos

En plantas con flor la condición hermafrodita (individuos cuyas flores presentan estambres y pistilos funcionales) es muy común (Lloyd, 1975; Charlesworth y Charlesworth, 1978; Fleming et al., 1998) y se estima que sólo el 10% de las plantas que producen semillas presentan un sistema reproductivo que involucra dioicismo (coexistencia de individuos machos y hembras), ginodioicismo (coexistencia de hembras y hermafroditas) o subdioicismo (presencia de hembras, machos y hermafroditas) (Fleming et al., 1998).

Aunque diversos estudios sugieren que la dioecia ha evolucionado a partir de muchos linajes, ha sido difícil identificar las principales fuerzas evolutivas que han promovido este proceso (Bawa y Beach, 1981; Hoffman, 1992; Sakai et al., 1997). Distintos estudios empíricos y modelos sobre la evolución de sistemas reproductivos proponen que son cuatro componentes de la adecuación los que juegan un rol crítico para que machos y hembras puedan invadir una población de hermafroditas: proporción de flores transformadas en fruto, producción de semillas, tasas de entrecruzamiento y depresión por endogamia (Charlesworth y Charlesworth, 1978; Lloyd, 1975; Fleming et al., 1998; Norman et al., 1997).

Componentes de la adecuación

En un contexto evolutivo, adecuación es la tasa de incremento de una característica genotípica con respecto a la de otros genotipos en una población, la tasa de crecimiento de un genotipo dependerá de la eficiencia de reproducción de las plantas con dicha característica y de la sobrevivencia de su descendencia (Futuyma, 1986).

a) Eficiencia reproductiva de la plantas

Puede ser medida por la proporción de flores transformadas en frutos (*Fruit set*) y la proporción de semillas maduras (*Seed set*).

Un fenómeno muy conocido, es que muchas especies producen frutos maduros a partir de una pequeña porción de sus flores (Niesenbaum, 1999; Bertin, 1985; Koptur, 1984; Stephenson, 1981; Stocklin, 1997; Dudash, 1993; Melser et al., 1997; Stephenson y Winsor, 1986; Casper 1988, etc.). La baja proporción de flores transformadas en frutos resulta de una gran variedad de factores (Koptur, 1984) a partir de los cuales se han formulado algunas hipótesis para explicarlo:

1. Limitación por polinizadores: una baja proporción de flores transformadas en frutos refleja una baja densidad de polinizadores y/o una baja en el número de sus visitas. Esta hipótesis supone que si la densidad de polinizadores se incrementa, entonces la proporción de flores transformadas se incrementará al máximo posible de acuerdo con la disponibilidad de recursos (Schemske, 1980, Willson and Schemske, 1980, Howell y Roth, 1981, en Sutherland y Delph, 1984).
2. Aborción selectiva: si el éxito de la polinización es alto y hay más frutos iniciados de los que pueden alcanzar la madurez por falta de recursos, las plantas pueden abortar selectivamente aquellos frutos que sean de baja calidad en términos de número de óvulos fertilizados o de la constitución genética de las semillas (Stephenson 1981, Sutherland, 1982, en Sutherland y Delph, 1984). Esto se basa en que se ha logrado detectar que la aborción de algunos frutos está asociada al número y composición genética de las semillas en desarrollo (Lee, 1988; Stephenson, 1981).
3. Donación de polen: los hermafroditas tienen dos caminos para asegurar su adecuación: a través de la función masculina (donación de polen) y a través de su función femenina (producción de frutos y semillas). Las flores que se transforman en frutos contribuyen a la adecuación masculina y femenina, mientras que la producción de un exceso de flores sólo contribuye a la

adecuación masculina (Sutherland y Delph, 1984). Si la adecuación ganada por la sobreproducción de flores (adecuación masculina) es mayor que la adecuación perdida por no madurar más frutos (adecuación femenina) entonces la sobreproducción de flores será favorecida (Willson y Rathcke, 1974, Willson y Price, 1977, Sutherland, 1982, en Sutherland y Delph, 1984).

Las primeras dos hipótesis proponen que la sobreproducción de flores incrementa la adecuación femenina y es aplicable en hembras y en hermafroditas, mientras que la tercer hipótesis propone que la sobreproducción aumenta la adecuación masculina, siendo sólo aplicable para hermafroditas (Sutherland y Delph, 1984).

Lo que en inglés se conoce como *Seed set*, es la proporción de óvulos que son fecundados y transformados en semillas maduras (Inouye et al., 1994). Cuando la cantidad de polen en el estigma limita el número de semillas producido por la planta, hay limitación por polen (Zimmerman et al., 1988); cuando no es la falta de polen la que limita la producción de semillas, entonces existe limitación por otros recursos (Zimmerman et al., 1988). Esto último puede deberse a la cantidad de recursos de que disponga la planta para la maduración de las semillas (Stephenson, 1981). Por esto, es importante distinguir entre limitación por polen y limitación por recursos en la producción de semillas y frutos, para lograr una interpretación evolutiva sobre algunos aspectos de la biología reproductiva de las plantas (Bertin, 1985).

Para determinar si la producción de frutos y semillas se encuentra limitada por el polen o por otros recursos, se llevan a cabo polinizaciones manuales de flores experimentales, y al final se contrasta la proporción que se transformó en frutos y el número de semillas producidos por estos con respecto a los controles (flores polinizadas naturalmente). Si se detecta que la producción de frutos y semillas de las flores experimentales es mayor que el de las flores controles, entonces se dice que existe limitación por polen (Stephenson, 1981).

En general, se ha visto que la proporción de flores transformadas en frutos decrece conforme aumenta el número de flores polinizadas, así que una interpretación de limitación por polen debe asumir que la proporción de flores transformadas en frutos, por polinización manual, es independiente del número de polinizaciones

manuales (Stephenson, 1981), interpretación que será adoptada en este trabajo. Un incremento en la producción de frutos, con respecto a los controles, será considerado como evidencia de que existe limitación por polen.

b) Sobrevivencia de la descendencia

Puede ser afectada por la expresión de la depresión por endogamia, que es una disminución en la adecuación de la progenie derivada de autopolinización (Husband y Schemske, 1996), o bien, derivada del entrecruzamiento de consanguíneos, con respecto a la progenie derivada de la entrecruza de individuos no emparentados (Eguiarte et al., 1992).

En la actualidad hay dos modelos que intentan explicar las bases genéticas de la depresión por endogamia:

1. Dominancia parcial: asume la existencia de individuos que poseen un número de mutaciones letales (o deletéreas), que son recesivas o parcialmente recesivas. La depresión por endogamia entonces será causada por un incremento en los homócigos recesivos, debido a un incremento en la autopolinización (Husband y Schemske, 1977; Eguiarte et al., 1992). En este modelo se espera que en especies autotetraploides (especies que han sufrido una duplicación somática, produciendo cuatro complementos de cromosomas homólogos; Stansfield, 1992) una muy pequeña porción de la descendencia sufriría depresión por endogamia (17-21%), dependiendo del tipo de segregación (Husband y Schemske, 1997).
2. Sobredominancia: los heterócigos son superiores a los homócigos en loci que afectan la adecuación (Husband y Schemske, 1997), debido a que los heterócigos presentan dos versiones de los genes y, por lo tanto, tienen un funcionamiento óptimo en ciertas condiciones (Eguiarte et al., 1992). Según este modelo, la depresión por endogamia se presenta cuando se pierden las interacciones alélicas debido a una reducción de la heterócigosis (Husband y Schemske, 1997). En este modelo es más difícil predecir los efectos de la

depresión por endogamia en autotetraploides, dado que las interacciones alélicas en poliploides son mayores y de carácter más complejo (Husband y Schemske, 1997).

Aunque diversos estudios han demostrado los efectos nocivos que produce la autopolinización en la progenie (baja producción y peso de semillas, así como menor tasa de crecimiento y germinación de las plántulas; Husband y Schemske, 1996; Carr y Dudash, 1996), se ha visto que los efectos de la endogamia son menores en especies que normalmente practican la autopolinización (Darwin, 1876 en Eguiarte et al., 1992; Carr y Dudash, 1996), debido a que una parte de la depresión por endogamia es producto de la presencia de alelos recesivos deletéreos. Si la autopolinización siguiera, los genes deletéreos con mayor efecto serían eliminados de las poblaciones por selección (Maynard-Smith, 1989).

Debido a que la autopolinización aumenta el número de homócigos en una población y las probabilidades de que se exprese depresión por endogamia (Carr y Dudash, 1996), resulta importante medir el grado de autopolinización que presenta una población.

En términos generales, la tasa de entrecruzamiento es un parámetro que permite discernir el grado de autopolinización y entrecruzamiento que experimenta una población y se estima haciendo uso de marcadores moleculares, por medio de los cuales se obtiene la proporción de la progenie producto de autopolinización, con respecto a la polinización cruzada que presenta una población (Eguiarte et al., 1992). Los valores varían entre 0, para las poblaciones que presentan sólo autofecundación, y 1, para las poblaciones que presentan sólo entrecruzamiento (Eguiarte, et al., 1992).

Los niveles de depresión por endogamia pueden cambiar como respuesta a modificaciones en las tasas de entrecruzamiento, normalmente asociadas con cambios en la abundancia de polinizadores, en el tamaño de las poblaciones vegetales, o debido a la ocurrencia de un evento fundador (Sakai, et al., 1997).

La evolución del dioicismo

Diversos estudios han identificado que muchas especies dioicas tienen especies cercanas que son ginodioicas (Meagher, 1988), lo que sugiere que en las angiospermas el dioicismo ha evolucionado independientemente a partir de un estado monomórfico ancestral (hermafroditismo o monoicismo), para lo cual se requiere de un mínimo de dos cambios genéticos, uno que dé origen a las hembras (esterilidad masculina) y otro que dé origen a los machos (esterilidad femenina), generando así poblaciones intermedias en las cuales coexisten hermafroditas y machos (androdioicismo) o hermafroditas y hembras (ginodioicismo). Estudios sobre la determinación del sexo en varias especies, tienen resultados que permiten sostener que dos mutaciones con estos efectos son los que están involucrados en este proceso (Westergaard, 1958, en Charlesworth y Charlesworth, 1978). Posteriormente se requerirá de una alteración que promueva la desaparición de las plantas monomórficas para que se establezca una población completamente dioica (Charlesworth y Charlesworth, 1978).

Basados en las evidencias anteriores, en 1978, Brian Charlesworth y Deborah Charlesworth, elaboraron un modelo que evalúa las condiciones que permitirían la evolución hacia el dioicismo a partir de una condición hermafrodita ancestral. Básicamente retoman los modelos de Lloyd (1974, 1975 y 1976) e incluyen la autopolinización parcial y depresión por endogamia para analizar como estos parámetros están involucrados en la evolución del dioicismo (Charlesworth y Charlesworth, 1978).

En 1877, Darwin dijo que la pérdida de una función masculina o femenina (producción de polen u óvulos) permitiría que las plantas reasignaran sus recursos, gracias a un fenómeno de compensación, incrementando la producción de óvulos o de polen, según sea el caso (Charlesworth y Charlesworth, 1978). Tanto para Darwin (1877) como para Charlesworth y Charlesworth (1978), dicha reasignación es un factor importante en la evolución del dioicismo.

Suposiciones del modelo

- 1) Se asume una población infinitamente grande, la cual experimenta cierto grado de autopolinización y está segregando un locus que estará afectando la producción de óvulos y de polen. Dicho locus puede ser totalmente dominante o recesivo y tiene herencia nuclear.
- 2) No existe limitación por polen en la población.
- 3) La tasa de autofecundación en hermafroditas y la diferencia en la producción de semillas de la hembras (K_h), con respecto a los hermafroditas, se mantienen constantes con el incremento de la frecuencia de hembras en las poblaciones.

Este modelo considera que los siguientes parámetros afectarán el mantenimiento del ginodioicismo y androdioicismo:

- 1.- Ventaja de los machos (K_m), medida por la diferencia en la producción de polen, con respecto a los hermafroditas.
- 2.- Ventaja de las hembras (K_h), medida por la diferencia en la producción de semillas, con respecto a los hermafroditas.
- 3.- Tasas de autofecundación en hermafroditas (s).
- 4.- Depresión por endogamia en hermafroditas (δ).

Debido a que en este trabajo no se estudia la adecuación de los machos del modelo en cuestión, sólo se mencionan las condiciones que permitirán la aparición y mantenimiento del ginodioicismo.

Ginodioicismo

La dioecia parte de una condición totalmente hermafrodita como consecuencia de una mutación sencilla, en un sólo gen, que produce esterilidad masculina. La condición

necesaria y suficiente para que las hembras (estériles para la función masculina) se establezcan en una población hermafrodita es: $1 + Kh > 2(1-s\delta)$.

Suponiendo que las hembras no presentan ninguna ventaja en la producción de semillas con respecto a los hermafroditas ($Kh=0$), el gene mutante podría establecerse si el producto de la autopolinización (s) y la depresión por endogamia (δ) es lo suficientemente grande (>0.5). Si, por el contrario, no hubiera depresión por endogamia o autopolinización, entonces la producción de semillas de las hembras tendría que ser por lo menos el doble que la producción de los hermafroditas para que el gene se propagara ($Kh>1$). Así, mientras mayor sea el producto de la depresión por endogamia y las tasas de autopolinización en los hermafroditas, menor será la ventaja requerida por las hembras (Kh) para que se puedan establecer en una población hermafrodita. La condición más favorable para el establecimiento de la ginodioecia sería de altos niveles de depresión por endogamia y autopolinización, y de un incremento en la producción de óvulos en las hermafroditas, gracias al fenómeno de la compensación propuesto por Darwin.

La frecuencia de individuos hembras (Zh) en equilibrio en una población ginodioica será: $Zh = (Kh + 2sd - 1) / 2 (Kh + sd)$.

De esta fórmula se concluye que mientras mayor sean la autopolinización, la depresión por endogamia y el grado de compensación, mayor será la frecuencia de hembras en la población. Al menos de que Kh sea muy alta, la frecuencia de hembras será menor a 0.5, por lo tanto la frecuencia de hembras no podrá superar la frecuencia de las hermafroditas bajo herencia nuclear.

La importancia de los polinizadores

Las plantas gobiernan sus posibilidades de apareamiento a través de los efectos que tienen las características florales, estructurales y funcionales, sobre la atracción de los polinizadores (Harder y Barrett, 1996). Una vez que el polinizador es atraído, las características florales afectan el éxito de la dispersión del polen al determinar la

cantidad de polen que será intercambiado entre las estructuras reproductivas de las flores y el polinizador (*Ibidem*). Una estrecha relación entre las características estructurales y funcionales de las flores con la atracción de un tipo específico de polinizador, ha dado origen al concepto de "síndrome de polinización" (Herrera, 1996).

Dentro de las angiospermas, las cactáceas son un grupo cuyos síndromes de polinización están muy relacionados con animales (Gibson y Nobel, 1986, en Valiente-Banuet, 1996). La relación existente entre las cactáceas y sus polinizadores puede ser muy especializada. Las flores de las *Opuntias* atraen especialmente a abejas (Grant y Hurd, 1979; en Valiente-Banuet, 1996; Mandujano et al., 1996; Simpson y Neff, 1987); en los géneros *Rathbunia*, *Wilcoxia*, *Nopalea* y *Echinocereus*, se presentan flores rojas, y en algunos casos tubulares, para la atracción de colibríes (Gibson y Nobel, 1986, en Valiente-Banuet et al., 1996; Hoffman, 1992). Síndromes clásicos de polinización por esfíngidos (con un delgado tubo floral, perianto blanco o blanquecino y muy perfumado que abre de noche) se encuentran en *Epiphyllum*, *Acanthocereus* y *Selenicereus* (Grant y Grant, 1979, en Valiente-Banuet et al., 1996).

Características florales asociadas con síndrome de polinización por murciélagos, han sido ampliamente encontradas en cactáceas columnares, las cuales presentan flores blancas de anthesis (apertura de la flor) nocturna, olor dulce y alta producción de polen y néctar (altas concentraciones de hexosas) (Valiente-Banuet, 1996; Scogin, 1985; Sahley, 1996). Se reporta que de 70 especies distribuidas principalmente en México, el 69% tienen anthesis nocturna y con características florales que corresponden en forma muy cercana a los de un síndrome quiropterofílico (el 60%; Valiente-Banuet et al., 1996). Adicionalmente, se ha visto que una parte considerable de estas cactáceas son especies autoincompatibles (cuando la autofecundación no produce progenie), por lo que dependen de la presencia de polinizadores para poderse reproducir (*Ibidem*).

Diversos estudios han visto que la abundancia de murciélagos puede afectar el desempeño reproductivo de las cactáceas columnares, afectando la producción de frutos y semillas (Valiente-Banuet et al., 1997a; Valiente-Banuet et al., 1997b; Valiente-Banuet et al., 1996; Nassar et al., 1996; Nassar et al., 1997; McGregor et al., 1961, 1962; Fleming et al., 1996; Fleming et al., 1994; Sahley, 1996).

Un estudio realizado en Venezuela, y varios realizados en el Valle de Tehuacán,

Puebla, han permitido ver que uno de los murciélagos más relacionados con el éxito reproductivo de cactáceas columnares es *Leptonycteris curasoae* (Nassar et al., 1997; Valiente-Banuet et al., 1996; 1997a; 1997b). Trabajos recientes muestran que este mismo murciélago es el más importante en la polinización de cactáceas columnares del desierto Sonorense (Flemming et al., 1996, 1998), aunque también se ha visto a la especie *Antrozous pallidus* visitando flores de cactus en la región de Bahía Kino (Herrera et al., 1993 en Fleming et al., 1996). Fleming y Molina-Freaner han detectado que el murciélago *Choeronycteris mexicana* es frecuente en el Este del estado de Sonora, en la base de la Sierra Madre, y se encontró visitando flores de *Pachycereus pecten-aboriginum* en el verano de 1998 (Flemming y Molina-Freaner, com. pers), aunque , a simple vista, su abundancia parecía ser mucho menor a la de *L. curasoae*.

El murciélago *L. curasoae* pertenece a la familia Phyllostomidae (con hoja nasal) y a la subfamilia Glossophaginae Martínez y Villa (Rojas-Martínez et al., 1996); su dieta se compone principalmente de polen y néctar de flores de antesis nocturna, de distintas especies de Agaveceae, Cactaceae, Bombacaceae, Convolvulaceae y Leguminosae (Fleming et al., 1997, y citas que incluye). Algunos autores la consideran una especie migratoria (Wilkinson y Fleming, 1996).

Variación geográfica de los sexos

La variación geográfica en el sistema reproductivo ha sido documentada en cierto número de especies. Un caso bien estudiado es *Wurmbea dioica* (Liliaceae), cuyas poblaciones al Sur de Australia son dimórficas, mientras que las poblaciones al Oeste de Australia son monomórficas y dimórficas (Barret, 1992; en Fleming et al., 1998). Otros ejemplos de variación geográfica en el sistema reproductivo son *Hebe strictissima* (Scrophulariaceae) en Nueva Zelanda; *Phacelia linearis* (Hydrophyllaceae) y *Echinocereus coccineus* (Cactaceae), en Estados Unidos de Norteamérica (Fleming et al., 1998).

Factores asociados a las variaciones geográficas de los sistemas reproductivos incluyen las diferencias físicas del medio ambiente y la disponibilidad de polinizadores, por ejemplo, en algunas especies de Umbellíferas de Nueva Zelanda las hembras producen menos frutos y son menos comunes que los hermafroditas en mayores latitudes y altitudes, aparentemente como respuesta a una reducida abundancia de polinizadores (Fleming et al., 1998).

La trioecia, definida como la coexistencia de machos, hembras y hermafroditas en una misma población, es menos común en la naturaleza que los sistemas reproductivos dimórficos (Fleming et al., 1998). El estudio del trioicismo es de particular importancia porque permite evaluar las condiciones ecológico-genéticas que permiten el mantenimiento del dimorfismo sexual en plantas (Ross y Gillet, 1983, en Fleming et al., 1994). El Cardón (*Pachycereus pringlei*) es uno de los dos casos de trioecia conocidos en cactáceas (Fleming et al., 1994). *Opuntia robusta* (Cactaceae), la cual es polinizada por abejas, presenta también un sistema trioico que se supone un estado transicional en la evolución al dioicismo a partir del hermafroditismo (Del Castillo, 1986).

Pachycereus pringlei es una cactácea columnar autotetraploide (Murawski et al., 1994) que presenta poblaciones ginodioicas y trioicas (Fleming et al., 1994), y cuyas frecuencias sexuales varían entre poblaciones. F. Molina-Freaner (datos no publicados) caracterizó la distribución de los sexos en el desierto sonorense, en diez poblaciones ubicadas a lo largo de toda su distribución geográfica en Sonora, desde el extremo norte (sierra El Alamo, al Oeste de Caborca, Turner et al., 1995) hasta el extremo sur (Empalme, ubicado al sur del puerto de Guaymas). Sus datos muestran que la proporción de hermafroditas en las poblaciones aumenta conforme se desciende latitudinalmente y la proporción de machos y hembras es mayor, conforme aumenta la latitud. De tal forma podemos encontrar que al norte de su distribución en Sonora, las poblaciones de *P. pringlei* son trioicas, mientras que al sur son ginodioicas (Figura 1, Tabla 1).

Figura 1. Distribución geográfica de la cactácea *Pachycereus pringlei* a lo largo del desierto de Sonora, México. Referirse a la Tabla 1 para ver las frecuencias sexuales de cada una de las poblaciones.

