



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA
DE MÉXICO

FACULTAD DE CIENCIAS

Biología reproductiva de *Thelocactus leucacanthus* ssp.
schmollii (Cactaceae)

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

BIÓLOGA

P R E S E N T A:

VERÓNICA DELGADO RAMÍREZ



DIRECTORA DE TESIS:
DRA. SONIA VÁZQUEZ SANTANA

Ciudad Universitaria, CDMX, 2020



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

1. Datos del alumno

Delgado

Ramírez

Verónica

55 2093 5506

Universidad Nacional Autónoma de México

Facultad de Ciencias

Biología

313024212

2. Datos del asesor

Dra.

Sonia

Vázquez

Santana

3. Datos del sinodal 1

Dra.

María del Carmen

Mandujano

Sánchez

4. Datos del sinodal 2

Dra.

Martha Juana

Martínez

Gordillo

5. Datos del sinodal 3

M. en C.

Aldebaran

Camacho

Velázquez

6. Datos del sinodal 4

Biól.

Gabriel

Olalde

Parra

7. Datos de la tesis

Biología reproductiva de *Thelocactus leucacanthus* ssp. *schmollii* (Cactaceae)

55 pp.

2020

A mis padres, que me han apoyado para que luche por mis sueños, que me han guiado para que sea una persona exitosa y que han creído en mí.

A mis hermanos que a lo largo de toda la carrera me provocaron una sonrisa con sus ocurrencias y su apoyo, haciéndola más llevadera en los malos momentos.

A Reinhard, quien me ha apoyado en muchos ámbitos de mi vida, tanto académica como emocional, gracias por todo.

A los profesores que me inspiraron a estudiar esta maravillosa carrera y que me hicieron amar la vida y su estudio, la biología.

A todas las personas que me apoyaron de alguna forma en la realización de este trabajo.

AGRADECIMIENTOS

A la Universidad Nacional Autónoma de México y a la Facultad de Ciencias por abrirme muchas puertas y darme la formación que tengo desde la preparatoria.

Al Laboratorio de Desarrollo en Plantas por proporcionarme todo el material y recursos para que este trabajo se llevara a cabo dentro del taller titulado: "*Biología de la reproducción, propagación y fisiología de angiospermas que viven en ambientes contrastantes*", el cual es impartido por la Dra. Guadalupe Judith Márquez Guzmán, la Dra. Margarita Collazo Ortega, la Dra. Sonia Vázquez Santana, la M. en C. Laura Patricia Olguín Santos y el Dr. Javier Andrés Juárez Díaz.

A la Dra. Sonia Vázquez Santana por darme su apoyo y sus consejos, además de los medios para el desarrollo de este trabajo.

A la Dra. María del Carmen Mandujano Sánchez, a la Dra. Martha Juana Martínez Gordillo, al M. en C. Aldebaran Camacho Velázquez y al Biól. Gabriel Olalde Parra por formar parte de mi jurado de tesis y que con sus aportaciones que enriquecieron mi trabajo en todos los aspectos.

Al M. en C. Aldebaran Camacho Velázquez por sus enseñanzas tanto en el trabajo de campo como en el laboratorio.

Al Laboratorio de Microcine de la Facultad de Ciencias y a la M. en F.P. Ana Isabel Bieler Antolín por la toma de micrografías en microscopía de luz y de fluorescencia.

Al Laboratorio de Microscopía Electrónica de Barrido de la Facultad de Ciencias a cargo de la Dra. Silvia Espinosa Matías, quien se encargó del procesamiento del material y de la toma de fotografías al MEB.

Al M. en C. Pactli Fernando Ortega García por ayudarme y enseñarme a identificar a los insectos.

A mis compañeros del laboratorio por su apoyo con el trabajo de campo y por las sugerencias que me hicieron para mejorar mi trabajo.