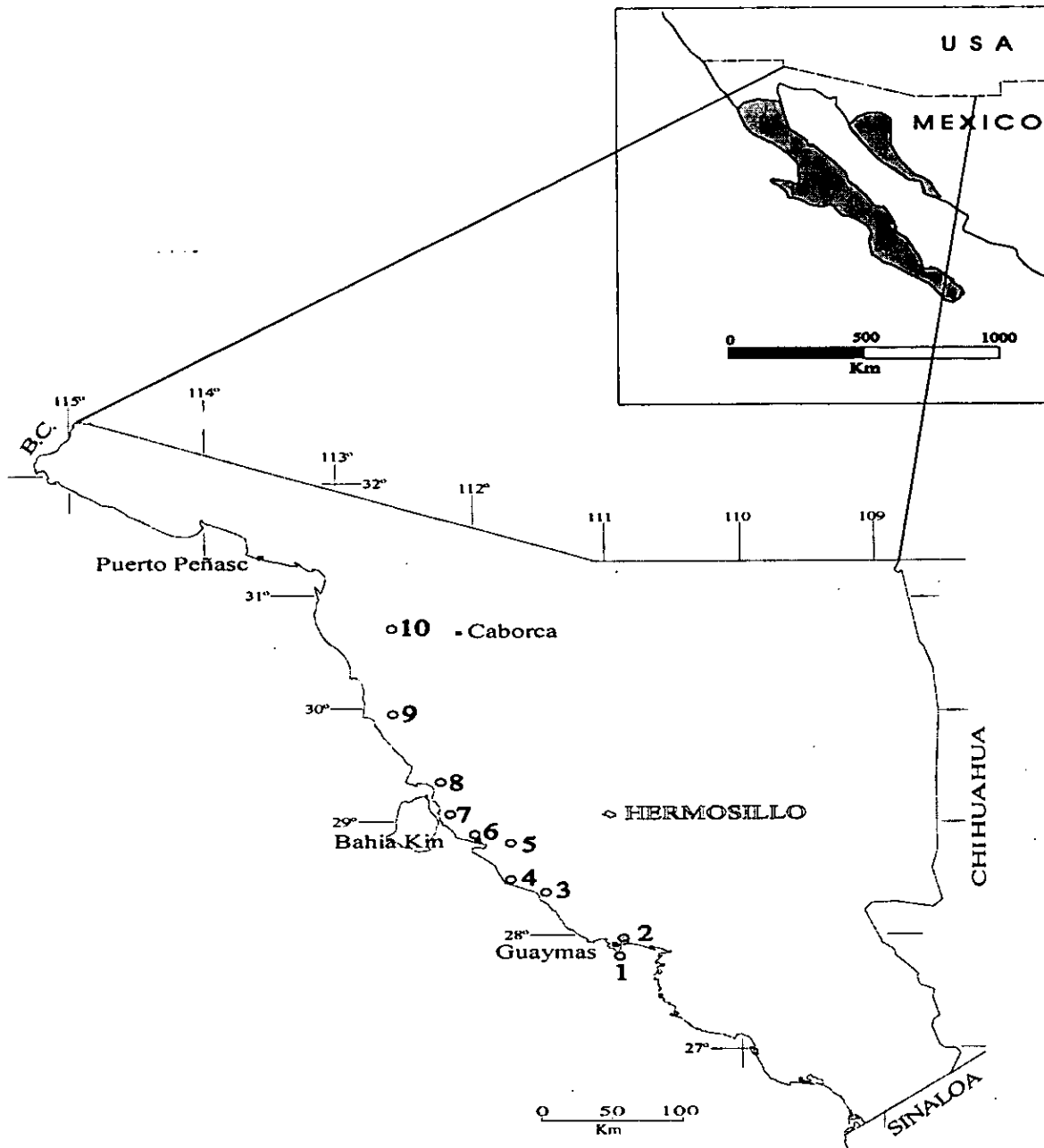


Tabla 1.- Distribución de frecuencias de sexos en 10 poblaciones de *Pachycereus pringlei* de la costa del estado de Sonora. En el primer renglón aparece el porcentaje y en el segundo el número de individuos observados. Lat.= Latitud; Long.=Longitud; Herma=Hermafroditas; Hep=Hermafroditas con esterilidad masculina parcial; N= Tamaño de muestra. Información tomada de F. Molina-Freaner (datos no publicados).

Población	Lat. y Long.	Herma (%)	Hembras (%)	Machos (%)	Hep (%)	Esteriles (%)	N
1.- Isla Tío Ramón	27°56.19' N 110°51.20' O	82.50% (66)	12.50% (10)	0.0	5.00% (4)	0.0	80
2.- El Sahuaraal*	27°59.45' N 110°50.49' O	75.69% (137)	16.57% (30)	0.0	7.73% (14)	0.0	181
3.- Puerto Arturo	28°25.69' N 111°25.00' O	72.44% (71)	27.55% (27)	0.0	0.0	0.0	98
4.- El Cardonal	28°28.01' N 111°40.35' O	70.00% (49)	25.71% (18)	0.0	4.29% (3)	0.0	70
5.- San Nicolás*	28°49.78' N 111°48.37' O	43.75% (42)	28.12% (27)	25.00% (24)	3.12% (3)	0.0	96
6.- Bahía Kino	28°51.96' N 111°59.77' O	33.68% (32)	34.73% (33)	26.31% (25)	4.21% (4)	1.05% (1)	95
7.- El Sacrificio*	29°05.74' N 112°08.04' O	25.89% (29)	40.17% (45)	24.10% (27)	9.82% (11)	0.0	112
8.- San Gabriel*	29°23.13' N 112°13.17' O	10.43% (12)	40.87% (47)	40.87% (47)	6.95% (8)	0.87% (1)	115
9.- Puerto Libertad	29°58.40' N 112°29.58' O	38.00% (38)	27.00% (27)	19.00% (19)	15.00% (15)	1.00% (1)	100
10.- El Alamo	30°43.06' N 112°41.36' O	46.53% (47)	30.69% (31)	11.88% (12)	10.89% (11)	0.0	101

* Poblaciones en las que se llevó a cabo el presente trabajo.

El caso de *pachycereus pringlei*

Distintos estudios realizados en la cactácea *P. pringlei* se han enfocado en 1) estimar la adecuación relativa de las distintas clases sexuales para tratar de explicar el mantenimiento de la trioecía; y 2) explicar la variación geográfica de las frecuencias sexuales en *P. pringlei*. Estos puntos se explican a continuación:

1) Según los modelos nucleares sobre la evolución del dioicismo, el androdioicismo o ginodioicismo sólo se puede mantener si la adecuación relativa de los unisexuados es por lo menos dos veces mayor que la de los hermafroditas, lo cual puede ser facilitado si el producto de la autopolinización y depresión por endogamia provocan una disminución en la adecuación de los hermafroditas (Charlesworth y Charlesworth, 1978). En una población de *P. pringlei*, Fleming et al. (1994) estimó que la adecuación relativa de las hembras y machos, con respecto a la de los hermafroditas, fluctúa entre 1 y 1.8 veces, de forma que los resultados obtenidos no explican el mantenimiento de la trioecía en esta especie, pues la adecuación relativa de las clases unisexuales no duplica la de los hermafroditas, lo que probablemente se deba a que en su estudio no contempló la variación geográfica de esos parámetros. En otro estudio se detectó que los hermafroditas presentaron una tasa de entrecruzamiento de 0.301, lo cual indica que la autopolinización es algo frecuente en los hermafroditas de esta especie (Murawski et al., 1994).

F. Molina-Freaner estudió durante dos años las adecuaciones relativas de los tres morfos sexuales en cuatro poblaciones con frecuencias contrastantes de sexos (datos no publicados). Resultados preliminares sugieren que la adecuación relativa de machos y hembras es mayor que la de los hermafroditas (1.83-9.3 para las hembras y entre 1.1 - 2 para los machos). A diferencia de los datos obtenidos por Fleming, et al. (1994), estos resultados pueden explicar el mantenimiento de las hembras, pero no la de los machos en poblaciones hermafroditas, debido a que su adecuación no alcanza el límite requerido por el modelo.

Sin embargo, no se ha estudiado la variación geográfica de las tasas de entrecruzamiento en los hermafroditas entre poblaciones con distintas frecuencias

sexuales, ni el posible papel que juega la depresión por endogamia. Con ello se obtendría un panorama más completo de la variación geográfica de los componentes de la adecuación y su influencia en la evolución y mantenimiento del ginodioicismo.

2) Experimentos de exclusión de polinizadores, realizadas en una población de *P. pringlei*, indicaron que el murciélago *L. curasoae* fue el responsable de que el 89% de las flores nocturnas se transformaran en frutos, en hembras y hermafroditas (Fleming et al., 1996). Adicionalmente, el murciélago *L. curasoae* resultó significativamente más eficiente como polinizador que las aves, aunque estas últimas fueron las responsables de que el 66% de las flores se transformaran en frutos. En 1990, en la misma población, experimentos de polinización manual en hembras y hermafroditas de *P. pringlei*, mostraron evidencia de limitación por polinizadores en las hembras (las flores polinizadas manualmente produjeron 2 veces más frutos que las flores polinizadas naturalmente, 73% vs 35% respectivamente). En los hermafroditas las polinizaciones manuales no provocaron un incremento en la producción de frutos, sin embargo, se detectó que en total ausencia de polinizadores los hermafroditas son capaces de transformar el 8% de las flores en frutos (autopolinización autónoma), lo que muestra que la eficiencia reproductiva de las hembras depende más de la presencia del polinizador nocturno que los hermafroditas, debido a que estos pueden llevar a cabo polinización autónoma (Fleming et al., 1994).

En el mismo estudio se encontró que en machos y hermafroditas el número de granos de polen producidos por flor es muy similar, aunque los machos producen más flores que los hermafroditas, de forma que la producción total de polen en los machos es 1.52 veces mayor que la de los hermafroditas por estación (Fleming et al., 1994). Estos autores lograron detectar que aún cuando existen diferencias en la masa, longitud, concentración de azúcares y producción de néctar entre las flores de hembras, machos y hermafroditas, el murciélago (*L. curasoae*) no tiene una preferencia especial por las flores de las distintas clases sexuales.

Es importante señalar que el número poblacional del quiróptero *L. curasoae* es inestable y que sus poblaciones naturales aparentemente se han visto reducidas en Estados Unidos de Norteamérica y México (Cockrum y Petryszyn, 1991; en Fleming et

al., 1996), a tal grado que en Estados Unidos se encuentra en el estatus de especie amenazada (Shull, 1988; en Fleming et al., 1996).

Estos descubrimientos sugieren que la variación en la disponibilidad del polinizador nocturno (*Leptonycteris curasoae*) entre poblaciones de *P. pringlei*, podría afectar la adecuación de machos y hembras de una manera más intensa que en los hermafroditas, lo que mostraría una correlación entre la abundancia del polinizador y la adecuación de las clases unisexuales (Fleming et al., 1994).

HIPÓTESIS DE LA "ABUNDANCIA DEL POLINIZADOR NOCTURNO"

Debido a que la adecuación de machos y hembras de *P. pringlei* parece ser mucho más dependiente de la disponibilidad de polinizadores que la de los hermafroditas, si se cumplen las condiciones para que el dimorfismo sexual se fije, los machos y hembras deberían ser más frecuentes en aquellas poblaciones donde los polinizadores nocturnos sean más abundantes. De la misma forma, los hermafroditas serán más frecuentes en aquellas poblaciones donde se presente limitación por polinizadores, dada su capacidad de autopolinización (Fleming et al., 1994). De esta forma, la hipótesis predice que *P. pringlei* tendrá un sistema reproductivo trioico en áreas de alta abundancia de polinizadores y que las poblaciones ginodioicas (o hermafroditas) prevalecerán en áreas de baja abundancia de murciélagos (Fleming et al., 1998).

Fleming et al. (1998) pusieron a prueba la predicción de la hipótesis de la "abundancia del polinizador nocturno" en varias poblaciones ginodioicas y trioicas distribuidas a lo largo de Sonora y Baja California, y encontraron que efectivamente la mayoría de las poblaciones trioicas se encuentran relativamente cerca de las cuevas de los murciélagos, dentro de un radio de 50 kilómetros, mientras que la mayoría de las poblaciones ginodioicas se encuentran distribuidas en un radio mayor (Fleming et al., 1998). También se detectó que la tasa de visita de los polinizadores nocturnos aumenta con la cercanía de los refugios de *L. curasoae* a las poblaciones de *P. pringlei*.

Fleming et al. (1998) también exploraron la posibilidad de que la variación

)

geográfica en la frecuencia de sexos estuviera relacionada con patrones de variación genética y flujo génico entre poblaciones. Los altos valores de Nm (número de migrantes por generación), como una forma indirecta de medir el flujo genético, mostró que tanto en Sonora ($Nm = 4.52$) como en Baja California ($Nm = 4.17$), el flujo genético entre poblaciones es muy alto. De esta forma, la distribución geográfica de los sexos de *P. pringlei* actualmente se explica mejor por la hipótesis de la "abundancia del polinizador nocturno" *L. curasoae* (Fleming et al., 1998). Sin embargo, esta nunca ha sido puesta a prueba directamente en el campo y la evidencia disponible que la apoya es realmente circunstancial.

La hipótesis de la "abundancia del polinizador nocturno" tiene varias implicaciones no explícitas por Fleming y sus colaboradores. Si esta hipótesis es cierta, la variación de la disponibilidad de polinizadores tendrá distintas consecuencias sobre la adecuación de las clases sexuales entre poblaciones. Para someterla a prueba y detectar cuales de los parámetros propuestos por los modelos nucleares están jugando un papel relevante en el mantenimiento del ginodioicismo, y si su importancia es la misma en distintas poblaciones, se estudian la adecuación y sus componentes (proporción de flores transformadas en frutos, número de semillas producidas por fruto y peso de las semillas) en hembras y hermafroditas y la tasa de entrecruzamiento en los hermafroditas en cuatro poblaciones de *Pachycereus pringlei* con frecuencias contrastantes de sexos.

PREDICCIONES

La hipótesis de la "abundancia del polinizador nocturno" establece que la alta frecuencia de unisexuados se encuentra asociada a una mayor disponibilidad de polinizadores, por ello, se espera que la adecuación absoluta de las hembras (medida por el producto de la proporción de flores transformadas en frutos, número de semillas producidas y total de frutos producidos por polinizaciones manuales y controles) aumente con respecto a la de hermafroditas en poblaciones con mayor frecuencia de

unisexuados. Se espera también que en poblaciones con baja frecuencia de unisexuados, donde se supone una baja disponibilidad de polinizadores, la producción de frutos de las hembras se encuentre limitada por polinizadores y no así la de hermafroditas, dada su capacidad de autopolinización, así mismo, se espera que la tasa de entrecruza de los hermafroditas sea menor conforme disminuya la frecuencia de unisexuados.

Considerando que en especies autotetraploides el efecto de la depresión por endogamia es muy baja (ver introducción) y que se ha detectado que *P. pringlei* presenta cierto grado de autopolinización, se espera que en los hermafroditas el producto de la autopolinización y depresión por endogamia no sea importante. Por otro lado, se espera que la ventaja reproductiva de las hembras cumpla con lo requerido por el modelo evolutivo del ginodioicismo de Charlesworth y Charlesworth (1978) en las poblaciones donde la eficiencia reproductiva de las hembras no se encuentre limitada por polinizadores.

OBJETIVOS

Generales

Someter a prueba la hipótesis de la abundancia del polinizador nocturno, mediante el estudio de los componentes de la adecuación en hembras y hermafroditas de *Pachycereus pringlei*, en cuatro poblaciones con frecuencias contrastantes de sexos, y tratar de explicar el mantenimiento de la esterilidad masculina en cada una estas.

Particulares

1) Estimar la proporción de flores transformadas en frutos, para determinar si la producción de frutos está limitada por polinizadores en hembras y hermafroditas, y estimar si la eficiencia reproductiva de las hembras es más dependiente del polinizador

nocturno y si el nivel de limitación es el mismo en cuatro poblaciones con frecuencias contrastantes de sexos.

El conocimiento de este proceso nos dará una idea muy clara del papel que juega el polinizador en la adecuación relativa de hembras y hermafroditas y en la determinación de la frecuencia de sexos en las distintas poblaciones. Se podría saber, por una parte, si el murciélago *Leptonycteris curasoae* está actuando como un factor de selección sobre las clases sexuales de estas poblaciones y, por otra, si el murciélago está cumpliendo eficientemente su función como polinizador, es decir, si está dejando flores sin polinizar.

2) Estimar la proporción de flores transformadas en frutos, el número y peso promedio de semillas producidas por fruto en hembras y hermafroditas, y estimar las tasas multiloci de entrecruzamiento en hermafroditas, para estimar la adecuación absoluta y la ventaja de la fecundidad de las hembras con respecto a la de hermafroditas (kh) y determinar si estas se ajustan a lo planteado por el modelo evolutivo del ginodioicismo, para explicar la existencia de la trioecia en cuatro poblaciones con frecuencias contrastantes de sexos.

El conocimiento de la variación geográfica de las tasas de entrecruza nos permitirá conocer si existe alguna relación entre los niveles de limitación por polinizadores y los niveles de autopolinización en hermafroditas.

MATERIAL Y MÉTODOS

Áreas de estudio

Debido a la distribución geográfica de la frecuencia de sexos en *P. pringlei*, se escogieron cuatro poblaciones que consideran todo el espectro de variación en las frecuencias de sexos, presentes en el rango de variación geográfica de esta especie (Figura 1).

El trabajo de campo se realizó en cuatro poblaciones donde se determinaron las frecuencias de sexos a partir de una muestra de 115 individuos para San Gabriel (SG), 102 para El Sacrificio (SAC), 96 para San Nicolás (SN) y 97 para El Sahuaral (SAH) (Molina-Freaner, datos no publicados) (Tabla 1).

La vegetación de los cuatro sitios de estudio corresponde al matorral xerófilo característico de la Costa Central del Golfo. Las especies más comunes en estas áreas fueron *Bursera microphylla*, *Jatropha* spp., *Larrea tridentata*, *Cercidium microphyllum* y *Olneya tesota*. Otras cactáceas de estos sitios fueron *Carnegiea gigantea*, *Stenocereus thurberi*, *Stenocereus gummosus*, *Stenocereus alamosensis*, *Opuntia bigelovii* y *Opuntia fulgida*.

Pachycereus pecten-aboriginum y *P. pringlei* cohabitan en El Sahuaral, población bastante perturbada debido a que a sus alrededores se encuentra un basurero y un camino transitado. La población San Nicolás se encuentra a un costado de la carretera que une a la ciudad de Hermosillo con Bahía Kino, este lugar se está menos perturbado, aunque algunos individuos *Olneya tesota* (Palo fierro) son cortados por los habitantes, al igual que algunos brazos de *P. pringlei*. La población El Sacrificio, está ubicada dentro de un rancho con el mismo nombre, muy cerca de la población Seri de Punta Chueca, y está muy bien conservada. En San Gabriel ocurre lo mismo, se encuentra en el interior de un rancho cinegético a pocos kilómetros de la costa.

El trabajo de campo se dividió en tres etapas:

- 1) Polinizaciones manuales durante el mes de abril.
- 2) Evaluación de los efectos de las polinizaciones manuales, a finales de mayo.
- 3) Colecta de los frutos, en el mes de junio.

Especie de estudio

Pachycereus pringlei es una cactácea autotetraploide (Murawski et al., 1994), trioica y cuyas frecuencias sexuales presentan variación geográfica (Fleming et al., 1998; Molina-Freaner, datos no publicados) (Figura 1).

El cardón presenta un hábito columnar arborescente, candelabriforme, con ramas gruesas de hasta 15 m de altura y de 11 a 15 costillas en individuos adultos (Bravo-Hollis, 1978). Se encuentra restringida al desierto sonorense a lo largo de toda la península de Baja California (hasta 31.2° N), las islas del golfo y desde el sur del estado de Sonora (27.6° N) hasta cerca del poblado Pitiquito, aproximadamente a 31° N (Turner, et al., 1995). Sus poblaciones se encuentran en una franja relativamente ininterrumpida (Turner et al., 1995) y próximas a las costas del Pacífico (Bravo-Hollis, 1978; Turner et al., 1995).

Las areolas están protegidas por un fieltro moreno, generalmente conectadas por un surco (Bravo- Hollis, 1978); sus espinas varían en número, estructura y longitud (*Ibidem*). La floración se da a lo largo de las costillas en los dos metros más cercanos al ápice. Las areolas florales se caracterizan por no presentar espinas y ser más grandes (*Ibidem*).

Los botones florales son verdosos y cubiertos de fieltro color amarillo moreno; el fruto es seco y globoso, de 5 a 7cm de diámetro, y cubierto con fieltro amarillo moreno; las semillas son grandes, color negro, de testa delgada y comestibles (*Ibidem*).

La época de floración va de finales de marzo a principios de Junio, y su pico de floración es entre finales de abril y mediados de mayo (Fleming, et al., 1994). Su flor es de color blanca y abre poco después de que anochece, manteniéndose abierta menos de 18 horas (Fleming, et al., 1998).

Limitación por polen y eficiencia reproductiva

En cada población se eligieron, de manera azarosa, 20 hembras y 20 hermafroditas, a los que se aplicaron los siguientes tratamientos: 1) Entrecruzamiento, 2) Control y 3) Autopolinización manual de las flores (únicamente en hermafroditas).

Los tratamientos se realizaron el mes de abril de 1998, en el pico de floración de cada una de las poblaciones, para asegurar que hubiera el mayor número de flores y polinizadores y, por lo tanto, tener datos más reales acerca de la eficiencia reproductiva del murciélago *Leptonycteris curasoae*.

En cada individuo se utilizaron cuatro flores, para cada uno de los tratamientos, y fueron identificados según el color de un banderín, colocado próximo a la areola de la flor tratada (sin dañarla). Los banderines fueron hechos con alambre de acero y un aro de plástico.

En San Nicolás los tratamientos se realizaron los días 1, 2, 3 y 4; en El Sacrificio los días 20, 21 y 22; en El Sahuaral los días 24, 25 y 26; y en San Gabriel el 28, 29 y 30 de abril.

1) Entrecruzamiento

Los botones florales fueron marcados y embolsados con malla de tul, antes de que abrieran (entre las 16:00 y las 18:00 horas). Una vez abiertos (19:30 horas) la malla de tul se retiró para realizar la polinización manual con polen de otra planta. La flores no fueron embolsadas nuevamente.

La elección de los donadores de polen se llevó a cabo de acuerdo a los siguientes criterios:

- Cada día, se escogieron como donadores a aquellos individuos machos y hermafroditas que durante la noche fueran a producir más de seis flores. Con el total de donadores seleccionados se realizó un sorteo para escoger a los 20 individuos que durante la noche serían utilizados.
- Cada donador fue utilizado para realizar la polinización manual en dos individuos receptores, hembra o hermafrodita.

- Para disminuir la probabilidad de endogamia, siempre se evitó que en los días subsiguientes se repitiera el donador para un mismo individuo.

De los individuos donadores se tomó un botón floral, poco antes de que abriera, y en su base se pegó cinta adhesiva con un número que lo identificaba, se guardó en una bolsa de plástico para evitar la mezcla de polen entre donadores. Antes de realizar los tratamientos de polinización, la flor era cortada en cuatro partes con una navaja y uno de estos cuartos se utilizó como pincel para saturar de polen el estigma del receptor.

2) Control

Los botones florales fueron únicamente marcados.

3) Autopolinización (Geitonogámica)

Los botones florales fueron marcados y embolsados con malla de tul antes de que abrieran (entre las 16:00 y las 18:00 horas) para evitar la entrada de polen de algún coespecífico. Una vez abiertas (19:30 horas), la malla de tul fue retirada y se realizó la polinización manual, con polen fresco de una flor de la misma planta. Terminado este proceso se volvió a colocar la malla de tul y no fue retirada hasta el día siguiente (cuando la flor tratada se encontraba cerrada).

En algunas ocasiones la producción de flores era insuficiente para utilizar alguna como donadora, en estos casos el estigma de la flor fue manipulado para que entrara en contacto con las anteras, con polen fresco de la misma flor.

Se procuró realizar los tratamientos de autopolinización y entrecruzamiento en flores que estuvieran relativamente lejanas entre sí, para evitar que al autopolinizar el polen contaminara al entrecruzamiento. Con la misma finalidad, primero se realizaron los tratamientos de entrecruzamiento, para dejar saturado el estigma de esta flor y disminuir así la probabilidad de que granos de polen del mismo individuo entraran en contacto con el estigma.

A finales del mes de mayo se regresó a cada una de las poblaciones y se registró la proporción de flores transformadas en frutos para cada uno de los tratamientos en hembras y hermafroditas. En San Nicolás y El Sacrificio los datos se

tomaron el 23 de mayo, mientras que en El Sahuaral el día 25 y en San Gabriel el 26 de mayo.

Para cada morfo sexual (hembras y hermafroditas de cada población) se calculó el promedio del cociente de flores transformadas en frutos ($\frac{\text{\#flores polinizadas transformadas en fruto}}{\text{\#flores polinizadas}}$) para cada tratamiento realizado (autopolinización, entrecruzamiento y control) y se calculó el error estándar.

Se considera que las hembras tienen una mejor eficiencia reproductiva si el incremento en la proporción de flores transformadas en frutos, en los tratamientos de estas, es significativamente mayor al de los hermafroditas. Por otro lado, una producción significativamente menor en los controles de ambos sexos, contrastados con los de entrecruza, podría ser evidencia de limitación por polinizadores.

Número de semillas por fruto (*Seed set*)

Aproximadamente dos meses después de la realización de los tratamientos de polinización (durante el mes de junio), se colectaron, en la medida de lo posible, dos frutos maduros por individuo de cada uno de los tratamientos realizados en hembras y hermafroditas, con los cuales se cuantificó el número de semillas producidas por fruto para cada clase sexual y tratamiento.

En San Nicolás se colectaron el día 12 de junio, en El Sacrificio el día 25, en San Gabriel el 27 y en El Sahuaral el 30 de junio. Se decidió colectar los frutos que aún no presentaban dehiscencia, para evitar un sesgo en el conteo de semillas debido al consumo por dispersores o por depredación. Una vez colectados, se hizo un pequeño corte en el fruto para constatar que la semilla estuviera madura (negra y brillante, F. Molina com. pers.). Los frutos fueron embolsados y marcados para identificar la población, el sexo y el individuo.

Fueron pocos casos en los que las flores control no produjeron frutos, en estos casos se colectaron frutos que tuvieran el mismo grado de madurez que los tratados, para asegurar que fueran frutos polinizados aproximadamente en las mismas fechas en que se realizaron los experimentos, evitando así sesgos en los resultados debidos a la

variación temporal del polinizador natural.

Para facilitar la extracción de las semillas, la pulpa de los frutos se expuso al sol durante un lapso de 10 horas a temperatura ambiente (la cual varió entre 35 y 50° C) para que la pulpa se secase, hubo casos en que fue necesario exponerlos otras diez horas. Para evitar la pérdida de semillas por aves, los frutos estuvieron protegidos dentro de un gallinero cubierto con malla-sombra negra, para disminuir la intensidad lumínica, y en el suelo se aplicó un pegamento para evitar la entrada de hormigas y ratones.

Una vez extraídas las semillas, para evitar el crecimiento de hongos, fueron lavadas con agua corriente y se dejaron secar para posteriormente almacenarlas en bolsas de papel marcadas con la población, el sexo, el número del individuo, el tratamiento y una letra identificando al fruto. Las bolsas se mantuvieron a temperatura ambiente y en un lugar seco. Hubo pocos casos en que las semillas estuvieron inmaduras, presentaban un color café claro, tamaño pequeño y planas, y fueron excluidas de los corrimientos electroforéticos.

En una balanza analítica (Mettler AE2000) se pesó una muestra aleatoria de cien semillas por cada fruto y luego se pesó el total de semillas del fruto. Con estos dos datos (peso de cien semillas y peso del total de semillas) se obtuvo por regla de tres el número total de semillas por fruto y el peso promedio por semilla, por fruto, de cada tratamiento, en cada población.

Adecuación absoluta y relativa de las clases sexuales

En cada población se estimó la adecuación absoluta de los tratamientos de polinización manual y controles, en cada una de las clases sexuales, para estudiar el efecto de la población, el sexo y el tratamiento, mediante análisis de varianza, con la siguiente fórmula:

$$\text{Adecuación absoluta} = \# \text{ de semillas por fruto} \times \text{peso de las semillas por fruto} \times \# \text{ frutos producidos por las flores polinizadas manualmente}$$

Con la misma fórmula se estimó la adecuación absoluta para ser evaluada en el modelo de Charlesworth y Charlesworth (1978), pero en este caso se utilizó el total de frutos producidos por las plantas. La adecuación relativa (W_r) entre clases sexuales para cada población, fue obtenida mediante el cociente:

$$\text{Adecuación relativa} = \frac{\text{Adecuación absoluta hembras}}{\text{Adecuación absoluta hermafroditas}}$$

Esta relación se estimó a partir de los tratamientos controles, reportando la adecuación absoluta y relativa de las hembras en condiciones naturales.

Depresión por endogamia

Se estimó la magnitud de la depresión por endogamia sobre la adecuación absoluta y cada uno de los componentes de la adecuación (# de semillas por fruto, peso de las semillas por fruto y # de frutos producidos), mediante la fórmula sugerida por Lande y Schemske (1985) (Nuñez-Farfán et al., 1996):

$$\delta = 1 - (\overline{\omega}_s / \overline{\omega}_o)$$

Donde $\overline{\omega}_s$ es el promedio de la adecuación de las autopolinizaciones y $\overline{\omega}_o$ el promedio de la adecuación de las entrecruzas. Por medio de la prueba de Tukey (HSD), se estimó si las medias de los valores son significativamente distintos de cero ($P < 0.05$).

Corrimientos electroforéticos

Durante los tratamientos de polinización se tomaron botones florales de las veinte hermafroditas tratadas. De cada botón se obtuvieron dos rodajas de la zona basal (zona que por su vivo color verde parecía presentar mayor actividad enzimática) con cuchillo o con navaja. Las rodajas fueron envueltas en papel aluminio marcado con la población y el número del individuo hermafrodita y guardadas en una bolsa de plástico

(cilíndrica y delgada) sellada con cinta adhesiva. Esta bolsa fue metida en una media que se introdujo en un contenedor de nitrógeno líquido para después ser almacenados en el laboratorio, en un ultracongelador (-80° C). Las muestras de tejido de algunas especies de la tribu Pachycereae se oxidan muy fácilmente, pudiendo afectar la actividad enzimática, por lo cual las muestras deben ser conservadas lo más pronto posible en nitrógeno líquido y posteriormente en un ultracongelador (Molina-Freaner, com. pers.).

De cada hermafroditas se seleccionaron dos frutos, producto de la polinización abierta (control), de los cuales se tomó azarosamente una muestra de treinta semillas en total; se remojaron en agua corriente durante veinticuatro horas, en vasos de precipitado, para estimular su germinación. Después de este tiempo, las semillas se pasaron a cajas de Petri con agar al 10% y se mantuvieron en una cámara de crecimiento a una temperatura de 25° C y en un ciclo de 12 horas en luz y 12 horas en oscuridad. El agar al 10% asegura que haya la humedad necesaria para que se lleve a buen fin la germinación. Las plántulas fueron monitoreadas constantemente hasta que los cotiledones estuvieron libres de la testa (un lapso de cinco días desde el remojo). En algunos casos fue necesario quitar la testa con pinzas, pues de no hacerlo uno de los cotiledones pudo resultar dañado.

Las extracciones del tejido adulto y de las plántulas, se realizaron en pequeños morteros de porcelana, que fueron puestos sobre bolsas de gel congelado para disminuir la degradación enzimática y mantener el tejido fresco. Con la ayuda de tubos de ensaye (de punta redonda) se maceró el tejido germinado; el tejido adulto se sujetó con pinzas mientras se realizaba el macerado, de lo contrario los mucilagos evitan que se lleve a buen término la extracción (R. Clark, com. pers). Antes del macerado se agregaron tres gotas del buffer de extracción de Mitton et al. (1979), hecho a base de polivinilpirrolidol (PVP), para una muestra de 1 cm por 0.5 cm de tejido materno. Para las plántulas se obtuvo mejor resolución con dos gotas y media sin importar su edad.

Una vez maceradas las muestras de tejido, se remojaron trozos de papel filtro ("Wicks") de 0.5 cm por 0.8 cm en la extracción, y posteriormente se guardaron en tubos "Eppendorf", ennumerados del uno al diez, que fueron colocados en pequeñas bolsas de plástico indicando el número de la madre y la población a la cual

pertenecían, para después ser almacenados en un ultracongelador a -80°C . En total se obtuvo una muestra de 20 hermafroditas y 200 plántulas (10 por madre) para cada una de las poblaciones.

Los geles se prepararon con almidón hidrolizado de papa, a una concentración del 12%, y con sacarosa al 5%, para dar mayor consistencia al gel. Hubo casos en que se obtuvo mejor resolución con 3% de sacarosa.

Con el tejido de las hermafroditas y las semillas germinadas de los frutos controles de las mismas, se afinó la metodología para estimar las tasas de entrecruzamiento mediante análisis isoenzimáticos en geles de almidón, siguiendo el mismo protocolo que Murawski et al. (1994) para el sistema 7 de Soltis (1983) (Apéndice A). Se obtuvo buena resolución en las enzimas PGI (Fosfoglucoisomerasa), MDH (Malato deshidrogenasa) y G6PDH (Glucosa-6 Fosfato deshidrogenasa), tanto en madres como hijos, para el sistema 7. Este sistema fue sometido a una corriente eléctrica de 300 Volts y un amperaje que varió entre 60 y 70 amp, ya que la fuente de poder era autoajutable. El sistema se mantuvo entre 18 y 21 Wats (Volts * Ampers/1000 = Wats).

El sistema se dejó correr 5 horas dentro de un refrigerador a 5°C y sobre el gel se colocaron bolsas de gel congelado (0°C) que se cambiaban cada dos horas para evitar un sobrecalentamiento del sistema y la posible desnaturalización de las enzimas. A veces fue necesario dejar correr el sistema otra hora más para permitir que los alelos de la MDH se separaran mejor.

Inicialmente se obtuvo buena resolución para la ACPH (fosfatasa ácida), pero esta enzima parece perder actividad cuando los "Wicks" pasan más de dos días almacenados en el ultracongelador, por lo que no se incluyó.

En total se analizó el genotipo de veinte hermafroditas y diez plántulas descendientes de cada una para cada población, es decir, un total de doscientas plántulas por población.

Lectura de geles y tasas de entrecruzamiento

Antes de estimar las tasas de entrecruzamiento se realizaron corrimientos electroforéticos en la progenie de dos madres de genotipo conocido, para determinar la herencia de la enzima G6PDH. Este paso fue necesario debido a que el modelo para estimar las tasas de entrecruzamiento asume que las aloenzimas presentan herencia tetrasómica (segregación azarosa de cromosomas en especies autotetraploides; Grant, 1975) sin que sufran una doble reducción. Murawski et al. (1994) mostraron que PGI y MDH tienen herencia tetrasómica, sin embargo, se desconoce si G6PDH tiene el mismo tipo de herencia. Se escogieron semillas provenientes de frutos que fueron producto de flores autopolinizadas de hermafroditas con genotipo heterocigoto balanceado (presencia de alelos distintos en igual combinación, i.e, aabb; Sahley, 1996); de esta forma el genotipo de 44 hijos, producto de la autopolinización (por madre), fue comparado con las frecuencias esperadas mediante una prueba de X^2 .

Las proporciones observadas se compararon con dos modelos genéticos diferentes de herencia tetrasómica: herencia tetrasómica sin doble reducción (segregación azarosa de cromosomas homólogos) y herencia tetrasómica con doble reducción (segregación azarosa de cromátidas; Husband y Schemske, 1997). Estos dos modelos corresponden a los patrones de herencia cuando hay cuatro cromosomas homólogos. Los resultados observados se ajustan a una herencia tetrasómica, aunque no fue posible comparar ambos modelos. Una muestra más grande nos habría permitido diferenciar si es cromosómica o si es una herencia azarosa de cromátidas (Apéndice B).

Las tasas de entrecruzamiento fueron estimadas por población, utilizando el programa MLTET elaborado por Ritland (1991), con el modelo de apareamiento mixto. Este modelo asume que los genotipos de la progenie son producto de autopolinización o bien de un entrecruzamiento azaroso, que el sistema de apareamiento es el mismo entre las madres y que los alelos presentan una herencia tetrasómica sin doble reducción (Husband y Schemske, 1997). Las tasas de entrecruzamiento fueron estimadas usando un total de tres loci en las madres y su progenie: PGI, MDH y G6PDH. En total se identificó el genotipo para estos tres marcadores en 20 madres y

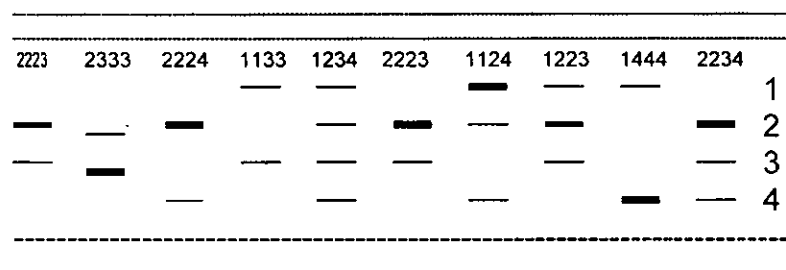
10 hijos por madre por población.

En el programa MLTET (Ritland, 1991) los datos deben estructurarse por familia. Debido a que los tetraploides tienen cuatro copias del gen en cada locus, a cada alelo se le asignó un número, partiendo del dos, en caso de que apareciera un alelo nuevo que sería asignado con el número uno. La primera columna denotaba el genotipo materno para los loci antes mencionados, las siguientes diez columnas correspondieron al arreglo genotípico de la progenie de dicha madre (figura 2).

Este programa usa un algoritmo de máxima verosimilitud para encontrar los estimadores y la X^2 , para comprobar que los datos se ajustan al modelo (Ritland, 1990).

Los errores estándar fueron calculados realizando 1000 "Bootstrap" y 25 iteraciones. El método del "Bootstrap" implica el continuo sorteo de los arreglos de la progenie, recomputación de las estimaciones y someter a examen la distribución de las estimaciones (Ritland, 1990).

Figura 2. Representación gráfica de un gel de almidón. Los números del primer renglón representan el genotipo materno y los subsecuentes el de la progenie. Los números a la derecha del cuadro representan los alelos.



Se reportan las tasas de entrecruzamiento para un locus (ts) y multilocus (tm).

Análisis estadístico

Para cumplir con los supuestos de normalidad, las variables de respuesta (proporción de flores transformadas en fruto, número de semillas por fruto y peso promedio de las semillas) se transformaron con el método Box-Cox, el cual estima la mejor transformación para que los residuales de las variables se ajusten a una distribución

normal. Los residuales de los tratamientos fueron analizados por separado y la normalidad se corroboró de acuerdo a la prueba de Shapiro-Wilk o Prueba de W.

Para el peso de las semillas, la Prueba de Box-Cox recomendó no transformar los datos, así, el tratamiento de entrecruzamiento se ajustó a una distribución normal ($P > W$) mientras que el tratamiento control no. Es posible que esto se deba al número de datos faltantes para este tratamiento. Por otra parte también son los datos con peso muy bajo, los que provocaron que la variable no se ajustara a una distribución normal.

Para el número de semillas por fruto tenemos el mismo caso que con el peso: la prueba de Box-Cox recomendó no transformar los datos. Al analizar los residuales resultó que el tratamiento entrecruzamiento sí se ajusta a una distribución normal ($P > W$), no así el tratamiento control ($P < W$).

En la variable proporción de flores transformadas en frutos, se rechaza la normalidad en ambos tratamientos ($P < W$), este rechazo no es tan grave, pues los residuales no se alejan mucho de las curvas de confianza. Para este caso Box Cox transformó los datos de la siguiente forma:

$$\frac{(\text{Frutos/flores} + 1 e^{0.4}) - 1}{0.6895749} = \text{Lamda}$$

Los datos obtenidos se analizan de acuerdo con un diseño de parcelas divididas. Este diseño es utilizado para estudiar dos o más factores (Sokal y Rohlf, 1969) y el principio que lo subyace es que hay veces en que algún factor requiere unidades experimentales (u.e.) muy grandes, debido a su propia naturaleza. En estos casos, si se quiere estudiar conjuntamente otro o más factores, se pueden subdividir las u.e grandes en u.e. más pequeñas, dando como resultado una estratificación de las unidades experimentales, gracias a la cual se puede obtener información de los tratamientos en los distintos niveles (Méndez, 1977) .

En este caso, la unidad experimental grande es la planta (con 20 repeticiones por cada sexo en cada población, que fueron tomadas aleatoriamente), siendo esta la principal unidad experimental; y cada planta está clasificada en dos sexos (hembras y hermafroditas) y en cuatro poblaciones. La unidad experimental más pequeña fue la flor

que recibió el tratamiento. Así, en este diseño tenemos tres factores fijos (Población, Sexo y Tratamiento) y uno aleatorio (planta).

Una ventaja es que con el diseño de parcela dividida (Split-Plot) se obtiene una mayor precisión en la comparación de u.e pequeñas (flores que recibieron el tratamiento, en nuestro caso) y una menor precisión al comparar las unidades experimentales mayores (plantas, en nuestro caso). Esto se debe a que en u.e pequeñas se tiene un mayor número de observaciones y el error hacia el interior de las u.e pequeñas es menor que el que existe entre u.e grandes (Méndez, 1977; Sokal y Rohlf, 1969), lo cual resulta ventajoso para nuestros objetivos.

La evaluación del efecto de las fuentes de variación (Población, Sexo, Planta y Tratamiento) sobre las variables de respuesta (Proporción de flores transformadas en frutos, Número de semillas por fruto y Peso promedio por semilla), se dividió en dos partes, uno para hembras y hermafroditas, las cuales comparten los tratamientos de entrecruzamiento y control, y otro para evaluar si existía depresión por endogamia (autopolinización vs. entrecruzamiento) en hermafroditas, estudiando el efecto de las fuentes de variación sobre las variables de respuesta. El tratamiento de autopolinización no existe en las hembras, por lo tanto, se tiene que evaluar de forma separada.

El diseño experimental para hembras y hermafroditas quedó como un diseño factorial de $4 \times 2 \times 2$ (cuatro poblaciones \times dos sexos \times dos tratamientos —entrecruzamiento y control—), mientras que el de los hermafroditas fue de 4×2 (cuatro poblaciones \times dos tratamientos —autopolinización y entrecruzamiento—), ambos diseños con un arreglo de parcelas divididas.

Con el siguiente modelo se realizó un análisis de varianza para evaluar el efecto de las fuentes de variación sobre la adecuación absoluta y sobre cada uno de los componentes de la adecuación por separado para los tratamientos de entrecruzamiento y control de hembras y hermafroditas:

Fuentes de Variación

Población

Sexo

Planta [Población, Sexo] (Random)

Tratamiento

Tratamiento*Población

Tratamiento*Sexo

Tratamiento*Sexo*Población

El modelo para los datos queda de la siguiente manera:

$$X_{ijks} = \mu + A_i + B_j + C_k + D_s [A_i, B_j] + C_k A_i + C_k B_j + C_k A_i B_j + e_{ijks}$$

En donde A_i , B_j , C_k representan el efecto de la población ($i=1,2,3,4$), el sexo (hembras y hermafroditas; $j=1, 2$) y el tratamiento (entrecruza y control; $k= 1,2$), respectivamente. $C_k A_i$ a $C_k A_i B_j$ representan las interacciones o el efecto de los tratamientos en los niveles i y k , $D_s [A_i, B_j]$ corresponde a la anidación de las plantas en sexo y población (este es considerado el error entre plantas) y e_{ijks} es el error entre las flores o unidades chicas.

En el caso de las hermafroditas se evaluó el efecto de las fuentes de variación sobre cada una de las variables de respuesta (sin considerar la adecuación absoluta), para los tratamientos de autopolinización, entrecruzamiento y control:

Fuentes de Variación

Población

Planta [Población] (Random)

Tratamiento

Tratamiento*Población

El modelo es el siguiente:

$$X_{ijks} = \mu + A_i + C_k + D_s [A_i] + C_k A_i + e_{ijks}$$

En ambos modelos el factor Planta se encuentra anidado, esto se debe a que la planta, dentro de este diseño experimental, es la única unidad de tratamiento que es propia a una población y a un sexo. El efecto aleatorio en el paréntesis se debe a que esta unidad experimental fue escogida al azar.

Se utiliza la prueba de t del programa JMP 3.0.1 (SAS Institute, 1995) para ver si las medias de la proporción de flores transformadas en frutos, el peso y el número de las semillas por fruto, son significativamente distintas, dentro y entre sexos, así como entre tratamientos hacia el interior de cada sexo. Además se usaron pruebas ortogonales (F) para contrastar más de dos unidades experimentales.

RESULTADOS

Hembras y Hermafroditas

Adecuación

El modelo utilizado para el análisis de varianza de hembras y hermafroditas explica el 59.92% de la variación de la adecuación (Apéndice B).

En términos generales, la adecuación de las hembras fue significativamente mayor a la de los hermafroditas (Tabla 2; $F = 5.419$, $P = 0.0211$), y aunque dicha diferencia se mantiene constante en todas las poblaciones (Población x Sexo, $F = 0.6548$, $P = 0.5811$), no en todas la diferencia es significativa (Figura 3). Este comportamiento se debe principalmente a que las hembras presentaron en general una mayor proporción de flores transformadas en frutos y semillas más pesadas en todas las poblaciones (ver sección flores transformadas en frutos y peso de las semillas).

Tabla 2. Adecuación de las clases sexuales de la Cactácea *P. pringlei*.

Sexo	Adecuación	Err Std
Hembras	0.240678	0.0191
Hermafroditas	0.159558	0.0241

Existe una gran variación en la adecuación de las plantas, dependiendo de la población y el sexo al que pertenezcan (Planta [Población, Sexo] $F = 3.1699$, $P = 0.0000$; Apéndice B).

El efecto de los tratamientos de polinización sobre la adecuación varía significativamente entre poblaciones (Tratamiento x Población, $F = 4.4299$, $P = 0.0060$). Las pruebas de t mostraron que dicha variación se debe a que en San Gabriel los tratamientos de entrecruza tienen, significativamente, mayor adecuación que los controles (Entrecruza = 0.2558, Control = 0.1433; $t = 2.8382$, $P = 0.0056$), lo que se debe al bajo cociente de frutos/flores que presentaron los controles de ambos sexos en esta población.