La presente investigación fue desarrollada en la materia del Taller: ***Biología de la reproducción, propagación y fisiología de angiospermas que viven en ambientes contrastantes*** del Plan de estudios de la Carrera de Biología en la Facultad de Ciencias de la Universidad Nacional Autónoma de México.

ÍNDICE

RESUMEN.....	1
INTRODUCCIÓN	2
ANTECEDENTES	4
Subfamilia Cactoideae.....	5
Características generales del género <i>Thelocactus</i>	8
OBJETIVOS.....	10
Objetivo general.....	10
Objetivos particulares.....	10
MATERIALES Y MÉTODOS.....	11
Población de estudio	11
Especie de estudio	11
Biología floral y sistema de apareamiento.....	12
Determinación del sistema de cruce.....	14
Tasa de entrecruza.....	16
Crecimiento de tubos polínicos como indicador de la presencia/ausencia de un sistema de incompatibilidad	16
Visitantes florales.....	16
Recompensas florales.....	20
RESULTADOS.....	21
Morfología floral	21
Biología floral y sistema de apareamiento.....	22
Sistema de cruce y tasa de entrecruza	25
Crecimiento de tubos polínicos como indicador de la presencia/ausencia de un sistema de incompatibilidad	26
Visitantes florales.....	28
Recompensas florales	32
Observaciones sobre la fragmentación del hábitat por actividades antropogénicas ..	37
DISCUSIÓN.....	38
Biología floral y sistema de apareamiento.....	38
Sistema de cruce y tasa de entrecruza	39
Sistema de autoincompatibilidad	42
Visitantes florales.....	43
Recompensas florales.....	44
Fragmentación del hábitat por actividades antropogénicas.....	45
CONCLUSIONES	47
BIBLIOGRAFÍA	48
ANEXO I.....	55

RESUMEN

Thelocactus leucacanthus ssp. *schmollii* (Cactaceae) cuenta con una distribución restringida al estado de Querétaro y sólo está categorizada como un taxón de preocupación menor en la lista roja de la IUCN, pero no se encuentra en ninguna categoría de la CITES ni de la NOM-059-SEMARNAT. Además, con lo observado en condiciones naturales, su hábitat está siendo amenazado por actividades antropogénicas, lo que obstaculiza su reproducción y reclutamiento. El objetivo de este trabajo fue estudiar la biología reproductiva de este taxón, determinando el sistema de cruza, el sistema de apareamiento, la presencia o ausencia de un sistema de incompatibilidad, sus interacciones con los visitantes florales y potenciales polinizadores.

Con el fin de determinar el sistema de cruza, se realizaron polinizaciones controladas en una población de Querétaro, México. Para evaluar el sistema de apareamiento, se observaron características florales como la presencia o ausencia de hercogamia y dicogamia. Además, las observaciones del crecimiento de tubos polínicos en el pistilo ayudaron a evaluar la presencia/ausencia de un sistema de incompatibilidad. Para corroborar la producción de néctar, se realizó la morfo-anatomía del nectario. Por último, se realizaron observaciones de los visitantes florales.

Con base en el índice de entrecruza, *T. leucacanthus* ssp. *schmollii* es xenógama, esto concuerda con su sistema de cruza, que es por entrecruza estricta, dependiendo de polinizadores para la producción de semillas. Con base en el comportamiento y tasa de visitas, los principales polinizadores son abejas del género *Lasioglossum*, siendo el polen la principal recompensa. De acuerdo con las observaciones de tubos polínicos de los tratamientos de autocruza, se sugiere que presenta autoincompatibilidad a nivel del ovario.

Debido a que este taxón únicamente produce semillas por vía sexual, los daños antropogénicos causados en el área de estudio disminuyen el tamaño de la población, limitando el número de posibles parejas para cruzarse y en consecuencia la inminente disminución de la diversidad genética. La información generada en este trabajo contribuirá al planteamiento de programas de conservación y propagación. Asimismo, con base en su distribución restringida, sus factores intrínsecos y la situación de su hábitat (perturbaciones antropogénicas) se propone que se reevalúe su estatus de conservación en una futura revisión de la IUCN, de la CITES o de la misma NOM-059-SEMARNAT.