El efecto de los tratamientos tiene una gran variación, dentro y entre sexos, en las distintas poblaciones (Tratamiento x Sexo x Población, $F = 8.0696$, $P = 0.0000$, Apéndice B). Hacia el interior de los sexos se detectó que en las hembras de El Sahuaral, la adecuación de los tratamientos de entrecruza es significativamente menor a la de los controles ($t = 4.154$, $P = 0.0000$), mientras que en San Nicolás la adecuación de las entrecruzas es significativamente mayor a la de los controles ($t = 2.92271$, $P = 0.0043$).

En los hermafroditas sólo se detectaron diferencias significativas en la población San Gabriel, en donde los tratamientos de entrecruza tuvieron significativamente mayor adecuación que los controles ($t = 2.9115$, $P = 0.0045$). Diferencias en la adecuación entre sexos, se detectaron para las poblaciones El Sahuaral y San Nicolás, en ambos casos la adecuación de las hembras fue significativamente mayor a la de los hermafroditas; para la primera población la diferencia se dio sólo entre los controles (Hembras = 0.3396 ± 0.0293 , Hermafroditas = 0.04394 ± 0.0309 ; $t = 6.935$, $P = 0.0000$), mientras que en San Nicolás la diferencia fue en los tratamientos de entrecruza (Hembras 0.2762 ± 0.0333 , Hermafroditas = 0.2234 ± 0.0478 ; $t = 3.1$, $P = 0.0026$) (Figura 3;

Apéndice C).

Mediante pruebas de F se pudo detectar que en condiciones naturales (controles) las hembras de El Sahuaral presentan una adecuación significativamente mayor a la de las hembras de San Nicolás, El Sacrificio y San Gabriel ($F = 19.0836$, $P = 0.0000$), mientras que entre las otras poblaciones no se detectaron diferencias significativas. En condiciones naturales, se detectó que la adecuación por la vía femenina de los hermafroditas de la población El Sahuaral fue significativamente menor a la de los hermafroditas de las poblaciones San Nicolás y El Sacrificio ($F = 10.6036$, $P = 0.0015$); mientras que entre las hermafroditas de las otras poblaciones no se detectaron diferencias estadísticamente significativas.

Básicamente, toda la variación de la adecuación entre sexos y al interior de estos, se debió a las variaciones encontradas en la proporción de flores transformadas en frutos y en el peso de las semillas.

Componentes de la adecuación

Proporción de flores transformadas en frutos (Fruit set)

El modelo utilizado para el análisis de varianza de hembras y hermafroditas explica el 70.87% de la variación de la proporción de flores transformadas en frutos (Apéndice B).

La proporción de flores transformadas en frutos, varía significativamente entre las poblaciones ($F = 3.9080$, $P = 0.0101$, Apéndice B). Las pruebas de F mostraron que las plantas de El Sahuaral presentaron menor proporción de flores transformadas en frutos ($F = 11.5050$, $P = 0.0008$; Tabla 3), esto se debe a la baja proporción de frutos/flores que tuvieron los controles de los hermafroditas, ya que las hembras de esta población, en condiciones naturales, presentaron una proporción de frutos/flores muy similar al de las otras poblaciones, mientras que las proporciones de las otras poblaciones estuvieron alrededor del 50%, sin que las pruebas de F mostraran diferencias significativas entre ellas (Figura 4).

Tabla 3. Cuadro comparativo del promedio y error estándar de la eficiencia reproductiva (frutos/flores), número de semillas por fruto y peso de las semillas por población, considerando los tratamientos de polinización cruzada y control tanto de hembras como de hermafroditas, para la cactácea *P. pringlei*. El tamaño de la muestra está entre paréntesis.

Poblaciones	Frutos/Flores	Error estándar	No. Semillas	Error estándar	Peso semillas (g)	Error estándar
El Sahuaral	0.3186 (320) a	0.03640	1411.81 (58) a	50.2690	0.005886 (58) a	0.00013
San Nicolás	0.5018 (320) b	0.04059	1160.38 (64) b	55.0010	0.005097 (64) b	0.00016
El Sacrificio	0.5216 (320) b	0.03970	1185.54 (63) b	48.3000	0.004944 (63) b	0.00014
San Gabriel	0.5083 (320) b	0.04244	1099.46 (65) b	53.3350	0.004678 (65) b	0.00015

Promedios con letras iguales no difieren entre sí ($P > 0.05$), dentro de cada una de las variables explicativas. Promedios con letras diferentes, difieren entre sí ($P < 0.001$), dentro de cada una de las variables explicativas. La significancia fue obtenida mediante pruebas de *F*.

El sexo es otra fuente de variación ($F = 34.1723$, $P = 0.0000$, Apéndice B). En general, la proporción de flores transformadas en frutos de las hembras fue casi dos veces mayor que la de los hermafroditas (Tabla 4). Este comportamiento no cambia a lo largo de las poblaciones (Población x sexo, $F = 0.5359$, $P = 0.6584$, Apéndice B; Figura 2).

Tabla 4. Promedio y error estándar de la eficiencia reproductiva (frutos/flores), número de semillas y peso de las semillas entre hembras y hermafroditas, considerando sólo los tratamientos de polinización cruzada y control, para la cactácea *P. pringlei*. El tamaño de la muestra está entre paréntesis.

Sexo	Frutos/Flores	Error estándar	No. Semillas	Error estándar	Peso semillas (g)	Error estándar
Hembras	0.5923 (640) a	0.02563	1171.51 (141) a	45.815	0.00535 (141) a	0.00009
Hermafroditas	0.3329 (640) b	0.02822	1257.98 (109) a	31.575	0.004851 (109) b	0.00012

Promedios con letras iguales no difieren entre sí ($P > 0.05$), dentro de cada una de las variables explicativas. Promedios con letras diferentes difieren entre sí ($P < 0.0007$), dentro de cada una de las variables explicativas. La significancia fue obtenida mediante pruebas de *t*.

La respuesta a los tratamientos de polinización varía significativamente entre los individuos de distintas poblaciones y sexos (Planta [Población,Sexo], $F = 4.6062$, $P = 0.0000$, Apéndice B).

A nivel global, no se detectaron diferencias significativas entre los tratamientos

de entrecruzamiento versus control (Tratamiento, $F = 0.0307$, $P = 0.8612$, Apéndice B, Tabla 5), aunque sí se detectaron diferencias significativas entre tratamientos dentro de la mitad de las poblaciones (Tratamiento x Población, $F = 3.9620$, $P = 0.0094$, Apéndice B). Las pruebas de t mostraron que las diferencias fueron significativas en las poblaciones El Sahuaral ($t = 2.079$, $P = 0.0393$) y San Gabriel ($t = 2.2246$, $P = 0.0276$).

Tabla 5. Promedio y error estándar de la eficiencia reproductiva (frutos/flores), número de semillas y peso de las semillas entre los tratamientos polinización cruzada de hembras y hermafroditas vs controles de hembras y hermafroditas, tomando en cuenta todas las poblaciones de la cactácea *P. pringlei*. El tamaño de la muestra está entre paréntesis.

Tratamiento	Frutos/Flores	Error estándar	No. Semillas	Error estándar	Peso semillas (g)	Error estándar
Entrecruzamiento	0.4637 (640) a	0.02948	1245.82 (105) a	36.877	0.005081 (105) a	0.0001
Control	0.4615 (640) a	0.02822	1182.70 (145) a	37.757	0.005170 (145) a	0.00011

Promedios con letras iguales no difieren entre sí ($P > 0.05$) dentro de cada una de las variables explicativas. La significancia fue obtenida mediante pruebas de t .

La interacción Tratamiento x Sexo no fue significativa ($F = 1.5173$, $P = 0.2199$, Apéndice B), indicando que dentro de los sexos no se detectaron diferencias significativas entre los tratamientos de entrecruza y control (hembras: $t = -0.995$, $P = 0.3214$, Hermafroditas: $t = 0.7472$, $P = 0.4561$).

La interacción Tratamiento x Población x Sexo resultó significativa ($F = 3.5825$, $P = 0.0153$, Apéndice B) e indica que hay diferencias entre tratamientos dentro de los sexos, en al menos una población. En los hermafroditas, en ninguna de las poblaciones se detectaron diferencias significativas en la proporción de flores transformadas en frutos entre los tratamientos de entrecruza y control, lo que indica que en ninguna de las poblaciones los hermafroditas experimentaron limitación por polinizadores. Sólo en las hembras de San Gabriel se detectó que la proporción de flores transformadas en frutos de los controles (56.45 ± 0.07723) fue significativamente menor que la proporción alcanzada por las entrecruzas (72.75 ± 0.06771 ; $t = 2.4301$, $P = 0.0163$), lo que indica que en esta población las hembras experimentaron limitación por polinizadores (Figura 4). Por otro lado, las pruebas de t mostraron que en las hembras de El Sahuaral los

tratamientos de entrecruza (32.45 ± 0.06568) presentan significativamente menor número de flores transformadas en frutos que los controles (57.50 ± 0.07716 ; $t = 3.729$, $P = 0.0003$; Figura 4).

En todas las poblaciones la proporción de flores transformadas en frutos de los tratamientos de entrecruza y control de las hembras es significativamente mayor que la de los respectivos tratamientos en los hermafroditas (figura 4). En El Sahuaral la diferencia en las entrecruzas es 1.52 veces, mientras que en los controles es 3.53 veces; en San Nicolás son 2 y 1.93; en El Sacrificio 1.35 y 1.42, en San Gabriel 1.74 y 1.73 veces más, respectivamente. Estos datos muestran que la eficiencia reproductiva de las hembras, en condiciones naturales (diferencias encontradas entre los controles), es mayor que la de los hermafroditas y que la diferencia en la producción de frutos puede ser mayor si la carga de polen en el estigma de las hembras aumenta (Figura 4).

Número de Semillas por Fruto

El modelo aplicado para hembras y hermafroditas explicó un 71.32% de la variación en el número de semillas maduras por fruto (Apéndice B).

La población fue una importante fuente de variación para esta variable de respuesta ($F = 4.8198$, $P = 0.0031$, Apéndice B).

Si bien, fue la población El Sahuaral la que menor proporción de flores transformadas en frutos presentó, fue esta misma la que mayor número de semillas produjo, siendo esta diferencia, significativa con respecto a las otras poblaciones ($F = 11.9946$, $P = 0.0006$).

Las pruebas de F mostraron que no existen diferencias significativas en el número de semillas producidas por fruto entre las otras tres poblaciones. Sin embargo, la población que en promedio presentó el menor número de semillas por fruto fue San Gabriel (Tabla 3), lo cual puede estar asociado a diferencias poblacionales en el número de óvulos producidos, o bien a la limitación por polinizadores que se detectó en las hembras de esta población (Figura 5).

Figura 3. Promedio y error estándar de la adecuación° según sexo y tratamiento en cuatro poblaciones *P. pringlei*. (Diferencias significativas entre tratamientos del mismo sexo se muestran con letras iguales. Diferencias entre sexos, para los mismos tratamientos, se muestran con asterisco). La significancia fue obtenida mediante pruebas de *t* (Apéndice C).
 °Adecuación = número de frutos de la muestra x promedio de semillas por fruto x peso promedio de semillas.
 E= Entrecruzamiento; C= Control

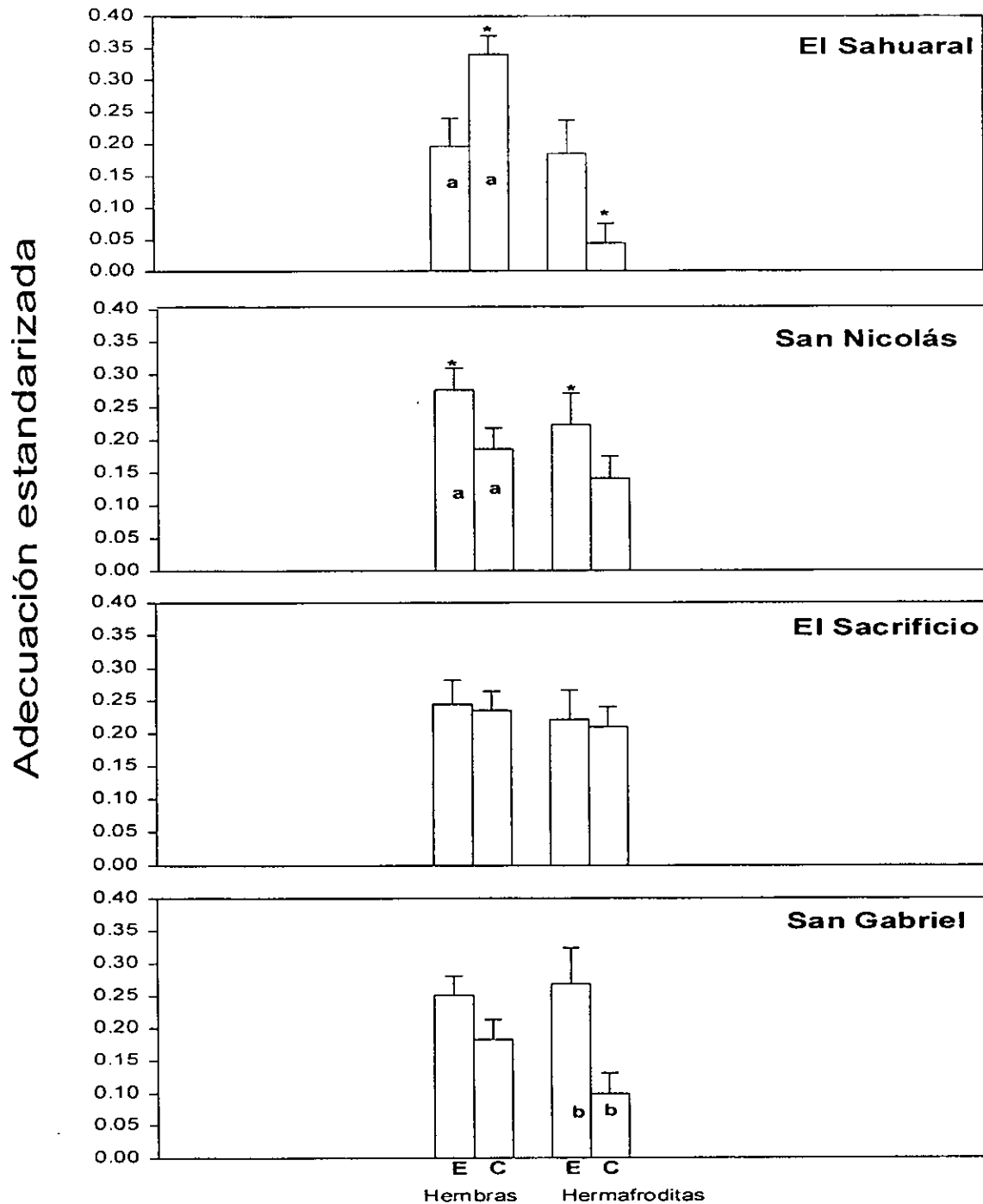
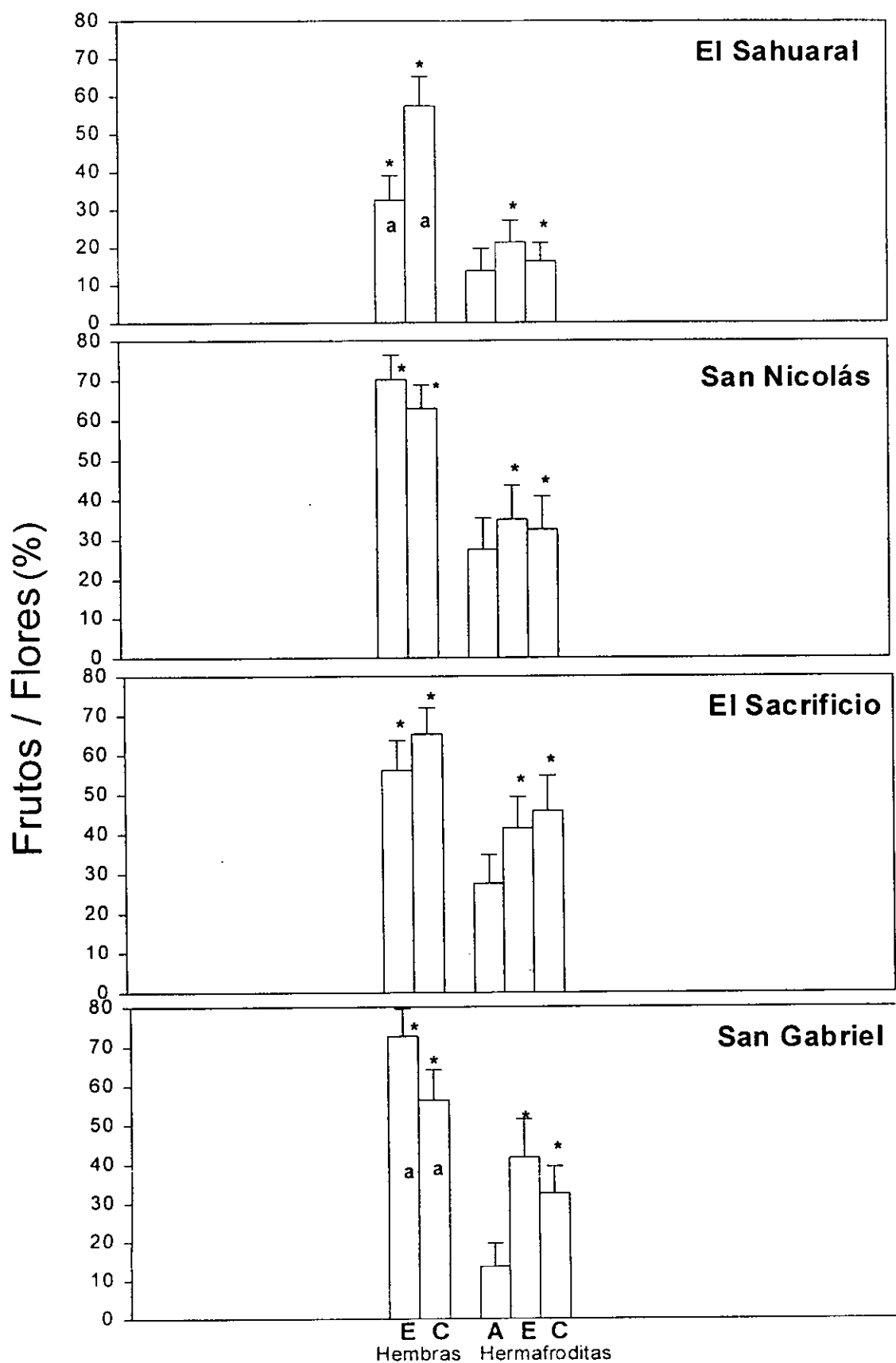


Figura 4. Proporción de flores transformadas en frutos (Frutos / Flores x 100) y error estándar según sexo y tratamiento en cuatro poblaciones de *P. pringlei*. (Diferencias significativas entre tratamientos del mismo sexo se muestran con letras iguales. Diferencias entre sexos, para los mismos tratamientos, se muestran con asterisco). La significancia fue obtenida mediante pruebas de *t* (Apéndice C). A= Autopolinización; E= Entrecruza; C= Control



Existe una gran variación en el número de semillas producidas por planta, dependiendo de la población y el sexo al que pertenezca ($F = 4.7730$, $P = 0.0000$, Apéndice B).

Ninguna de las otras variables explicativas del modelo fueron significativas ($P > 0.05$) como fuentes de variación del número de semillas producidas, lo que significa que, a nivel global, no existen diferencias en el número de semillas producidas por fruto entre tratamientos dentro y entre sexos en ninguna de las poblaciones aquí trabajadas (Apéndice B; Tabla 4; Tabla 5; Figura 5).

Peso de semillas

El modelo utilizado para esta variable de respuesta explica el 67.36% de la varianza en el peso promedio por semilla (Apéndice B).

Nuevamente la población es una fuente importante de la variación en el peso promedio por semilla (Población, $F = 8.9991$, $P = 0.0000$, Apéndice B). La población El Sahuaral tuvo un peso promedio por semilla significativamente mayor al de las otras tres poblaciones (Figura 6; Tabla 3). Las pruebas de F mostraron que esta variable de respuesta no varía significativamente entre San Nicolás, El Sacrificio y San Gabriel.

Aunque no hay evidencia estadística, parece haber una tendencia a que el peso promedio por semilla vaya disminuyendo latitudinalmente: El Sahuaral, la población más al sur, es la población que presenta mayor peso por semilla, mientras que San Gabriel, la población más al norte, presenta el menor peso por semilla (Tabla 3).

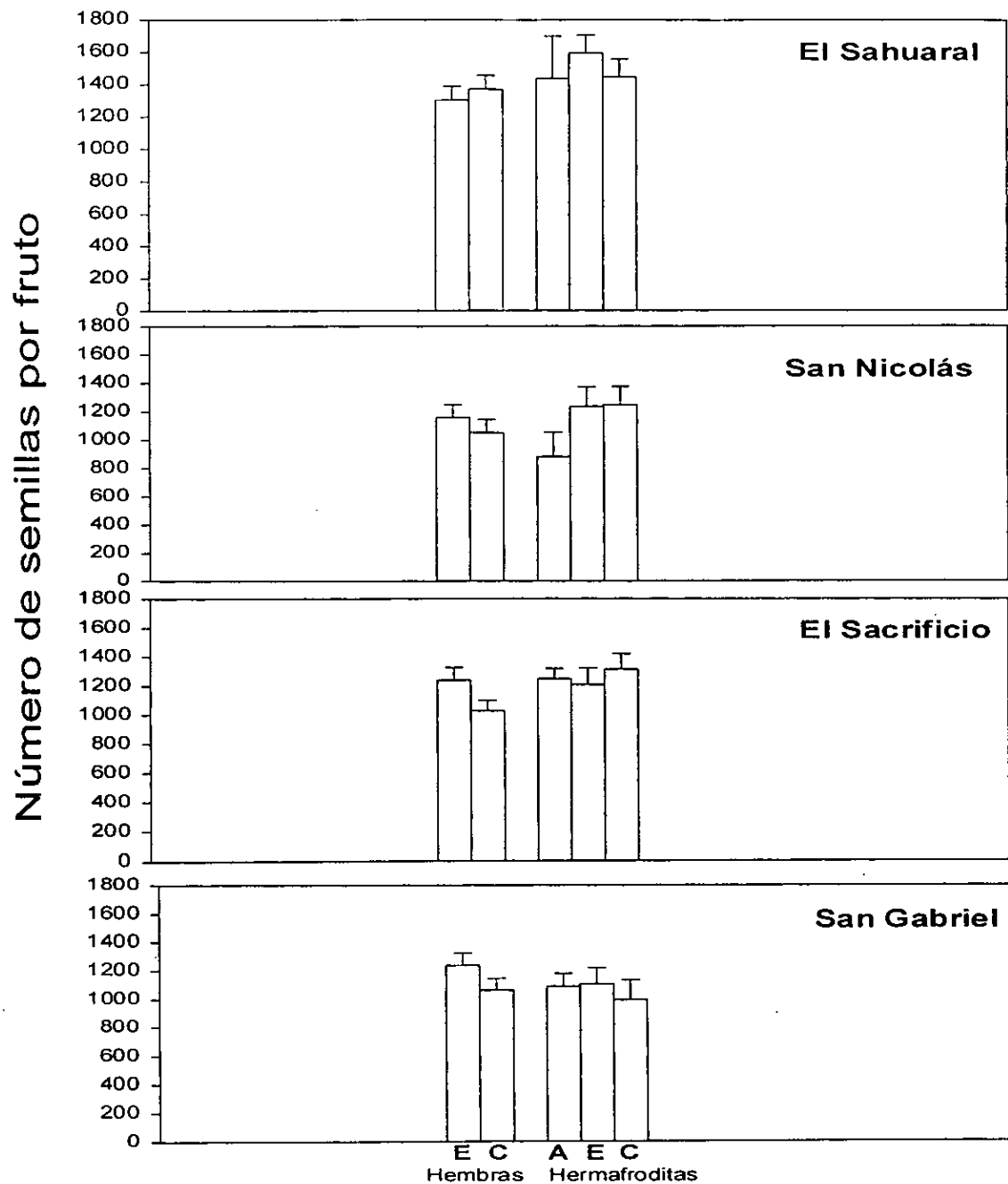
El peso promedio de las semillas de las hembras fue significativamente mayor que el de los hermafroditas (Sexo, $F = 12.1209$, $P = 0.0006$, Apéndice B; Tabla 4), siendo este fenómeno consistente en todas las poblaciones (Población*Sexo $F = 0.3792$, $P = 0.7682$, Apéndice B; Figura 6).

Hay una importante variación en el peso promedio por semilla entre plantas de distintos sexos y poblaciones (Planta [Población,Sexo], $F = 3.5826$, $P = 0.0000$, Apéndice B).

Se detectaron diferencias significativas en el efecto de los tratamientos sobre el peso de las semillas dependiendo de la población (Tratamiento *Población, $F = 4.5176$, $P = 0.0052$, Apéndice B). Esta significancia se debe básicamente a que en San Gabriel las pruebas de t mostraron que el peso promedio de las semillas producto del entrecruzamiento es significativamente menor que el peso promedio de las semillas de los controles ($t = -4.041$, $P = 0.0001$). Dentro de las otras tres poblaciones no se detectaron diferencias significativas en el peso de las semillas debido al tratamiento.

La interacción Tratamiento*Población*Sexo resultó no significativa ($F = 0.0507$, $P = 0.9848$, Apéndice B), quiere decir que a nivel global no hay diferencias significativas entre tratamientos hacia el interior de los sexos a lo largo de las poblaciones. Y que en todas las poblaciones, siguen siendo las hembras las que producen semillas más pesadas (Figura 6; Apéndice C).

Figura 5. Número promedio de semillas por fruto y error estándar entre sexos y tratamientos en cuatro poblaciones de *P. pringlei*. (No se justificaron comparaciones estadísticas entre sexos y tratamientos pues la interacción Tratamiento x Sexo x Población no fue significativa como variable explicativa. Remitirse a Apéndice B).
A= Autopolinización; E= Entrecruza; C= Control



Depresión por endogamia

Proporción de flores transformadas en frutos (Fruit set)

Para esta variable de respuesta el modelo explica el 41.12% de la varianza (Apéndice B). A nivel general, la población no resultó ser una fuente importante de variación para esta variable de respuesta (Población, $F=1.3344$, $P=0.2695$, Apéndice B; Tabla 6).

Tabla 6. Cuadro comparativo del promedio y error estándar de la eficiencia reproductiva (frutos/flores), número de semillas y peso de las semillas por población, considerando los tres tratamientos de polinización de hermafroditas para la cactácea *P. pringlei*. El tamaño de la muestra está entre paréntesis.

Poblaciones	Frutos/Flores	Error estándar	No. Semillas	Error estándar	Peso semillas (gr)	Error estándar
El Sahuaral	0.1750 (240)	0.04122	1546.31 (30)	107.2	0.005535 (30)	0.00023
San Nicolás	0.3125 (240)	0.05784	1083.21 (36)	111.89	0.004898 (36)	0.00032
El Sacrificio	0.3447(240)	0.05477	1223 (35)	73.65	0.004660 (35)	0.00017
San Gabriel	0.2760 (240)	0.06142	1095.5 (33)	77.77	0.004466 (33)	0.00014

Las pruebas de F mostraron que no hay diferencias significativas entre poblaciones ($P > 0.05$).

Los tratamientos fueron una fuente importante de variación en la proporción de flores transformadas en frutos (Tratamiento, $F= 10.6442$, $P=0.0017$; Apéndice B). El tratamiento de autopolinización presentó significativamente menor proporción de flores transformadas en frutos que el de entrecruzamiento (Tabla 7), comportamiento que se mantiene constante a lo largo de todas las poblaciones (Tratamiento*Población $F=0.6929$, $P=0.5592$, Apéndice B) lo cual puede ser un indicio de que existe depresión por endogamia a este nivel (Figura 4; Apéndice C).

Figura 6. Peso promedio de las semillas (g) y error estándar según sexo y tratamiento para cuatro poblaciones de *P. pringlei*. (No se justificaron comparaciones estadísticas entre sexos y tratamientos pues la interacción Tratamiento x Sexo x Población no fue significativa como variable explicativa. Remitirse a Apéndice B).

A= Autopolinización; E= Entrecruza; C= Control

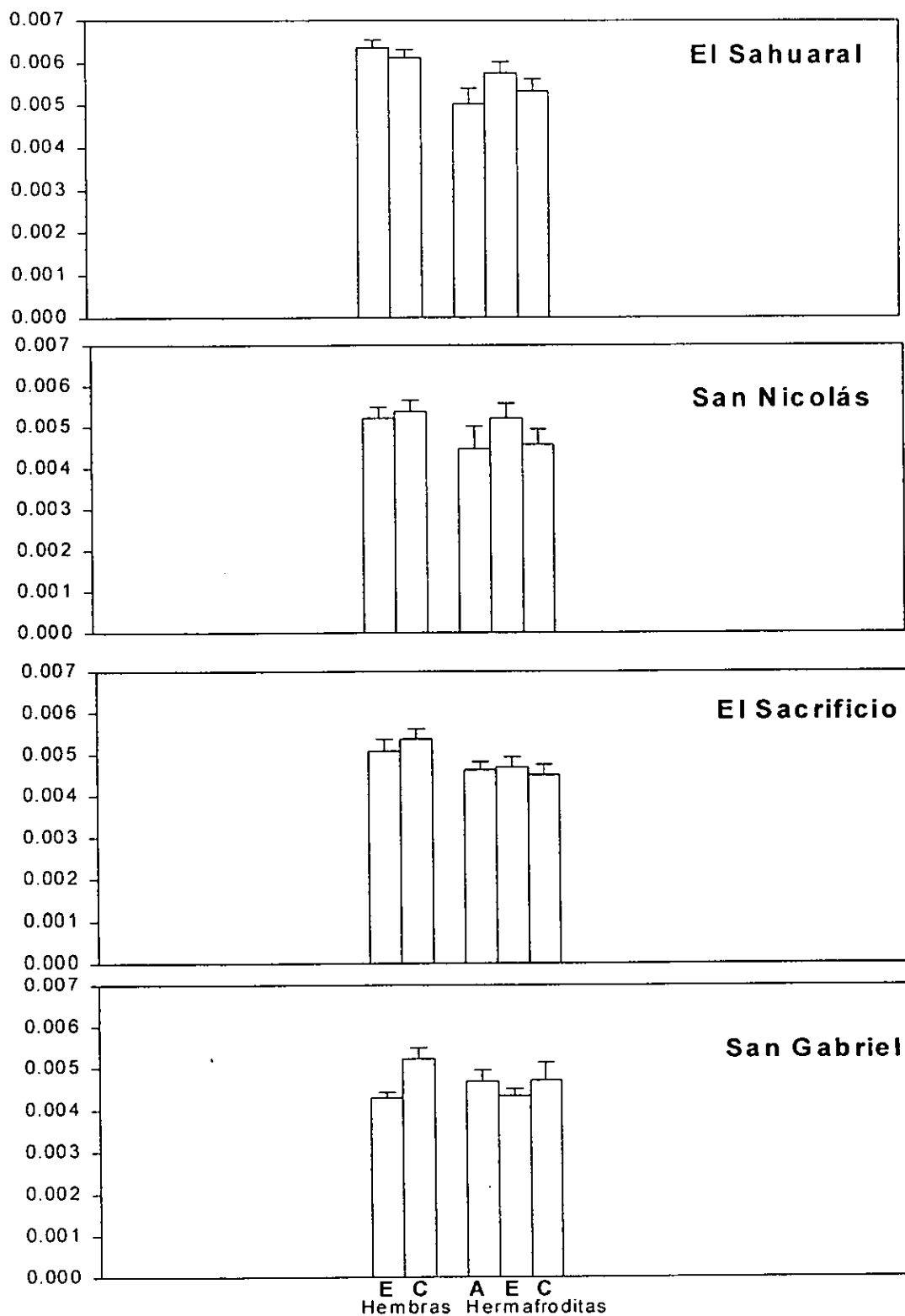


Tabla 7. Promedio y error estándar de la eficiencia reproductiva (frutos / flores), número de semillas y peso de las semillas, para los tratamientos de polinización de hermafroditas tomando en cuenta todas las poblaciones de la cactácea *P. pringlei*. El tamaño de la muestra está entre paréntesis.

Tratamiento	Frutos/Flores	Error estándar	Número de Semillas	Error estándar	Peso semillas (gr)	Error estándar
Autopolinización	0.2056 (320) a	0.03802	1120.44 (25)	82.19	0.004647 (25)	0.0002
Entrecruzamiento	0.3485 (320) b	0.03802	1273.51 (41)	64.19	0.004980 (41)	0.00016

Letras distintas muestran diferencias significativas entre tratamientos; $F= 10.6442$, $P= 0.0017$

Entre los individuos hermafroditas hay una importante variación en la proporción de flores transformadas en frutos dentro de las poblaciones (Planta [Población], $F= 2.2667$, $P=0.0002$, Apéndice B).

Número de semillas por fruto

Para esta variable de respuesta el modelo explica el 71.89% de la varianza (Apéndice B).

Dentro del análisis de varianza sólo se detectaron diferencias significativas entre plantas hermafroditas según la población (Planta [Población], $F = 3.7174$, $P= 0.0040$, Apéndice B). Mientras que, a nivel global, no se detectaron diferencias significativas entre poblaciones, tratamientos y la interacción entre estas fuentes de variación (Población; $F= 2.6571$, $P= 0.0585$; Tratamiento $F = 0.0874$, $P=0.9164$,. Tratamiento x Población, $F=0.8314$, $P= 0.5507$, Apéndice B Tabla 6; Tabla 7; Apéndice C). En base a esto, se puede decir que los hermafroditas de estas poblaciones no están experimentando depresión por endogamia a este nivel, en ninguna de las poblaciones (Figura 4).

Peso promedio por semilla

Para esta variable de respuesta el modelo propuesto explicó el 79.31% de la variación (Apéndice B).

El análisis de varianza (Apéndice B) no detectó diferencias significativas entre poblaciones, tratamientos y la interacción entre estas fuentes de variación

(Población, $F= 2.7690$, $P=0.0518$, Tabla 6; Tratamiento, $F= 0.0629$, $P= 0.8054$, Tabla 7; Tratamiento x Población, $F= 1.0375$, $P= 0.4044$, Figura 6; Apéndice C). El que no haya diferencias significativas entre autopolinización y entrecruza, a lo largo de las poblaciones, indica que de haber depresión por endogamia esta no se está expresando en esta etapa del ciclo de vida en ninguna de las poblaciones.

La fuente de variación más importante para esta variable de respuesta es la planta, dependiendo de la población a la que pertenezca (Planta [Población], $F=5.1361$, $P=0.0006$; Apéndice B).

Tasas de entrecruzamiento

Las 20 plantas hermafroditas que fueron expuestas en cada población a los tratamientos de polinización, fueron utilizadas para estimar las tasas de entrecruzamiento y verificar si efectivamente las tasas de entrecruza son menores en aquellas poblaciones donde es menor la frecuencia de unisexuados.

Las tasas de entrecruzamiento fueron estimadas con tres loci: 1) G6PDH, 2) MDH y 3) PGI. Para MDH y PGI, la heterocigocidad presente en estos loci fue considerable y se logró detectar hasta cuatro alelos diferentes para cada una de estas enzimas. En El Sahuaral, el número de alelos para G6PDH llegó a ser de cinco, mientras que para las otras tres poblaciones el número de alelos correspondientes para este locus fue de tres. Las tasas de entrecruzamiento multilocus (tm) y unilocus (ts) fueron para todas las poblaciones prácticamente igual a uno (Tabla 8). Esto quiere decir que toda la progenie examinada fue producto de entrecruzamiento, por lo que se espera que en la progenie haya un alto número de individuos heterocigos.

Para San Nicolás, El Sacrificio y San Gabriel tm y ts son mayores que uno, debido a errores de muestreo. Teóricamente estos datos tienen que ser considerados iguales a uno, debido a que para maximizar la función de probabilidad, el programa usa una opción de iteración llamada Newton-Raphson, la cual se caracteriza por ser rápida y dar estimaciones del entrecruzamiento en ocasiones mayores que uno (estadísticamente válidas según Ritland, 1990).

Por lo tanto, para el año en que se llevó a cabo este estudio, se puede decir que la eficiencia del polinizador es lo suficientemente alta para que toda la progenie sea producto de entrecruzamiento. En consecuencia, para el periodo que se realizó este experimento, es poco probable que, en condiciones naturales, la progenie de los hermafroditas experimente depresión por endogamia. Sin embargo, no podemos descartar que pueda presentarse autopolinización en años en los que la abundancia del murciélago sea muy baja y con esto la expresión de depresión por endogamia en algunos de los componentes de la adecuación.

Tabla 8. Estimaciones de las tasas de entrecruzamiento multilocus (t_m) y de un locus (t_s) de hermafroditas de las cuatro poblaciones de *Pachycereus pringlei*. Los errores estándar están dados en los paréntesis y están basados en 1 000 bootstraps. Loc1 = G6PDH, Loc2 = MDH, Loc3 = PGI. El remuestreo de los Bootstrap está hecho entre las familias, a excepción de San Gabriel, donde debido al bajo número de familias el remuestreo se realizó dentro de estas, según lo recomendado por Ritland (1990).

Población	Número de familias	Número de descendencia	Locus	Número de alelos	Total de alelos muestreados	Tasas de entrecruzamiento	
						t_m	t_s
El Sahuaral	20	200					
			1	5	213	0.979 (0.439)	0.997 (.239)
			2	3	215		
			3	3	218		
San Nicolás	19	190					
			1	3	206	1.269 (.349)	1.193 (.309)
			2	4	204		
			3	4	200		
El Sacrificio	20	200					
			1	3	191	1.309 (.226)	1.283 (.220)
			2	4	219		
			3	4	213		
San Gabriel	15	150					
			1	3	154	1.330 (0.211)	1.358 (.104)
			2	3	162		
			3	3	157		

DISCUSIÓN

La hipótesis que se pone a prueba en este estudio es de la "abundancia del polinizador nocturno" formulada por Fleming et al. (1998). Esta plantea que la variación geográfica de las frecuencias sexuales de *P. pringlei* refleja la variación geográfica de la abundancia de su principal polinizador nocturno: el murciélago *Leptonycteris curasoae*. Establece que en poblaciones con una alta abundancia de polinizadores, machos y hembras podrán coexistir con hermafroditas, mientras que en poblaciones con una baja abundancia de murciélagos, los machos no podrán competir exitosamente con los hermafroditas por la fertilización de los óvulos de hembras y hermafroditas.

Nuestra hipótesis de trabajo predice que la producción de frutos de las hembras debería estar menos limitada por polinizadores y que las tasas de entrecruza en hermafroditas deberían ser mayores en poblaciones trióicas que en poblaciones ginodioicas, y que la producción de frutos de hermafroditas no se encuentre limitada por polinizadores dada su capacidad de autofecundación. Así mismo, la adecuación absoluta y relativa de las hembras debería ser mayor, con respecto a la de hermafroditas, en poblaciones trióicas que en poblaciones ginodioicas, debido a una mayor presencia de polinizadores.

Basado en la adecuación relativa de las hembras, la eficiencia reproductiva de las clases sexuales y las tasas de entrecruzamiento, los resultados obtenidos en este trabajo no apoyan la hipótesis del polinizador nocturno. La adecuación absoluta de las hembras no sigue el patrón esperado por la hipótesis de trabajo, incluso la mayor adecuación absoluta se obtuvo en la única población ginodioica: El Sahuaral, en la cual se esperaba lo contrario (Figura 3).

Los tratamientos de polinización mostraron que sólo las hembras de la población San Gabriel experimentaron limitación por polinizadores, población en la que se encuentra la mayor frecuencia de unisexuados y en donde, según la hipótesis de la "abundancia del polinizador nocturno", se esperaba una mayor abundancia del murciélago. Los hermafroditas de esta población no presentaron limitación por polinizadores (Figura 4). Por otro lado, se esperaba que la tasa de entrecruza de los hermafroditas fuera aumentando conforme se incrementara la proporción de unisexuados, sin embargo, en todas las poblaciones las tasas de

entrecruzamiento fueron igual a uno, lo que no concuerda con la hipótesis de la abundancia del polinizador nocturno (Tabla 8).

Por lo expuesto, se puede decir que efectivamente la eficiencia reproductiva de las hembras es más dependiente de la abundancia del polinizador nocturno. Sin embargo la hipótesis del polinizador nocturno no explica los resultados encontrados en este trabajo, los cuales indican que son otros factores los que deben estar afectando la variación geográfica de sexos en *P. pringlei*.

Tabla 9. Promedios y error estándar de los componentes de la adecuación, adecuación absoluta y relativa por población y sexo. Frec. Sex = Frecuencias sexuales; Polen/Estigma = Número de Granos de polen depositados por estigma; *tm* =Tasa multilocus de entrecruzamiento; *ts* = Tasa unilocus de entrecruzamiento. * Adecuación absoluta = #semillas x Peso semillas x Frutos totales

	El Sahuaral		San Nicolás		El Sacrificio		San Gabriel	
	Hembras	Hermafroditas	Hembras	Hermafroditas	Hembras	Hermafroditas	Hembras	Hermafroditas
Latitud y Longitud	27° 59.45'N; 110° 50.49'O		28° 49.78'N; 111° 48.37'O		29° 05.74'N; 112° 08.04'O		29° 23.13'N; 112° 13.17'O	
Frec. Sex.(%)	12.37	75.25	28.12	43.75	40.19	26.47	40.87	10.43
Frutos / Flores (%)	57.5 ± 7.7	16.25 ± 4.89	63 ± 5.84	32.5 ± 8.33	65.3 ± 6.67	45.75 ± 8.93	56.45 ± 7.72	32.45 ± 6.96
#Semillas /Fruto	1370 ± 85.6	1446 ± 109.47	1048.05 ± 91.9	1242.71 ± 129.74	1025.55 ± 75	1313 ± 106.32	1059.58 ± 82	992.71 ± 136.5
Peso semillas (mg)	61.20 ± 1.8	53.32 ± 2.0	53.91 ± 2.6	45.67 ± 3.7	53.67 ± 2.4	44.96 ± 2.6	52.11 ± 2.8	46.98 ± 4.3
Polen / Estigma	19652 ± 1421.9		16914.8 ± 1040		5273.8 ± 616.4		2099.9 ± 515.9	
(<i>tm</i>)		0.979 ± 0.439		1.239 ± 0.349		1.309 ± 0.226		1.330 ± 0.211
(<i>ts</i>)		0.997 ± 0.239		1.193 ± 0.309		1.283 ± 0.220		1.358 ± 0.104
Adecuación absoluta*	2,533,404	408,873.465	3,557,542.842	747,987.149	1,030,643.907	439,109.872	884,040.441	164,932.81
Adecuación relativa	6.19		4.75		2.34		5.35	

Diferencias entre poblaciones

Este trabajo muestra que en *P. pringlei*, la proporción de flores transformadas en frutos, el número de semillas y el peso de estas, varía significativamente entre poblaciones, lo cual se debe a que en todos los casos hembras y hermafroditas de El Sahuaral presentaron valores en estos componentes significativamente mayores al de las otras poblaciones. Sin embargo, en términos generales no hubo diferencias significativas en la adecuación absoluta entre poblaciones

Durante la fase de campo de este trabajo, Fleming y Molina-Freaner estimaron el número promedio de granos de polen depositados en los estigmas de las hembras (durante la noche) en cada una de las poblaciones trabajadas, lo que da una idea de la abundancia relativa de *L. curasoe* en cada población. Estos

resultados mostraron que en condiciones naturales, los hermafroditas de la población El Sahuaral, donde hubo la mayor deposición de polen (19,652 granos / estigma), presentaron la menor proporción de flores transformadas en frutos con respecto a los de las otras poblaciones (Tabla 9). Otros estudios han mostrado que aún cuando el número de granos de polen parece ser el suficiente, algunos frutos son abortados (Stephenson, 1981; Bawa y Webb, 1984), indicio de que son otros factores los que están limitando la producción de frutos.

La hipótesis de la "selección sexual" plantea que la aborción de frutos y semillas es atribuible a conflictos inherentes en la optimización del éxito reproductivo por la vía femenina y masculina (Bawa y Webb, 1984). Si suponemos que las plantas hermafroditas asignan sus recursos para producción y dispersión de granos de polen (función masculina) y para la producción de óvulos, fertilización y producción de frutos (función femenina), y si los recursos para la reproducción son finitos, es razonable pensar que el incremento en alguna función provocaría que la función complementaria disminuyera (Sutherland y Delph, 1984, Bell, 1997). A la luz de la "selección sexual", la baja producción de frutos de algunas especies hermafroditas se debe a que la gran mayoría de las flores producidas estarían destinadas a la función masculina (donación de polen) y no a la femenina (Sutherland y Delph, 1984, Bawa y Webb, 1984).

En *P. pringlei* machos y hermafroditas producen prácticamente la misma cantidad de polen por flor, sin embargo, los machos producen más flores por noche y temporada (Fleming et al., 1994). Así, la competencia entre estas clases sexuales para fecundar óvulos, puede darse a dos niveles: en el número de flores producidas y en la diferencia de frecuencias sexuales. Debido a que en la población El Sahuaral no hay machos, la baja proporción de flores transformadas en frutos de los hermafroditas de esta población puede ser reflejo de un aumento en la adecuación por la vía masculina (donación de polen). Mientras que el incremento en la proporción de flores transformadas en frutos en los hermafroditas de las poblaciones San Nicolás, Sacrificio y San Gabriel, en donde la frecuencia de machos es importante (Tabla 1), puede ser una estrategia para compensar el bajo éxito reproductivo de los hermafroditas por la vía masculina. Así, la hipótesis de la "selección sexual" es la que mejor explica la variación geográfica en la

proporción de flores transformadas en frutos de los hermafroditas. Sería importante llevar a cabo estudios encaminados a explorar esta hipótesis.