INTRODUCCIÓN

La biología reproductiva estudia los mecanismos que tiene una especie para dejar descendencia, ya sea por la vía sexual o asexual. En las angiospermas, ésta comprende diversos tópicos como los sistemas sexuales, sistemas de apareamiento, sistemas de cruza, sistemas de incompatibilidad y biología de la polinización (Morgan y Schoen, 1997; Richards, 1997; Ayasse y Arroyo, 2011; Ramawat *et al.*, 2014; Sreekala, 2017).

Los *sistemas sexuales* se refieren a la forma en la cual el gineceo y el androceo se posicionan espacial, temporal y funcionalmente en los individuos de una población (Barrett, 2002). Éstos influyen directamente en los *sistemas de cruza*, que se refieren a la forma en la cual los gametos masculinos se dispersan y se unen para llevar a cabo la fecundación. Comprenden la autocruza, la entrecruza y el sistema mixto (Richards, 1997; Barrett, 2014). La autocruza (autogamia) es cuando el polen de una flor es depositado sobre el estigma de la misma flor, mientras que la entrecruza ocurre cuando el polen de una flor es transportado al estigma de una flor de una planta diferente. En el sistema mixto, se combinan las características de los dos anteriores (Richards, 1997; Barrett, 2002, 2014).

Un *sistema de incompatibilidad* es un mecanismo bioquímico-genético que permite a la planta receptora del polen reconocer y rechazar el polen propio o de otro individuo que contenga los mismos alelos S que el pistilo y aceptar el polen que contenga alelos S diferentes, pero de la misma especie; evitando la depresión por endogamia y fomentando la entrecruza, aumentando la diversidad genética de la siguiente generación y la capacidad de sobrevivencia en condiciones adversas del ambiente (De Nettancourt, 1977; Ávila-Castañeda y Cruz-García, 2011; Jiménez-Durán y Cruz-García, 2011).

Los *sistemas de apareamiento* se refieren al arreglo en el espacio (hercogamia) y tiempo (dicogamia) de los órganos sexuales y su relación con el diámetro de la corola (Ornduff, 1969;

Cruden, 1977), estas características florales se toman en cuenta para determinar el índice de entrecruza. Este índice es la suma de tres valores asignados a estos rasgos florales y con el cual se puede inferir el sistema de cruza. Cada uno de los valores del índice de entrecruza indican un sistema de apareamiento. El 0 indica cleistogamia, el 1 autogamia obligada, el 2 autogamia facultativa, el 3 xenogamia facultativa y el 4 xenogamia obligada (Cruden, 1977).

Se ha sugerido, que la presencia de hercogamia y dicogamia en la mayoría de las especies hermafroditas previenen la autopolinización, evitando la interferencia sexual (Lloyd y Webb, 1986; Webb y Lloyd, 1986); a diferencia de los sistemas de incompatibilidad, los cuales impiden la autofecundación por medio del reconocimiento y rechazo del polen propio, promoviendo la variabilidad genética en la población (De Nettancourt, 1977). Las especies que son autoincompatibles dependen de polinizadores para el transporte del polen entre individuos, por lo que la atracción de éstos es importante para llevar a cabo la polinización cruzada y así asegurar su éxito reproductivo (Aguilar *et al.*, 2006; Domínguez y Pérez, 2013). Por lo tanto, el sistema de apareamiento, la presencia o ausencia de un sistema de incompatibilidad y la conducta de los polinizadores influyen en la dispersión de los granos de polen de las especies (Barrett, 2014).