Varios estudios han tratado de mostrar limitación por polinizadores o recursos en la producción de frutos y semillas (Fleming et al., 1998; Campbell, 1987; Eguiarte y Búrquez, 1988; Stephenson, 1981; Bierzychudek, 1981; Koptur, 1984; Simpson y Neff, 1987; Nassar et al., 1997), mediante polinizaciones manuales. Si la producción de frutos y semillas es mayor en plantas o flores que recibieron una cantidad extra de polen, que en aquéllas que fueron polinizadas naturalmente, se puede decir que la producción de frutos y semillas está principalmente limitada por polinizadores y no por recursos (Byerlichudek, 1981; Schemske, 1980, Willson and Schemske, 1980, Howell y Roth, 1981, en Sutherland y Delph, 1984).

Que en ninguna de las poblaciones el tratamiento de polinización (entrecruza vs. control) tenga un efecto significativo sobre la producción de semillas de *P. pringlei* hacia el interior de los sexos, y entre sexos, indica que la variación geográfica de este componente no se explica por una variabilidad en la disponibilidad de polinizadores y que ambos sexos asignan la misma cantidad de recursos a este componente, produciendo, en promedio, prácticamente el mismo número de semillas por fruto. Esto indica que el número promedio de semillas por fruto es una característica poblacional, posiblemente ligada a factores medioambientales. Un estudio realizado en una cactácea del desierto sonoreño (*Ferocactus wislizeni*) ha mostrado que una baja precipitación pluvial puede limitar la producción de semillas y flores (respectivamente), debido a la baja disponibilidad de agua (Bowers, 1998). Para comprobar si este fenómeno sucede en distinta magnitud entre las poblaciones de *P. pringlei*, habría que hacer un seguimiento en los siguientes ciclos reproductivos en las mismas poblaciones, para ver si el número de semillas producidas por fruto es constante o si se modifica, de acuerdo variaciones físicas en el ambiente.

Niesenbaum (1999) reporta que en *Miriabilis jalapa* (Nyctaginaceae), mientras mayor es el número y la diversidad de granos de polen, mayor es la competencia entre tubos polínicos. Cada vez hay más evidencia que sugiere que mientras mayor es la competencia entre tubos polínicos, mayor es la calidad

genética y el vigor de la descendencia (Niesenbaum, 1999), lo cual puede reflejarse en el mayor peso de las semillas mejor dotadas (Simons y Johnston, 2000).

En *P. pringlei* el número de granos de polen depositados por estigma va disminuyendo de la población más al sur (El Sahuaral) a la población más al norte (San Nicolás), y el peso de las semillas disminuye con el mismo patrón (Tabla 9). De esta forma, la variación geográfica en el peso de las semillas podría estar asociada a la variación geográfica en el número de granos de polen depositados en los estigmas. Sin embargo, hace falta someter a prueba esa hipótesis.

La adecuación absoluta de las plantas es el resultado de la forma en la que estas asignan sus recursos para la reproducción; la cantidad y la calidad de las semillas pueden variar de manera independiente una de otra (Zimmerman y Pyke, 1988) y las plantas pueden realizar una aborción selectiva de sus frutos, evaluando la cantidad y la calidad de las semillas (Stephenson, 1981). El que no haya diferencias significativas entre poblaciones en la adecuación absoluta, pero sí entre el peso y el número de semillas y de frutos producidos, sugiere que pueden haber distintas rutas para maximizar la reproducción, mediante una asignación diferencial de los recursos a los distintos componentes de la adecuación. Por ejemplo, la población El Sahuaral fue la que menor proporción de flores transformadas en frutos, pero mayor peso y número de semillas tuvo, mientras que en el resto de las poblaciones el peso y número de semillas disminuyó y la proporción de flores transformadas en frutos aumentó.

Limitación por recursos vs. limitación por polinizadores

Se ha puesto considerable atención en cuánto de la variación en la producción de frutos, de semillas y el peso de estas, se debe a factores extrínsecos (i.e. limitación por polen) o intrínsecos (i.e. genotipo del polen o recursos asignados por la planta)(Guitán et al., 1996; Zimmerman y Pyke, 1988). Hacer una distinción entre limitación por polinizadores y recursos, es importante para lograr una interpretación evolutiva de los factores involucrados en la biología reproductiva de

las plantas (Bertin, 1985). Aún cuando muchos estudios han tratado de discernir entre estos factores mediante polinizaciones manuales (Stepenson, 1981; Bierzychudek, 1981), si la cantidad de polen recibido puede potencialmente afectar el número y peso de las semillas de manera independiente, resulta difícil hacer una definición rigurosa de limitación por polen o de recursos en la producción de semillas (Zimmerman y Pyke, 1988).

Nuestros resultados indican que la producción de frutos de las hembras está potencialmente limitada por polinizadores y no así la de los hermafroditas. Esto se basa en que en las hembras de San Gabriel los controles tuvieron significativamente menor proporción de flores transformados en frutos (56.45 ± 7.7) que los tratamientos de entrecruza (72.75 ± 6.7). En cambio, en los hermafroditas, no hubo diferencias entre estos tratamientos en ninguna población, lo que indica que la producción de frutos de esta clase sexual podría estar principalmente limitada por recursos, pues de lo contrario habríamos esperado que el cociente frutos/flores se incrementara en los entrecruzamientos.

Estos resultados están en concordancia con lo encontrado por Fleming et al. (1994) en una población de *P. pringlei* cerca de Bahía Kino. El que los hermafroditas en total ausencia de polinizadores puedan transformar un 8% o más de sus flores en frutos (Fleming et al., 1994), le confiere a esta clase sexual una gran ventaja adaptativa, pues la adecuación de las hembras, en total ausencia de polinizadores, sería cero. En ambas clases sexuales, el tratamiento de entrecruza y control no presenta diferencias significativas en el número de semillas producidas por fruto, lo que muestra que la producción de semillas debe estar limitada principalmente por recursos (Zimmerman y Pyke, 1988).

Por otro lado, la limitación por polen detectada en las hembras de San Gabriel, no afectó el número y peso de las semillas producidas por fruto. Algunos estudios han mostrado que el número y la calidad de las semillas de los frutos que maduran es superior al de los frutos que son abortados (Bawa y Webb, 1984; Stephenson, 1981; Casper, 1988). Por lo que se propone que, mediante la aborción de frutos, se regulan el número y la calidad de las semillas (Stephenson y Bertin, 1983, en Casper, 1986; Stephenson y Winsor, 1986; Bawa y Webb, 1984; Casper, 1988; Niesenbaum, 1999; Bertin, 1985; Koptur, 1984, Stephenson, 1981;

Stocklin, 1997; Dudash, 1993; Melser et al, 1997; Stephenson y Winsor, 1986; Casper, 1988), de forma que las plantas maduran aquellos frutos en los que la calidad y el número de semillas es alto. Este fenómeno podría estar explicando por qué la limitación por polinizadores no se tradujo en un menor número y peso de las semillas.

Sin embargo, mediante la corrección de Bonferroni, se detectó que el tratamiento de entrecruza de las hembras de esta población presentó semillas significativamente menos pesadas que las de los controles ($t = 4.08$, $P = 0.0001$, $\alpha_1 = 0.0125$), lo cual contradice el fenómeno recién explicado. Bertin (1985) reporta que en *Campsis radicans*, cuando la cantidad de donadores es baja la selectividad de las plantas disminuye, permitiendo que donadores de polen de no muy buena calidad fecunden a los óvulos. Por otra parte, Golubov et al. (1999) reportan que el mayor peso de las semillas de *Prosopis glandulosa* estuvo positiva y significativamente relacionada con la heterocigosis de las semillas. Hace falta comparar la calidad y el número de semillas de frutos abortados, de entrecruza y de controles para entender de manera clara los factores que están determinando el peso y número de semillas producidas por esta cactácea.

Por último, es importante resaltar que en las hembras de El Sahuaral, los tratamientos de entrecruza tuvieron 1.77 veces menos flores transformadas en frutos que los controles, siendo significativa esta diferencia ($t = 5.854$, $P = 0.0000$). Esto puede asociarse a una limitación por polen, aunque Flemming et al. (1994) reportan que una cuarta parte de cada flor donadora contiene aproximadamente 300 000 granos de polen, así que una insuficiencia de granos de polen depositados en el estigma es poco probable. Por otra parte, durante las polinizaciones manuales nunca se repitió el mismo donador para una misma planta, lo que disminuye las probabilidades de que exista una baja proporción de flores transformadas en frutos debido a entrecruzas entre individuos genéticamente emparentados. Si bien las flores entrecruzadas no fueron embolsadas, la alta tasa de entrecruza de esta población ($tm = 1.00$) muestra que la probabilidad de que el bajo cociente de frutos/flores se deba a autopolinización es prácticamente nula. Aunque cualquiera de los factores antes mencionados puede estar involucrado, el método de polinización seguido en este trabajo

imposibilita detectar de forma clara lo que propició el bajo cociente frutos/flores obtenido en los entrecruzamientos de las hembras de El Sahuaral.

Diferencias entre sexos

Dentro de la teoría de la evolución de los sistemas reproductivos, la teoría de la compensación ha sido muy importante para explicar la aparición del dioicismo y ginodioicismo (Charlesworth y Charlesworth, 1978). Darwin (1877) propuso que los hermafroditas, en el paso evolutivo hacia el dioicismo, al perder la función masculina y dejar de producir polen, tendrían más recursos para asignar a la función femenina (Charlesworth y Charlesworth, 1978), lo que provocaría que las hembras tuvieran mayor adecuación por la vía femenina que los hermafroditas, ya fuera por un aumento en la producción de flores, frutos y semillas, o bien, en la producción de semillas más pesadas (Lloyd, 1975). Por otro lado, los hermafroditas tienen que dividir sus recursos en la producción de polen y su dispersión (función masculina) y en la producción de óvulos, fertilización y desarrollo de la semillas (función femenina), por lo que tienen que lograr un balance funcional entre la reproducción masculina y femenina para lograr maximizar su adecuación total (Sutherland y Delph, 1984).

La teoría de la compensación puede explicar que las hembras de todas las poblaciones, en ausencia de limitación por polen (polinización cruzada) y en condiciones naturales (controles), tengan significativamente mayor proporción de flores transformadas en frutos y semillas más pesadas que los hermafroditas. La baja proporción de flores transformadas en frutos en los hermafroditas, podría explicarse por la división de sus recursos para lograr un balance funcional entre la reproducción masculina y femenina. Fleming et al. (1994) encontraron que cuando los hermafroditas fecundan a otros hermafroditas, la producción de frutos tiende a ser mayor a comparación de las flores polinizadas por machos. Aunque dicha tendencia no fue estadísticamente significativa, estos resultados muestran la necesidad de hacer un análisis de paternidad entre hembras y hermafroditas para entender mejor las consecuencias que el patrón de polinización puede tener sobre la adecuación total de las clases sexuales y hasta que punto la selección sexual y

la selección natural están actuando en la diferenciación geográfica de las frecuencias sexuales.

La diferencia entre clases sexuales en la proporción de flores transformadas en frutos, se ajusta a lo encontrado por Fleming et al. (1994, 1996) para esta misma especie en una población de Bahía Kino. Sin embargo, en este estudio se reporta que el peso de las semillas no varía significativamente entre clases sexuales, lo que no concuerda con lo encontrado en el presente trabajo, pues el peso de semillas de las hembras fue significativamente mayor al de los hermafroditas. Diversas investigaciones en plantas han encontrado que el tamaño de las semillas (masa) está positivamente correlacionado con la adecuación de las plantas que generan (Delph et al., 1999). En particular, se ha visto que las plántulas de semillas grandes tienen mayores probabilidades de sobrevivencia que las plántulas de semillas más pequeñas (Delph., et al, 1999), lo cual puede deberse a que las semillas más grandes tienen mayor cantidad de reservas (endospermo) de lo que tienen las semillas pequeñas (Harper, 1977; en Delph et al., 1999; Simons y Johnston, 2000).

Se ha visto que en tres de siete especies ginodioicas, el desempeño de las semillas entrecruzadas de hembras es mayor que el de las hermafroditas, y que estas diferencias se pueden dar aún cuando las semillas de ambas clases sexuales no presenten diferencias en la masa o bien que las semillas de las hembras fueran más pequeñas, pues a veces no está relacionado con la cantidad de endospermo si no con la cantidad de nutrientes como nitrógeno, fósforo y potasio (Delph et al., 1999).

Sosa y Fleming (1999) encontraron en *P. pringlei*, que en condiciones naturales el desempeño de las plántulas de ambos sexos no varía significativamente, lo cual sugiere que el desempeño de las plántulas producidas por las hembras no es superior al de los hermafroditas. Sería importante realizar nuevamente estudios de germinación para comprobar si la sobrevivencia de las semillas de hembras y hermafroditas es igual en condiciones naturales en cada una de las poblaciones trabajadas. Estos estudios tendrían como objetivo verificar lo encontrado por Sosa y Fleming, pues quizá la variación en el peso de las semillas entre poblaciones y sexos, factores que no consideraron estos autores, si

esté involucrada en el desempeño de las plántulas.

El hecho de que el sexo no haya sido una fuente importante para explicar la variación del número de semillas producidas por fruto, no quiere decir que en la producción total de semillas no se expresen diferencias. Puede ser "que los patrones observados resulten simplemente del modo en el que una planta asigna los recursos a unas flores en particular, y aunque un incremento en la disposición de polen incremente la producción de semillas, esto no necesariamente refleja la adecuación total de la planta" (Zimmerman y Pike, 1988). Lo anterior es de relevancia, ya que evolutivamente el parámetro más importante es la producción total de semillas de los individuos y no su producción por fruto en un momento en particular durante su estación reproductiva (Zimmerman y Pike, 1988). Así, aunque en promedio no hubo diferencias significativas entre sexos en el número de semillas producidas por fruto, sí las hubo en la proporción de flores transformadas en frutos y en el número de frutos totales, de forma que en todas las poblaciones la producción total de semillas de las hembras fue entre 2.34 y 6.19 veces mayor que la de hermafroditas (Tabla 9). La ventaja de las hembras en la producción de semillas es importante, principalmente porque causaría incrementos en la frecuencia de las hembras (Lloyd, 1975). Al igual que en el presente trabajo, Fleming et al. (1994) mostraron que en una población de *P. pringlei* el número promedio de semillas por fruto es muy similar entre hembras y hermafroditas, sin embargo; el número total de semillas producido por las hembras fue 1.62 veces mayor que el de los hermafroditas, lo que muestra la importancia de medir la producción total de semillas como una medida más real de la adecuación de las plantas.

Por todo lo anterior, se puede decir que las hembras de todas las poblaciones tuvieron una mayor adecuación absoluta que los hermafroditas mediante dos vías: mayor proporción de flores transformadas en frutos y mayor peso de semillas, lo cual se explica por el fenómeno de la compensación.

Diferencias entre individuos

En todos los análisis de varianza realizados se encontró que existe una gran variación en la respuesta individual de las plantas en todas las poblaciones (Planta [Población,Sexo]), en la adecuación absoluta, proporción de flores transformadas en frutos, número de semillas por fruto y peso de las semillas.

La interacción entre el tamaño de la planta, la atracción de polinizadores y la limitación por polen puede influenciar de manera considerable la adecuación individual de las plantas. Algunos estudios han mostrado que inflorescencias de mayor tamaño tienen mayor probabilidad de transformarse en fruto y atraer con mayor éxito a polinizadores que las de menor tamaño. Adicionalmente, se ha observado que plantas más grandes tienen mayor cantidad de granos de polen depositados en los estigmas, influenciando diferencialmente la producción de semillas entre plantas (Dudash, 1993). Hace falta llevar a cabo estudios sobre la morfología floral y el tamaño de las plantas para ver si existe alguna relación entre estas variables y el desempeño reproductivo de las plantas. Otra posibilidad es que exista una gran variación en el tipo de suelo y recursos disponibles, lo cual podría, a su vez, afectar la respuesta de las plantas, pues se ha visto que el desempeño reproductivo de plantas que disponen de mayor cantidad de nutrientes es mayor de las que lo carecen (Stephenson, 1981).

Por otra parte, mediante una correlación de Pearson se obtuvo la relación entre el número y peso de las semillas. La teoría sugiere que lo normal es encontrar una correlación negativa entre número de descendencia y peso (Trade off) (Delph et al., 1999; Simons y Johnston, 2000; Bell, 1997; Morgana, 1998). Sin embargo, una correlación positiva entre algunos componentes de la adecuación normalmente son encontrados en especies que viven en ambientes muy heterogéneos. Dicha correlación puede deberse a una variación en la cantidad de recursos disponibles para la reproducción, la cual puede tener un componente ambiental y uno genético, la combinación de estos componentes provocará que algunos individuos produzcan una gran cantidad de semillas poco pesadas y otros que produzcan pocas semillas pesadas. Si ambos comportamientos son puestos en una misma gráfica encontraremos dicha correlación positiva, principalmente generada por la heterogeneidad del ambiente. Sin embargo, en

poblaciones que tienen varias generaciones y que están bien adaptadas a un mismo ambiente, la relación antagónica entre los componentes puede ser claramente vista, debido a que la selección natural habrá provocado que alguno de estos comportamientos este principalmente representado en las poblaciones (Bell, 1997).

Por medio de la prueba de Pearson se detectó una correlación ligeramente positiva (no mayor del 16%) y no significativa ($P > 0.09$) en las hembras de El Sahuaral, El Sacrificio y San Gabriel, entre número y peso de las semillas y sólo en las hembras de San Nicolás la correlación entre estos componentes fue medianamente negativa (-39%) pero no significativa ($P = 0.093$). En los hermafroditas de San Nicolás y El Sacrificio se encontró una correlación ligeramente positiva y no significativa ($r = 16.73\%$, $P = 0.52$; $r = 0.16\%$, $P = 0.99$, respectivamente. $N = 17$). Sólo en los hermafroditas de San Gabriel se encontró una importante correlación significativamente positiva entre ambos componentes ($r = 56.97\%$, $P = 0.017$). Mientras que en los hermafroditas de El Sahuaral se encontró una correlación negativa medianamente importante ($r = -29\%$) y no significativa ($P = 0.26$). Es importante mencionar que nuestro tamaño muestral es pequeño, sin embargo, estos datos apoyan la hipótesis de que la gran variabilidad de respuesta encontrada entre las plantas se debe a una gran heterogeneidad en el ambiente.

Tasas de entrecruzamiento y depresión por endogamia

La hipótesis de trabajo esperaba que las tasas de entrecruzamiento fueran más altas en poblaciones donde la proporción de unisexuados fuera mayor, ya que la hipótesis de la "abundancia del polinizador nocturno" asocia una mayor frecuencia de unisexuados con mayor abundancia de murciélagos (Fleming et al., 1998). Los resultados obtenidos no apoyan la hipótesis de la "abundancia del polinizador nocturno", pues para todas las poblaciones las tasas de entrecruza son igual a uno. La limitación por polen encontrada en las hembras de San Gabriel, indica que la abundancia de polinizadores puede ser baja, entonces ¿por qué no disminuyó la tasa de entrecruza en los hermafroditas de esta población?

De las 70 especies de cactáceas (de la tribu Pachycereeae) reportadas para México, el 69% presentan una antesis nocturna y el 60% presentan características florales muy relacionadas con un síndrome de polinización quiropterofílico y sólo el 16% de las especies presentan una antesis diurna. En el centro de México se ha detectado que casi todas las cactáceas columnares muestran un alto grado de especialización en la polinización por murciélagos, dentro de los cuales *L. curasoae* juega un papel importante. Dicha especialización se basa en que la producción de néctar y la antesis de las flores son únicamente nocturnas, además de que todas son especies autoincompatibles, por lo que requieren forzosamente la interacción con algún vector para poderse reproducir (Valiente-Banuet et al., 1996). Ejemplo de esto son *Neobuxbaumia tetetzo*, *N. mezcalensis*, *N. macrocephala*, *Pachycereus weberi* (Valiente-Banuet et al., 1997a, 1997b, 1996), así como en tres cactáceas columnares de Venezuela (Nassar et al., 1997).

Por el contrario, *Pachycereus pringlei* es una cactácea columnar autocompatible y en el trabajo de campo se detectó que la antesis se extendió hasta las 18:00 hrs, seis horas más de lo que Fleming et al. (1994) reportan para otra población de *P. pringlei* en Bahía Kino. Así mismo, en la cactácea *P. pringlei*, las aves fueron las responsables de que el 66% de las flores diurnas se transformaran en frutos en una población de Bahía Kino (Fleming et al., 1996). Por otra parte Sahley (1996) reporta que en una cactácea columnar autotetraploide y autocompatible de Perú (*Weberbauerocereus weberbaueri*), cuyo síndrome de polinización comparte características asociadas a colibríes y murciélagos, la importancia de los murciélagos y colibríes como polinizadores varía entre años.

Una variación significativa en la abundancia de los polinizadores entre años, como parece suceder en el murciélago *L. curasoae* (Fleming, com. Pers.), podría estar provocando que las plantas aumenten el tiempo de apertura de la flor para asegurar que las flores sean polinizadas durante el día por otros vectores, lo cual podría explicar las altas tasa de entrecruza en los hermafroditas de las población San Gabriel. Debido a que la receptividad de las flores de *P. pringlei* se extiende varias horas del día y a que la secreción de néctar se detiene hasta las 12:00 hrs, parece que la especialización por polinización de murciélagos es sólo morfológica,

pues en un sentido estricto, funcionalmente no es así (Valiente-Banuet et al., 1996), lo que implica que quizá la importancia del murciélago *L. curasoae* no es la que reporta Fleming et al. (1996), o bien, que la importancia de la interacción *P. pringlei* – *L. curasoae* puede tener una gran variación geográfica y temporal. Para poner a prueba esta hipótesis, sería importante realizar experimentos de exclusión de visitantes florales en cada una de las poblaciones y darle un seguimiento anual, así como verificar si existe una variación geográfica en el tiempo de apertura de la flor, como un indicador del grado de especialización en polinización por murciélagos en cada una de las poblaciones.

Los tratamientos de autopolinización de este estudio muestran y confirman que los hermafroditas de esta especie son autocompatibles, transformando entre un 13.5% y 27.5% de sus flores en frutos, como lo reportan Murawski et al. (1993).