A pesar de que diferentes especies de la familia Cactaceae tienen diversas estrategias reproductivas para dejar descendencia, es una de las familias de angiospermas con mayor vulnerabilidad a causa de la extracción ilegal de plantas, de la fragmentación de su hábitat y de la perturbación antropogénica (Mandujano *et al.*, 2010). Los estudios sobre biología reproductiva permiten conocer características propias de las especies que les ayudan a sobrevivir y a mantener sus poblaciones, lo cual ayuda en la propuesta de nuevas estrategias de conservación, es por ello que en el presente estudio se abordan aspectos de la biología reproductiva de *Thelocactus leucacanthus* ssp. *schmollii* (Werdermann) Mosco & Zanovello.

ANTECEDENTES

La familia Cactaceae es originaria de América y cuenta con una distribución desde Canadá hasta el sur de Argentina. Está conformada por aproximadamente 2000 especies nativas de América. La mayoría son plantas xerófitas, es decir, viven en climas áridos y semiáridos, aunque es posible encontrarlas en casi todos los tipos de vegetación, excepto en los acuáticos (Bravo-Hollis, 1978; Anderson, 2001; Ortega-Baes y Godínez-Alvarez, 2006; Mandujano *et al.*, 2010).

Las flores de las cactáceas son sésiles, solitarias y generalmente actinomorfas, con algunas excepciones en especies de los géneros *Cleistocactus* Lem., *Hylocereus* (A. Berger) Britton & Rose, *Schlumbergera* Lem. y *Selenicereus* (A. Berger) Britton & Rose, que tienen flores zigomorfas (Gibson y Nobel, 1986; Mandujano *et al.*, 2010). La gran mayoría de las cactáceas presentan flores hermafroditas y aproximadamente sólo el 1.1% de las especies se han reportado con flores unisexuales (Orozco-Arroyo *et al.*, 2012; Sánchez y Vázquez-Santana, 2018). Los sistemas sexuales diferentes al hermafrodita reportados para la familia Cactaceae son el dioico, ginodioico y trioico (Fleming *et al.*, 1998; Rebman, 2001; Orozco, 2002; Pimienta-Barrios y Del Castillo, 2002; Strittmatter *et al.*, 2002; Sánchez, 2007; Orozco-Arroyo *et al.*, 2012; Hernández-Cruz *et al.*, 2018, 2019). Como consecuencia del dioicismo, las especies que presentan este sistema sexual necesitan de vectores que transporten el polen de un individuo masculino al estigma de un individuo femenino (Bawa, 1980).

Debido a que la mayoría de las plantas son incapaces de transportar sus gametos han desarrollado adaptaciones que les permiten dispersar el polen por medio de vectores abióticos y bióticos (Domínguez y Pérez, 2013). En cuanto a los vectores bióticos, las interacciones generadas son mutualistas, ya que ambas partes se benefician. Las plantas ofrecen recursos como néctar, polen, fragancias o resinas a los animales que dispersan el polen, ya que

forrajean las flores de varios individuos para obtener los recursos (Bascompte y Jordano, 2014).

La polinización, en la gran mayoría de las cactáceas, se da por medio de animales, y de acuerdo con la morfología floral, se puede inferir cuáles son sus potenciales polinizadores, lo que se denomina síndrome de polinización (Fenster *et al.*, 2004). Los síndromes de polinización se determinan bajo el supuesto de que la morfología actual de las flores de una determinada especie, se debe a las interacciones que han tenido a lo largo de la historia evolutiva con sus polinizadores (Pimienta-Barrios y Del Castillo, 2002; Domínguez y Pérez, 2013). A grandes rasgos, en la familia Cactaceae se reconocen cuatro síndromes de polinización, la melitofilia (por abejas; Johnson, 1992; Strong y Williamson, 2007), falenofilia (por polillas; Mandujano *et al.*, 2010), quiropterofilia (por murciélagos; Valiente-Banuet *et al.*, 1997; Badano y Schlumpberger, 2001; Fleming *et al.*, 2009) y ornitofilia (por aves; Nassar *et al.*, 2001; Nassar y Ramírez, 2004).

Subfamilia Cactoideae

La subfamilia Cactoideae comprende aproximadamente 107 géneros, distribuidos en nueve tribus (Anderson, 2001; Arias y Flores, 2013). Sus especies con flores sésiles, solitarias o rara vez agrupadas, de color blanco, amarillo, naranja, rojo, morado o rosa, con simetría actinomorfa, algunas con simetría zigomorfa (Gibson y Nobel, 1986; Arreola, 1997). La mayoría de las flores en la subfamilia Cactoideae son hermafroditas (Arreola, 1997); sin embargo, nueve especies de esta subfamilia presentan flores unisexuales, teniendo sistemas sexuales diferentes al hermafrodita (Camacho-Velázquez *et al.*, 2016). Entre ellas, se encuentran varias especies de *Echinocereus*, como *E. coccineus* Engelm., *E. polyacanthus* Engelm, *E. mombergerianus* G. Frank y *E. pacificus* (Engelm.) Britton & Rose (Hoffman, 1992; Hernández, 2011; Hernández-Cruz *et al.*, 2018), además de otras especies como *Mammillaria dioica* K.

Brandegge (Sánchez y Vázquez-Santana, 2018) y *Pachycereus pringlei* (S. Watson) Britton & Rose (Fleming *et al.*, 1998).

Los sistemas sexuales se relacionan directamente con los sistemas de cruza, pues influyen en la manera en que el polen viaja de un individuo a otro, de una flor a otra en un mismo individuo o de las anteras al estigma de la misma flor (Richards, 1997). En la subfamilia Cactoideae, hasta el momento se han reportado 83 especies que presentan sistemas de entrecruza (Camacho-Velázquez *et al.*, 2016), como *Stenocactus anfractuosus* (Mart.) A. Berger ex A.W. Hill, *Coryphantha cornifera* (DC.) Lem. (Fuentes, 2012), *Cleistocactus baumannii* (Lem.) Lem. y *C. smaragdiflorus* (F.A.C. Weber) Britton & Rose (Gorostiague y Ortega-Baes, 2016), mientras que 38 especies presentan sistemas mixtos (con entrecruza y autocruza; Camacho-Velázquez *et al.*, 2016), como *Ariocarpus fissuratus* (Engelm.) K. Schum. (Martínez-Peralta *et al.*, 2014a, 2014b), *Echinocactus platyacanthus* Link & Otto (Jiménez, 2008) y *Wigginsia vorwerkiana* (Werderm.) D.M. Porter (Chaves, 2000).

Los sistemas de cruza mixtos permiten a las plantas asegurar la reproducción sexual en ausencia o escasez de polinizadores; sin embargo, la autofecundación causa la pérdida de diversidad genética y a largo plazo depresión por endogamia (Kephart *et al.*, 1999). La depresión por endogamia afecta la germinación, crecimiento y sobrevivencia de la descendencia, además de tener un efecto negativo en la fertilidad (Charlesworth y Charlesworth, 1987).

Varias cactáceas hermafroditas presentan diversos mecanismos para reducir o evitar la endogamia y promover la entrecruza, como son la hercogamia, la dicogamia y los sistemas de incompatibilidad (Mandujano *et al.*, 2010; Camacho-Velázquez *et al.*, 2016). La hercogamia, que es la separación espacial de los verticilos sexuales, es un mecanismo muy común entre las cactáceas, por ejemplo, *Echinocactus platyacanthus* (Jiménez, 2008), *Melocactus*

curvispinus Pfeiff. (Nassar *et al.*, 2001), *Pilosocereus moritzianus* (Otto) Byles & G.D. Rowley (Nassar *et al.*, 1997), *P. royenii* (L.) Byles & G.D. Rowley (Rivera-Marchand y Ackerman, 2006) y *Wigginsia vorwerkiana* (Chaves, 2000).