Con la fórmula $\delta = 1 - (\omega_s / \omega_o)$, se estimó la magnitud de la depresión por endogamia (δ) en cada uno de los componentes de la adecuación, así como en la adecuación total de los hermafroditas de *P. pringlei*. La prueba de Tukey (HSD) estimó si δ fue estadísticamente diferente de cero ($P < 0.05$) (Nuñez-Farfán et al., 1996). Los resultados mostraron que la adecuación total de los hermafroditas de todas las poblaciones no se vio afectada por depresión por endogamia. Sin embargo, se observó que la proporción de flores transformadas en frutos y el peso de las semillas en los hermafroditas de San Gabriel y San Nicolás se vio afectada por las autopolinizaciones, en donde la magnitud de la depresión por endogamia fue significativamente distinta de cero (frutos/flores, $\delta = + 0.87$, error std = 0.072, $N = 19$; peso de semillas, $\delta = + 0.38$, error std. = 0.1, $N = 6$; $P < 0.05$). Dichos resultados deben tomarse con precaución debido a que el tamaño muestral es muy pequeño.

Estos resultados muestran que en *P. pringlei* la depresión por endogamia puede expresarse en las primeras fases del ciclo reproductivo (fecundación y desarrollo de las semillas). Sin embargo, las altas tasas de entrecruza ($tm \approx 1$) obtenidas en todas las poblaciones, muestran que es poco probable que en condiciones naturales (durante este estudio) se haya expresado depresión por endogamia. Estos resultados contrastan con los encontrados por Murawski et al. (1994), quienes reportan tasas de entrecruzamiento de 0.301 (usando siete

enzimas y ocho loci) para otra población de *P. pringlei* (Bahía Kino). Se puede decir entonces, que los hermafroditas pueden experimentar cierto grado de autopolinización cuando la abundancia de polinizadores es muy baja. La diferencia de *tm* entre nuestro trabajo y el de Murawski et al. (1994), puede deberse a una diferencia en la abundancia de polinizadores y no a un problema metodológico.

Se ha visto que en plantas que normalmente practican la autopolinización, los efectos de la depresión por endogamia son menores (Darwin, 1876, en Eguiarte et al., 1992), ya que al haber una continua autofecundación, con el paso de varias generaciones, los genes responsables de la depresión por endogamia se sujetan continuamente a un proceso donde la selección natural los va eliminando (purga de genes deletereos), sobreviviendo sólo aquellos individuos cuya heterocigocidad es mayor. Por otro lado, se ha detectado que una generación de autopolinización en autotetraploides genera un menor incremento en la frecuencia de homócigos (17-21%) que en diploides (50%), por lo que se cree que el efecto de la depresión por endogamia (bajo el modelo de dominancia parcial) es menos importante en especies autotetraploides que en diploides (Husband y Schemske, 1997; Murawski et al., 1994). La hipótesis es consistente con la baja proporción de homócigos encontrados en semillas producto de autopolinización en este trabajo, en donde la autopolinización de hermafroditas heterócigos balanceados (*aabb*) produjo entre 2.2% y 4.6% de homócigos para la enzima G6PDH (Apéndice B).

P. pringlei es una planta autotetraploide que puede practicar la autofertilización, por lo cual puede esperarse que los efectos de la depresión por endogamia no sean muy pronunciados cuando hay autopolinización, lo que explicaría el que la adecuación total de los hermafroditas de San Gabriel y San Nicolás no se haya afectado aún cuando se detectó evidencia de depresión por endogamia en la producción de frutos y en el peso de las semillas autopolinizadas. Otro factor que apoya esta hipótesis es lo encontrado por D. Morales, quien no detectó evidencia de depresión por endogamia al comparar el crecimiento, sobrevivencia y germinación de semillas, producto de entrecruza y autopolinización de El Sahuaral y San Gabriel (Daniel Morales, tesis en preparación CESUES, Hermosillo, Sonora).

El hecho de que a nivel global los tratamientos de autopolinización hayan

tenido significativamente menor proporción de flores transformadas en frutos que los entrecruzamientos ($F = 10.6442$, $P = 0.0002$) y que esto no suceda en el peso y número de semillas producidas por frutos, indica que la aparente aborción selectiva de frutos en *P. pringlei*, podría estar jugando un papel muy importante en la maximización de la adecuación de los hermafroditas, los cuales parecen retener sólo aquéllos frutos en los que la calidad y el número de semillas es alto.

Cabe señalar que no se sabe nada acerca de las bases genéticas de la depresión por endogamia en *Pachycereus pringlei*. Sería importante discernir si ésta se expresa bajo dominancia parcial o bajo sobredominancia, ya que nos permitiría explicar mejor las consecuencias de la autopolinización en la expresión de la depresión y el papel de este componente en la evolución de la trioecía.

Aspectos evolutivos sobre el dioicismo y ginodioicismo

Pocas especies de cactáceas tienen un sistema reproductivo dioico o subdioico, únicamente cuatro especies del género *Opuntia* (*O. stenopetala*, *O. grandis*, *O. glaucescens* y *O. robusta*) y *Echinocereus coccineus* han sido reportadas como dioicas; y dos especies de *Mamillaria* (*M. dioica* y *M. neopalmen*) han sido reportadas como ginodioicas (Valiente-Banuet et al., 1997). Las cactáceas columnares *Neobuxbaumia mezcalensis* han sido reportadas como androdioica (Valiente-Banuet, 1997) y la única especie tríica que hasta el momento se conoce es *Pachycereus pringlei* (Fleming et al., 1994).

Según el modelo de evolución del dioicismo y ginodioicismo de Charlesworth y Charlesworth (1978), la condición más favorable para que se establezcan las poblaciones ginodioicas se presenta cuando existen altas tasas de autopolinización y una alta depresión por endogamia en los hermafroditas, mientras que las hembras aumentarían su adecuación, ya sea por una mayor producción de semillas o por semillas más pesadas debido al fenómeno de compensación. Así, se propone que son dos los factores que han permitido la evolución del dioicismo y ginodioicismo: el fenómeno de compensación y la depresión por endogamia (Charlesworth y Charlesworth, 1978).

Es importante aclarar que todavía no se sabe el mecanismo que interviene en la determinación del sexo de esta especie. El modelo de Charlesworth y Charlesworth (1978) está planteado para especies diploides, mientras que el cardón es una especie autotetraploide (Murawski et al., 1994). En diploides, las relaciones de dominancia en loci de la esterilidad y las tasas de recombinación entre estos loci pueden afectar las condiciones para que los genes de la esterilidad se establezcan y, a su vez, pueden afectar las frecuencias sexuales en un estado de equilibrio (Charlesworth y Charlesworth, 1978). En una especie autotetraploide es de esperarse que esto también se vea afectado y que incluso las relaciones entre los alelos para la determinación del sexo sea más compleja. Sin embargo, no se espera que esto afecte las condiciones mínimas planteadas por Charlesworth y Charlesworth (1978) para que se pueda establecer alguna clase unisexual en las poblaciones hermafroditas (Fleming et al., 1994), por lo tanto, se consideran válidos los resultados sobre el ginodioicismo mostrados en este apartado.

Existe un componente poblacional muy importante para cada una de las variables de respuesta y en la población San Gabriel se detectó limitación por polen en las hembras, por lo cual es de esperarse que las diferencias de las adecuaciones cambien según la población. Por esto, en cada población se vio si el sistema reproductivo de *P. pringlei* cumple con las condiciones planteadas por el modelo de Charlesworth y Charlesworth (1978) para la aparición del ginodioicismo. Según este modelo, las hembras se podrán establecer en una población hermafrodita, si su fecundidad relativa ($1+kh$) es $> 2(1-s\delta)$.

La adecuación total de los hermafroditas no se vio afectada por depresión por endogamia en ninguna población, entonces $\delta = 0$. Sólo en El Sahuaral tm fue menor que uno y $s = 1 - tm = 0.021$, para el resto de las poblaciones $s = 0$. Debido a que en todos los casos el producto de la depresión y la tasa de autopolinización es cero, para que las hembras se puedan establecer en una población hermafrodita, la ventaja de su fecundidad (kh) tiene que ser el doble de la de los hermafroditas en todas las poblaciones. Por ejemplo, si la adecuación relativa de las hembras con respecto a la de los hermafroditas ($\#$ semillas de hembras / $\#$ semillas hermafroditas) fuera de 1, entonces la ventaja de las hembras (kh) sería

igual a cero. Nuestros datos indican que la adecuación relativa de las hembras de El Sahuaral fue 6.19, por lo que la ventaja de fecundidad de las hembras (kh) es 5.19; en San Nicolás $Kh = 3.75$; en El Sacrificio $kh = 1.34$ y en San Gabriel $Kh = 4.35$. Es fácil ver entonces que en la única población en la que no se explica la existencia de las hembras es en El Sacrificio, donde la adecuación relativa de estas no supera el doble que en las hermafroditas.

A la luz de estos resultados, es paradójico que las hembras de San Gabriel presentaran limitación por polinizadores y que no se afectará de manera importante su adecuación relativa, ya que esta fue 4.35 veces mayor que la de los hermafroditas, mientras que en El Sacrificio, donde no hubo limitación por polinizadores, el modelo sobre la evolución del dioicismo no explica la prevalencia de las hembras en esta población. Esto muestra que la adecuación de las hembras parece estar regida por cuestiones todavía más complejas, que la relación entre abundancia de polinizadores y frecuencia de unisexuados establecida por la hipótesis de la abundancia del polinizador nocturno. Es posible que las hembras de la población El Sacrificio no estén haciendo óptimo uso de los recursos disponibles para la reproducción, por lo que, si bien la presencia de polinizadores es una condición necesaria, no es condición suficiente para que las hembras de estas poblaciones se puedan perpetuar.

Por otra parte, es importante mencionar que el modelo sobre la evolución del ginodioicismo y dioicismo de Charlesworth y Charlesworth (1978) tiene como supuesto que en las poblaciones no existe limitación por polinizadores, lo que no es el caso en este trabajo, por lo que sería importante contrastar estos resultados con algún modelo que sí asuma dicha limitación para evaluar si el modelo de Charlesworth y Charlesworth es el más apropiado para estudiar el caso de *P. pringlei*.

Los resultados sugieren que el sistema reproductivo de *P. pringlei* está evolucionando hacia el dioicismo en algunas poblaciones; si la adecuación de las hembras sigue siendo mayor que la de los hermafroditas estos últimos podrían ir disminuyendo su adecuación por la vía femenina. Si a esto le añadimos que los machos producen significativamente más polen (debido a una mayor producción de flores por noche y por estación (Fleming et al., 1994)) y que su frecuencia en

algunas poblaciones supera bastante a la de los hermafroditas, entonces estos últimos también verían disminuida su adecuación por la vía masculina, sobre todo en aquéllas poblaciones donde la presencia de machos es mayor, lo cual explicaría la frecuencia de sexos en las poblaciones trabajadas. Sin embargo, los datos obtenidos no permiten establecer de manera clara los mecanismos involucrados en la distribución geográfica de los sexos en esta cactácea.

CONCLUSIONES

1. Los resultados obtenidos en este trabajo no apoyan la hipótesis de la abundancia del polinizador nocturno.
2. Las altas tasas de entrecruza y la proporción de flores transformadas en frutos no presentan el patrón poblacional que suponía la hipótesis de trabajo, bajo el marco de la hipótesis de la abundancia del polinizador nocturno.
3. La limitación por polinizadores detectada en las hembras de la población San Gabriel muestra que la eficiencia reproductiva de las hembras es más dependiente de la abundancia de polinizadores que la de los hermafroditas.
4. La mayor adecuación de las hembras, con respecto a la de hermafroditas, se explica por el fenómeno de compensación, expresándose principalmente por dos vías: una mayor proporción de flores transformadas en frutos y un mayor peso de las semillas.
5. Si bien los tratamientos de autopolinización provocaron cierto grado de depresión por endogamia sobre algunos componentes de la adecuación, la adecuación total de las plantas no se vio afectada. Así mismo, las altas tasas de entrecruza muestran que el efecto de la depresión por endogamia es poco probable que se haya dado en condiciones naturales.
6. Los resultados sugieren que la expresión de depresión por endogamia no tiene un efecto pronunciado sobre la adecuación de los hermafroditas.
7. Que el modelo sobre la evolución del ginodioicismo no explique la presencia de hembras en la población El Sacrificio, donde no se detectó limitación por polinizadores, muestra que la presencia de polinizadores es necesaria pero no

es condición suficiente para que las poblaciones ginodioicas puedan mantenerse o evolucionar a un dioicismo.

8. Los resultados obtenidos no permiten establecer claramente los mecanismos involucrados en la variación geográfica de sexos en *Pachycereus pringlei*. Sin embargo, muestran la necesidad de hacer estudios encaminados a conocer si la presencia e importancia de los murciélagos como polinizadores varía entre poblaciones y años, y la posibilidad de que otros polinizadores estén involucrados en la distribución geográfica de los sexos. Así mismo, es importante conocer cómo se determina el sexo en esta planta; si existe una aborción selectiva de frutos; conocer las bases genéticas de la depresión por endogamia; y hacer análisis de paternidad, para hacer predicciones más precisas acerca de las consecuencias que los patrones de polinización pueden tener sobre la aparición, el mantenimiento y la evolución de la trioecia en *Pachycereus pringlei*.

BIBLIOGRAFÍA

- Bawa, K.S. y J.H. Beach. 1981. Evolution of sexual systems in flowering plants. *Annals of the Missouri Botanical Garden* 68: 254-274
- Bawa, K.S. y C.J. Webb. 1984. Flower, fruit and seed abortion in tropical forest trees: Implications for the evolution of paternal and maternal reproductive patterns. *Am. J. Bot.* 71: 736-751
- Bell, G. 1997. *Selection. The mechanism of evolution.* Chapman & Hall. USA.
- Bertin, R.I. 1985. Non random fruit production in *Campsis radicans*: between-year consistency and effects of prior pollination. *Am. Nat.* 126: 750-759
- Bierzuchudek, P. 1981. Pollinator limitation of plant reproductive effort. *American Naturalist* 117: 838-840
- Bowers, J.E. 1998. Reproductive potential and minimum reproductive size of *Ferocactus wislizeni* (Cactaceae). *Desert Plants* 14: 3-7
- Bravo-Hollis, H. 1978. Las cactáceas de México. Tomo I. Universidad Nacional Autónoma de México. México, D. F.
- Campbell, D.R. 1987. Interpopulational variation in fruit production: the role of pollination-limitation in the Olympic Mountains. *Am. J. Bot.* 74: 269-273
- Carr, D.E. y M.R. Dudash. 1996. Inbreeding depression in two species of *Mimulus* (Scrophulariaceae) with contrasting mating system. *Am. J. Bot.* 83: 586-593
- Casper, B.B. 1984. On the evolution of embryo abortion in the herbaceous perennial *Cryptantha flava*. *Evolution* 38: 1337-1349
- Casper, B.B. 1988. Evidence for selective embryo abortion in *Cryptantha flava*. *Am. Nat.* 132: 318-326

- Charlesworth B. y D. Charlesworth. 1978. A model for the evolution of dioecy and gynodioecy. *The American Naturalist* 112: 975-996
- Del Castillo, R.F. 1986. La selección natural de los sistemas de cruzamiento en *Opuntia robusta*. Tesis de maestría en Ciencias, Colegio de Postgraduados, Chapingo, México, México.
- Delph, L.F., M.F. Bailey y D.L. Marr. 1999. Seed provisioning in gynodioecious *Silene acaulis* (Caryophyllaceae). *Am. J. Bot.* 86: 140-144
- Dudash, M.R. 1993. Variation in pollen limitation among individuals of *Sabatia angularis* (Gentianaceae). *Ecology* 74: 959-962
- Eguiarte , L.E. y A. Búrquez. 1988. Reducción de la fecundidad en *Manfreda brachystachya* (Cav.) Rose, una agavácea polinizada por murciélagos: los riesgos de la especialización en la polinización. *Bol. Soc. Bot. México* 48: 147-149
- Eguiarte, L.E., J. Nuñez-Farfán, C. Domínguez y C. Cordero. 1992. Biología evolutiva de la reproducción en plantas. *Ciencias. No especial* 6: 69-86
- Fleming, T.H., S. Maurice, S.L. Buchmann y M.D. Tuttle. 1994. Reproductive biology and relative male and female fitness in a trioecious cactus, *Pachycereus pringlei* (Cactaceae). *Am. J. Bot.* 81: 858-867
- Fleming, T.H., M. D. Tuttle y M. A. Horner. 1996. Pollination biology and the relative importance of nocturnal and diurnal pollinators in three species of Sonoran desert columnar cacti. *The Southwestern Naturalist* 41: 257-269
- Fleming, T.H., S. Maurice y J.L. Hamrick. 1998. Geographic variation in the breeding system and the evolutionary stability of trioecy in *Pachycereus pringlei* (Cactaceae). *Evolutionary Ecology* 12: 279-289
- Fleming, T.H. 2000. Pollination of cacti in the Sonoran desert. *American Scientist* 88: 432-439

- Futuyma, D. J. 1998. Evolutionary biology. Sinauer Associates. USA
- Gibson, J.P. y N.T. Wheelwright. 1996. Mating system dynamics of *Ocotea tenera* (Lauraceae), a gynodioecious tropical tree. Am. J. Bot. 83: 890-894
- Golubov, J., L.E. Eguiarte, M.C. Mandujano, J. López-Portillo y C. Montaña. 1999. Why be a honeyless honey mesquite? Reproduction and mating system of nectarful and nectarless individuals. Am. J. Bot. 86: 955-963
- Gottlieb, L.D. 1982. Conservation and duplication of isozymes in plants. Science 216: 373-380
- Gottlieb, L.D. y G. Pilz. 1976. Genetic similarity between *Gaura longiflora* and its obligated outcrossing derivative *G. demareei*. Systematic Botany 1: 181-187.
- Grant, V. 1975. Genetics of flowering plants. Columbia University Press. USA
- Gutián, J., P. Gutián y L. Navarro. 1996. Fruit set, fruit reduction, and fruiting strategy in *Cornus sanguinea* (Cornaceae). Am. J. Bot. 83: 744-748
- Harder, L.D. Y y S.C.H. Barrett. 1996. Pollen dispersal and mating patterns in animal pollinated plants, en Lloyd, D. G. y S.C.H. Barret (editores). Floral biology studies on floral evolution in animal-pollinated plant. Chapman & Hall. USA
- Herrera, M.C. 1996. Floral traits and plant adaptation to insect pollinators: a devil's advocate approach, en Lloyd, D. G. y S.CH Barret (editores). Floral biology studies on floral evolution in animal-pollinated plant. Chapman & Hall. USA
- Hoffman, M.T. 1992. Functional dioecy in *Echinocereus coccineus* (Cactaceae): Breeding system, sex ratios, and geographic range of floral dimorphism. Am. J. Bot. 79:1382-1388
- Husband, B.C. y D.W. Schemske. 1996. Evolution of the magnitude and timing of inbreeding depression in plants. Evolution 50: 54-70

- Husband, B.C. y D.W. Schemske. 1997. The effect of inbreeding in diploid and tetraploid populations of *Epilobium angustifolium* (Onagraceae): Implications for the genetic basis of inbreeding depression. *Evolution* 51: 737-746
- Inouye, W. D., E. G. Douglas, M.R. Dudash y C. B. Fenster. 1994. A model and lexicon for pollen fate. *Am. J.Bot.* 81: 1517-1530
- Johnson, R.A. 1992. Pollination and reproductive ecology of Acuña Cactus, *Echinomastus erectocentrus* var. *acunensis* (Cactaceae). *Int. J. Plant Sci.* 153: 400-408
- Koptur, S. 1984. Outcrossing and pollinator limitation of fruit set: Breeding systems of neotropical *Inga* trees (Fabaceae: Mimosoideae). *Evolution* 38: 1130-1143
- Lee, D.T. 1988. Patterns of fruit and seed production, en *Plant reproductive ecology.. Patterns and strategies*. Jon Lovett Doust & Lesley Lovett Doust (editors).U.S.A., pp: 179-202
- Lloyd, D.G. 1975. The maintenance of gynodioecy and androdioecy in angiosperms. *Genetica* 45: 325-339
- Maynard, S.J. 1989. *Evolutionary genetics*. Oxford University Press. USA
- McGregor, S.E., M.A. Stanley y G. Olin. 1961. Pollination of Saguaro cactus by doves, nectar-feeding bats and honey bees. *Science* 133: 1594-1595
- McGregor, S.E., M.A. Stanley y G. Olin. 1962. Pollination and polinating agents of the saguaro. *Ecology* 43: 259-267
- Meagher T.R. 1988. Sex determination in plants. In Doust J.L. and L.L. Doust (eds.). *Plant Reproductive Ecology*, Oxford University Press, New York, 125-138.
- Melser, Ch., M.C.J. Rademaker y P.G.L. Klink Hamer. 1997. Selection on pollen donors by *Echium vulgare* (Boraginaceae). *Sex Plant Reprod* 10: 305-312

- Méndez, I. 1977. Experimentos factoriales confundidos. IIMAS - UNAM. Serie Azul: Monografías No. 26. México
- Mitton, J.B., Y. Linhart, B.K. Sturgeon y J.L. Hamrick. 1979. Allozyme polymorphisms detected in mature needle tissue of ponderosa pine. *Journal of Heredity* 70: 86-89
- Morgana, M.T. 1998. Female fertility per flower and trade-offs between size and number in *Claytonia virginica* (Portulacaceae). *Am. J. Bot.* 85: 1231-1236
- Murawski, D.A., T.H. Fleming, K. Ritland y J.L. Hamrick. 1994. Mating system of *Pachycereus pringlei*, an autotetraploid cactus. *Heredity* 72: 86-94
- Nassar, J.M., N. Ramírez y O. Linares. 1997. Comparative pollination biology of venezuelan columnar cacti and the role of nectar-feeding bats in their sexual reproduction. *Am. J. Bot.* 84: 918-927
- Niesenbaum, R.A. 1999. The effects of pollen load size and donor diversity on pollen performance, selective abortion, and progeny vigor in *Mirabilis jalapa* (Nyctaginaceae). *Am. J. Bot.* 86: 261-268
- Norman, J.K., S.G. Weller y A.K. Sakai. 1997. Pollination biology and outcrossing rates in hermaphroditic *Schiedea lydgatei* (Caryophyllaceae). *Am. J. Bot.* 84: 641-648
- Núñez-Farfán, J., R.A. Cabrales-Vargas y R. Dirzo. 1996. Mating system consequences on resistance to herbivory and life history traits in *Datura stramonium*. *Am. J. Bot.* 83: 1041-1049
- Puterbaugh, M.N., A. Wied y C. Galen. 1997. The functional ecology of gynodioecy in *Eritrichum aretioides* (Boraginaceae), the alpine forget-me-not. *Am. J. Bot.* 84: 393-400
- Richards, A.J. 1986. Plant breeding systems. Allen & Unwin. London, U.K.
- Ritland, K. 1990. A series of FORTRAN computer programs for estimating plant mating systems. *The Journal of Heredity* 81: 235-237

- Rojas-Martínez, A.E. y A. Valiente-Banuet. 1996. Análisis comparativo de la quiroptero-fauna del valle de Tehuacán-Cuicatlán, Puebla-Oaxaca. *Acta Zool. Mex.* 67:1-23
- Sahley, C.T. 1996. Bat and hummingbird pollination of an autotetraploid columnar cactus, *Weberbauerocereus weberbaueri* (Cactaceae). *Am. J. Bot.* 83: 1329-1336
- Sakai, A.K., G. Weller, C. Mei-Ling, C. Shian-Yean y T. Chirichan. 1997. Evolution of gynodioecy and maintenance of females: The role of inbreeding depression, outcrossing rates, and resource allocation in *Schiedea adamantis* (Caryophyllaceae). *Evolution* 51: 724-736
- Scogin, R. 1985. Nectar constituents of the cactaceae. *The Southwestern Naturalist* 30: 77-82
- Simpson, B.B. y J.L. Neff. 1987. Pollination ecology in the arid southwest. *ALISO* 11: 417-440
- Simons, A.M. y M.O. Johnston. 2000. Variation in seed traits of *Lobelia inflata* (Campanulaceae): sources and fitness consequences. *Am. J. Bot.* 87: 124-132
- Sokal R.R. y F.J. Rohlf. 1969. *Biometry. The principles and practice of statistics in biological research.* W.H. Freeman and Company. New York, USA
- Soltis, D.E., C.H. Haufler, D.C Darrow y G.J. Gastony. 1983. Starch gel electrophoresis of ferns: a compilation of grinding buffers, gel and electrode buffers and staining schedules. *American Fern Journal* 73: 9-15.
- Sosa, V. J. y T.H. Fleming. 1999. Seedling performance in a trioecious cactus, *Pachycereus pringlei*: Effects of maternity and paternity. *Plant Syst. Evol.* 218: 145-151
- Stansfield, D.W. 1992. *Genética.* Mc Graw Hill. México, D.F.
- Stephenson A.G. 1981. Flower and fruit abortion: Proximate causes and ultimate functions. *Ann. Rev. Ecol. Syst.* 12: 253-279

- Stephenson, A.G. y J.A. Winsor. 1986. *Lotus corniculatus* regulates offspring quality through selective fruit abortion. *Evolution*, 40: 453-458
- Stöcklin J. 1997. Competition and the compensatory regulation of fruit and seed set in the perennial herb *Epilobium dodonaei* (Onagraceae). *Am. J. Bot.* 84: 763-768
- Sutherland, S. y L. F. Delph. 1984. On the importance of male fitness in plants: Patterns of fruit set. *Ecology* 65: 1093-1104
- Turner, R.M., J.E. Bowers y T.L. Burgess. 1995. *Sonoran Desert Plants*. University of Arizona Press. Tucson, Az. USA
- Valiente-Banuet, A., M.C. Arizmendi, A. Rojas-Martínez y L. Domínguez-Canseco. 1996. Ecological relationships between columnar cacti and nectar-feeding bats in Mexico. *Journal of Tropical Ecology* 12: 103-119
- Valiente-Banuet, A., A. Rojas-Martínez, A. Casas, M. C. Arizmendi y P. Dávila. 1997a. Pollination biology of two winter-blooming giant columnar cacti in Tehuacán valley, central Mexico. *Journal of Arid Enviroments* 37: 331-341
- Valiente-Banuet, A., A. Rojas-Martínez, M.C. Arizmendi y P. Dávila. 1997b. Pollination biology of two columnar cacti (*Neobuxbaumia mezcalensis* and *Neobuxbaumia macrocephala*) in the Tehuacán valley, central Mexico. *Am. J. Bot.* 84: 452-455
- Westergaard, M. 1958. The mecanism of sex determination in dioecious plants. *Adv. Genet.* 9: 217-281
- Wilkinson, G.S. y T.H. Fleming. 1996. Migration and evolution of lesser long-nosed bats *Leptonycteris curasoae*, inferred from mitochondrial DNA. *Molecular Ecology* 5: 329-339
- Zimmerman, M. y G.H. Pyke. 1988. Reproduction in *Polemonium*: Assessing the factors limiting seed set. *The American Naturalist* 131: 723-738

APÉNDICE A

Buffer de extracción de Mitton et al. (1979)

Para preparar 100 ml de buffer es necesario pesar 0.093 g de Dióxido de Germanio y disolverlo en 65 ml de agua destilada, hervirlo hasta que se disuelva y dejar que enfrie a temperatura ambiente.

Posteriormente, agregar:

0.3 g	Ácido dietildiocarbámico
4.4 g	Polivinilpirrolidone
4.4 g	Ascorbato de sodio
0.33 g	Metabisulfito de sodio
1.21 g	Borato de sodio
8.8 ml	0.16 M buffer fosfato pH 7.0 *

Finalmente, se agrega:

8.8 ml	Sulfóxido de dimetil
0.8 ml	1-Fenoxietanol
0.18 ml	B-Mercaptoetanol

*Para preparar 100 ml de buffer fosfato pH 7.0 se pesan 2.272 g de fosfato dibásico y se afora a 100 ml.

Receta para preparar el sistema del buffer

Sistema 7 Soltis et al., (1983)

El sistema 7 es una modificación del amortiguador del sistema de Gottlieb (1981; en Soltis et al., 1983).

Buffer del Electrodo

0.038 M LiOH, 0.188 M ácido Bórico; 1.60g LiOH.H₂O, 11.60g ácido Bórico. El pH fue ajustado con componentes secos.

Buffer del Gel

0.045 M tris, 0.007 M ácido cítrico, 0.004 M LiOH, 0.019 M ácido Bórico; (5.45g Tris, 1.28g ácido cítrico, llevar a 900ml), añadir 100 ml del buffer del electrodo para dar un proporción de 9:1, ajustar pH con 1 M NaOH.

Recetas de Tinción

Los métodos utilizados para la tinción de cada una de las enzimas antes mencionadas se basaron en el trabajo de Soltis et al (1983).

Glucosa-6-Fosfato deshidrogenasa (G6PDH)*

1.0 M Tris-Hcl (amortiguador), PH 8.0	10 ml
H ₂ O	90 ml
Glucosa-6-fosfato, sal disodica	100 mg
NADP	20 mg
MTT	10 mg/ml
PMS	2 mg/ml

Incubado a 37° C en la obscuridad, una modificación de Shaw y Prasad (1970).

* Aunque Soltis et al. (1983) da la opción de utilizar NAD para la PGI en lugar de NADP, por ser aquella menos costosa que la última siempre obtuve mejor resolución con NADP.

Malato deshidrogenasa (MDH)

1.0 M Tris-Hcl (amortiguador), PH 8.0	10 ml
2.0 M DL-acido málico, PH 8.0	10 ml
(Añadir NaOH para ajustar a un PH de 8.0)	
H ₂ O	80 ml
NAD	10 mg
MTT	10 mg
PMS	2 mg

APÉNDICE B

Tipo de herencia para la enzima G6PDH bajo dos modelos de herencia: herencia azarosa de cromosomas (SCRA) y herencia azarosa de cromátidas (SCDA), en la progenie producto de autopolinización de dos hembras de genotipo conocido.

Frec Esp = Frecuencia esperada según el modelo de segregación.

Genotipo Materno 1	Genotipo de la progenie	Frecuencias Observadas	Frec. Esp SCRA	Frec. Esp SCDA	Genotipo Materno 2	Genotipo de la progenie	Frecuencias observadas	Frec. Esp SCRA	Frec. Esp SCDA
ssmm x ssmm	ssss	2	1.32	2.024	ssmm x ssmm	ssss	1	1.32	2.024
n = 43	sssm	12	9.68	10.78	n = 44	sssm	9	9.68	10.78
	ssmm	21	22	18.392		ssmm	21	22	18.392
	smmm	7	9.68	10.78		smmm	12	9.68	10.78
	mmmm	1	1.32	2.024		mmmm	1	1.32	2.024
	Ji Cuadrada	=	1.771349862	2.35169722		Ji Cuadrada	=	0.804407713	1.837943892
			P > 0.10	P > 0.10				P > 0.90	P > 0.10

La herencia de la enzima G6PDH se ajusta a ambos tipos de herencia, sin embargo, no es posible discernir a cuál de los dos pertenece. Una muestra más grande nos permitiría ver a cual de los dos modelos se ajusta mejor.

Resultados del análisis de varianza en el que se analiza el efecto de los factores población, sexo y tratamiento sobre la adecuación* de plantas hembras y hermafroditas en cuatro poblaciones de *P. pringlei*. R^2 ajustada = 0.5992.

Fuentes de variación	CMD	Cuadrados Medios (CM)	Grados de libertad	F F = CM / CMD	P
Población	0.04376	0.01831	3	0.4185	0.7400
Sexo	0.04364	0.23649	1	5.419	0.0211
Población x Sexo	0.04376	0.02865	3	0.6548	0.5811
Planta [Población, Sexo]	0.01631	0.05171	138	3.1699	0.0000
Tratamiento	0.01631	0.02004	1	1.2287	0.2706
Tratamiento x Población	0.01631	0.07226	3	4.4299	0.0060
Tratamiento x Sexo	0.01631	0.02652	1	1.6258	0.2056
Tratamiento x Sexo x Población	0.01631	0.13163	3	8.0696	0.0000

* Adecuación = Número de frutos de la muestra x número de semillas por fruto x peso de las semillas.
No fue necesario transformar los datos para que se ajustaran a una distribución normal.

Resultados del análisis de varianza en el que se analiza el efecto de los factores población, sexo y tratamiento sobre la proporción de flores transformadas en frutos (Frutos / Flores), en plantas hembras y hermafroditas en cuatro poblaciones de *P. pringlei*. R^2 ajustada = 0.7087.

Fuentes de variación	CMD	Cuadrados Medios (CM)	Grados de libertad	F F = CM / CMD	P
Población	0.1631	0.63038	3	3.908	0.0101
Sexo	0.1631	5.51227	1	34.1723	0.0000
Población x Sexo	0.1631	0.08644	3	0.5359	0.6584
Planta [Población, Sexo]	0.03502	0.16131	152	4.6062	0.0000
Tratamiento	0.03502	0.00107	1	0.0307	0.8612
Tratamiento x Población	0.03502	0.13875	3	3.962	0.0094
Tratamiento x Sexo	0.03502	0.05314	1	1.5173	0.2199
Tratamiento x Sexo x Población	0.03502	0.12546	3	3.5825	0.0153

La transformación Box Cox indicó que la mejor transformación fue (Frutos/Flores+1) e 0.4 (-1) / 0.6864815 para que su distribución se acercara más a una distribución normal.

CMD = Cuadrados medios del denominador.

Resultados del análisis de varianza en el que se analiza el efecto de los factores población, sexo y tratamiento sobre el número de semillas maduras por fruto, en plantas hembras y hermafroditas en cuatro poblaciones de *P. pringlei*. R^2 ajustada = 0.7132.

Fuentes de variación	CMD	Cuadrados Medios (CM)	Grados de libertad	F F = CM / CMD	P
Población	207792	1001510	3	4.8198	0.0031
Sexo	207087	275331	1	1.3295	0.2507
Población x Sexo	207792	279167	3	1.3435	0.2624
Planta [Población, Sexo]	51642.6	246488	139	4.773	0.0000
Tratamiento	51642.6	82225.4	1	1.5922	0.2101
Tratamiento x Población	51642.6	12552.8	3	0.2431	0.8661
Tratamiento x Sexo	51642.6	79056.8	1	1.5308	0.2190
Tratamiento x Sexo x Población	51642.6	121753	3	2.3576	0.0766

La transformación Box Cox indicó que para el número de las semillas, lo mejor era no transformar los datos para que su distribución se acercara más a una distribución normal.
CMD = Cuadrados medios del denominador.

Resultados del análisis de varianza en el que se analiza el efecto de los factores población, sexo y tratamiento sobre el peso de las semillas por fruto, en plantas hembras y hermafroditas en cuatro poblaciones de *P. pringlei*. R^2 ajustada = 0.6736.

Fuentes de variación	CMD	Cuadrados Medios (CM)	Grados de libertad	F F = CM / CMD	P
Población	1.48x 10 e-6	0.00001	3	8.9991	0.0000
Sexo	1.47x 10 e-6	0.00002	1	12.1209	0.0006
Población x Sexo	1.48x 10 e-6	5.61x 10 e-7	3	0.3792	0.7682
Planta [Población, Sexo]	4.82x 10 e-7	1.73x 10 e-6	139	3.5826	0.0000
Tratamiento	4.82x 10 e-7	1.56x 10 e-6	1	3.2398	0.0750
Tratamiento x Población	4.82x 10 e-7	2.18x 10 e-6	3	4.5176	0.0052
Tratamiento x Sexo	4.82x 10 e-7	1.04x 10 e-6	1	2.1665	0.1444
Tratamiento x Sexo x Población	4.82x 10 e-7	2.44x 10 e-8	3	0.0507	0.9848

La transformación Box Cox indicó que para el peso de las semillas, lo mejor era no transformar los datos para que su distribución se acercara más a una distribución normal. CMD = Cuadrados medios del denominador.

Resultados del análisis de varianza en el que se analiza el efecto de los factores población, sexo y tratamiento sobre la proporción de flores transformadas en frutos (frutos/flores), en plantas hermafroditas en cuatro poblaciones de *P. pringlei*.

R² ajustada = 0.4112

Fuentes de variación	CMD	Cuadrados Medios (CM)	Grados de libertad	F = CM / CMD	P
Población	0.0762	0.10168	3	1.3344	0.2695
Tratamiento	0.03362	0.35784	1	10.6442	0.0017
Planta [Población]	0.03362	0.0762	76	2.2667	0.0002
Tratamiento x Población	0.03362	0.0233	3	0.6929	0.5592

La transformación Box Cox indicó que la mejor transformación fue (Frutos/Flores)^{+ (0.1 exp -0.2) -1} / -1.0395042 para que su distribución se acercara más a una distribución normal.

CMD = Cuadradosmedios del denominador.

Resultados del análisis de varianza en el que se analiza el efecto de los factores población, sexo y tratamiento sobre el número de semillas maduras producidas por fruto, en plantas hermafroditas en cuatro poblaciones de *P. pringlei*.

R² ajustada = 0.7189.

Fuentes de variación	CMD	Cuadrados Medios (CM)	Grados de libertad	F = CM / CMD	P
Población	148910	395666	3	2.6571	0.0585
Tratamiento	48204.1	399.628	1	0.0083	0.0928
Planta [Población]	48204.1	179192	43	3.7174	0.0040
Tratamiento x Población	48204.1	85269.9	3	1.7689	0.1962

La transformación Box Cox indicó que la mejor transformación fue (# de semillas exp 1.2) -1 / 4.82495079 para que su distribución se acercara más a una distribución normal.

Resultados del análisis de varianza en el que se analiza el efecto de los factores población, sexo y tratamiento sobre el peso de las semillas producidas por fruto, en plantas hermafroditas en cuatro poblaciones de *P. pringlei*. R² ajustada = 0.7931.

Fuentes de variación	CMD	Cuadrados Medios (CM)	Grados de libertad	F = CM / CMD	P
Población	1.5x 10 e-6	2.36 x 10 e-6	3	2.769	0.0518
Tratamiento	5.01x 10 e-7	1.28 x 10 e-8	1	0.0629	0.8054
Planta [Población]	5.01x 10 e-8	1.05 x 10 e-6	43	5.1361	0.0006
Tratamiento x Población	5.01x 10 e-9	2.12 x 10 e-7	3	1.0375	0.4044

La transformación Box Cox indicó que la mejor transformación fue (peso de semillas exp 1.8) -1 / 0.02435873 para que su distribución se acercara más a una distribución normal.

APÉNDICE C

Cuadro comparativo de la adecuación*, media y error estándar entre los tratamientos de polinización de hembras y hermafroditas para cuatro poblaciones de *P. pringlei*.

	Entrecruza hembras Adecuación	Entrecruza hermafroditas Adecuación	Control hembras Adecuación	Control hermafroditas Adecuación
El Sahuaral	0.196163	0.1846	0.339623	0.04394
Error Std	0.04312	0.0516	0.0293	0.03097
N	12	9	19	17
t =		0.3349		6.935
P =		0.7385 b		0.0000 a
San Nicolás	0.2762	0.2234	0.1862	0.1411
Error Std	0.0333	0.0478	0.0316	0.03407
N	17	10	18	15
t =		3.1		0.2669
P =		0.0026 a		0.7901 b
El Sacrificio	0.2444	0.2209	0.2353	0.2097
Error Std	0.0368	0.0447	0.0285	0.0309
N	15	11	20	17
t =		1.301		0.608
P =		0.1967 b		0.5445 b
San Gabriel	0.2505	0.2684	0.1826	0.0994
Error Std	0.0300	0.0558	0.0300	0.0309
N	19	8	19	17
t =		0.695		1.736
P =		0.4889 b		0.0860 b

a muestra diferencias significativas entre los tratamientos ($P < 0.05$); **b** muestra diferencias estadísticas no significativas entre tratamientos ($P > 0.05$). * Adecuación = Número de frutos de la muestra x Número promedio de semillas por fruto x Peso promedio de semillas.

Cuadro comparativo de la eficiencia reproductiva (Frutos / Flores), media y error estándar entre los tratamientos de polinización de hembras y hermafroditas para cuatro poblaciones de *P. pringlei*.

	Entrecruza hembras Frutos / Flores (%)	Entrecruza hermafroditas Frutos / Flores (%)	Control hembras Frutos / Flores (%)	Control hermafroditas Frutos / Flores (%)
El Sahuaral	32.45	21.25	57.5	16.25
Error Std	0.06568	0.06354	0.07716	0.04892
N	80	80	80	80
t =		2.194		6.712
P =		0.0297 a		0.0000 a
San Nicolás	70.25	35	63	32.5
Error Std	0.06193	0.08584	0.05842	0.08331
N	80	80	80	80
t =		5.884		5.534
P =		0.0000 a		0.0000 a
El Sacrificio	56.15	41.45	65.3	45.75
Error Std	0.07554	0.07903	0.06674	0.08939
N	80	80	80	80
t =		2.485		3.516
P =		0.014 a		0.0006 a
San Gabriel	72.75	41.7	56.45	32.45
Error Std	0.06771	0.0982	0.07723	0.06969
N	80	80	80	80
t =		5.437		3.723
P =		0.0000 a		0.0003 a

a; muestra diferencias significativas entre los tratamientos ($P < 0.05$).

Cuadro comparativo del número de semillas producidas por fruto, media y error estándar entre los tratamientos de polinización de hembras y hermafroditas para cuatro poblaciones de *P. pringlei*. (No se justificó ningún contraste pues la interacción Tratamiento x Sexo x Población no fue significativa. Remitirse al Apéndice B).

	Entrecruza hembras # semillas	Entrecruza hermafroditas # semillas	Control hembras # semillas	Control hermafroditas # semillas
El Sahuaral	1301.46	1370	1370	1446.06
Error Std	86.612	112.15	85.6	109.47
N	13	9	19	17
San Nicolás	1156.41	1233.27	1048.05	1242.71
Error Std	91.828	135.61	91.908	129.74
N	17	11	19	17
El Sacrificio	1238.13	1207.73	1025.55	1313
Error Std	87.944	75.086	75.086	106.32
N	15	11	20	17
San Gabriel	1234.05	1101	1059.58	992.71
Error Std	88.634	115.87	82.04	136.51
N	19	10	19	17

Cuadro comparativo del peso de las semillas producidas por fruto, media y error estándar entre los tratamientos de polinización de hembras (Hem) y hermafroditas (Her) para cuatro poblaciones de *P. pringlei*. (No se justificó ningún contraste pues la interacción Tratamiento x Sexo x Población no fue significativa. Remitirse al Apéndice B).

	Entrecruza Hem Peso semillas (g)	Entrecruza Her Peso semillas (g)	Control Hem Peso semillas (g)	Control Her Peso semillas (g)
El Sahuaral	0.006355	0.00576	0.00612	0.005332
Error Std	0.00018	0.00027	0.0002	0.00028
N	13	9	19	17
San Nicolás	0.00522	0.005218	0.005391	0.004567
Error Std	0.00027	0.00036	0.00026	0.00037
N	17	11	19	17
El Sacrificio	0.005078	0.004685	0.005367	0.004496
Error Std	0.00029	0.00025	0.00024	0.00026
N	15	11	20	17
San Gabriel	0.004304	0.004343	0.005211	0.004698
Error Std	0.00012	0.00016	0.00028	0.00043
N	19	10	19	17

Cuadro comparativo de la eficiencia reproductiva (Frutos / Flores), media y error estándar entre los tratamientos de polinización de los hermafroditas para cuatro poblaciones de *P. pringlei*. (No se justificó ningún contraste pues la interacción Tratamiento x Población no fue significativa. Remitirse al Apéndice B).

	Autopolinización Frutos / Flores	Entrecruzamiento Frutos / Flores
El Sahuaral	0.1375	0.2125
Error Std	0.0528	0.06354
<i>N</i>	20	20
San Nicolás	0.275	0.35
Error Std	0.07885	0.08584
<i>N</i>	20	20
El Sacrificio	0.275	0.4145
Error Std	0.07456	0.07903
<i>N</i>	20	20
San Gabriel	0.135	0.417
Error Std	0.06125	0.0982
<i>N</i>	20	20

Cuadro comparativo del número de semillas producido por fruto, media y error estándar entre los tratamientos de polinización de los hermafroditas para cuatro poblaciones de *P. pringlei*. (No se justificó ningún contraste pues la interacción Tratamiento x Población no fue significativa. Remitirse al Apéndice B).

	Autopolinización # semillas	Entrecruzamiento # Semillas
El Sahuaral	1437.25	1594.78
Error Std	261.17	112.15
<i>N</i>	4	9
San Nicolás	876.88	1233.27
Error Std	172.7	135.61
<i>N</i>	8	11
El Sacrificio	1247	1207.73
Error Std	71.87	114.26
<i>N</i>	7	11
San Gabriel	1086.33	1101
Error Std	89.91	115.87
<i>N</i>	6	10

Cuadro comparativo del peso de las semillas producidas por fruto (g), media y error estándar entre los tratamientos de polinización de los hermafroditas para cuatro poblaciones de *P. pringlei*. (No se justificó ningún contraste pues la interacción Tratamiento x Población no fue significativa. Remitirse al Apéndice C).

	Autopolinización Peso semillas (g)	Entrecruzamiento Peso semillas (g)
Sahuaral	0.005029	0.00576
Error Std	0.00037	0.00027
N	4	9
San Nicolás	0.004459	0.005218
Error Std	0.00056	0.00036
N	8	11
Sacrificio	0.004622	0.004685
Error Std	0.0002	0.00025
N	7	11
San Gabriel	0.004671	0.004343
Error Std	0.00027	0.00016
N	6	10

**ESTA TESIS NO SALE
DE LA BIBLIOTECA**