Aunque la dicogamia (separación temporal de las funciones sexuales) es un mecanismo poco estudiado en Cactaceae (Mandujano *et al.*, 2010), se sabe que la protandria (dehiscencia de las anteras antes de la receptividad del estigma) es más común que la protoginia (la receptividad del estigma se presenta antes que las anteras sean dehiscentes). Algunos ejemplos de especies que presentan dicogamia, específicamente protandria dentro de la subfamilia Cactoideae son, *Hylocereus* sp., las anteras abren primero para exponer el polen y el estigma es receptivo aproximadamente tres horas después de la dehiscencia de las anteras (Pimienta-Barrios y Del Castillo, 2002), al igual que *Pilosocereus royenii* (Rivera-Marchand y Ackerman, 2006), *Echinocereus pentalophus* (DC.) Rumpler (Reyes, 2019) y siete especies del género *Ariocarpus* Scheidw. (Martínez-Peralta *et al.*, 2014b).

Aunque la hercogamia y la dicogamia son mecanismos que promueven la entrecruza, no impiden del todo la autofecundación. Es por esto que generalmente están asociados con sistemas de incompatibilidad (Lloyd y Webb, 1986; Webb y Lloyd, 1986). En la subfamilia Cactoideae, algunas especies que presentan hercogamia y sistemas de incompatibilidad son siete del género *Ariocarpus* (Martínez-Peralta *et al.*, 2014a, 2014b), *Cleistocactus baumannii*, *C. smaragdiflorus* (Gorostiague y Ortega-Baes, 2016), *Coryphantha cornifera*, *Stenocactus anfractuosus* (Fuentes, 2012), *Peniocereus greggii* (Engelm.) Britton & Rose, *P. striatus* (Brandege) Buxb. (Raguso *et al.*, 2003), *Pilosocereus lanuginosus* (L.) Byles & G.D. Rowley (Nassar *et al.*, 2003) y *Stenocereus queretaroensis* (F.A.C. Weber) Buxb. (Ibarra-Cerdeña *et al.*, 2005).

Las especies que son autoincompatibles y que tienen un sistema de entrecruza estricto dependen de polinizadores para asegurar la fecundación y el éxito reproductivo (Richards, 1997; Barrett, 2014). Los principales visitantes florales en Cactoideae son las abejas, avispas, escarabajos, aves, hormigas, murciélagos, polillas y saltamontes (Mandujano *et al.*, 2010). Las cactáceas columnares son frecuentemente polinizadas por polillas y murciélagos, ya que presentan flores grandes de antesis nocturna, producen grandes cantidades de polen y néctar como recompensas florales (Mandujano *et al.*, 2010), como *Stenocereus griseus* (Haw.) Buxb., *Pilosocereus moritzianus* (Nassar *et al.*, 1997), *Pachycereus pringlei* y *Carnegiea gigantea* (Engelm.) Britton & Rose (Fleming *et al.*, 2001).

Las flores de antesis diurna son polinizadas principalmente por abejas. Estas flores son de colores llamativos, aroma dulce, de formas complejas, con superficies de aterrizaje, y dan como recompensa néctar, polen, resina o algún aroma (Domínguez y Pérez, 2013). Ejemplos de especies con este síndrome son *Astrophytum asterias* (Zucc.) Lem. (Martínez, 2007), *Echinocereus schmollii* (Weing.) N.P. Taylor (Vázquez *et al.*, 2016), *Mammillaria grahamii* Engelm. (Bowers, 2002), así como ciertas especies de los géneros *Ariocarpus* (Martínez-Peralta y Mandujano, 2012; Martínez-Peralta *et al.*, 2014a, 2014b), *Echinocactus* Link & Otto (Jiménez, 2008) y *Ferocactus* Britton & Rose (Del Castillo, 1994).

Características generales del género *Thelocactus*

El género *Thelocactus* Britton & Rose, contiene 12 especies (varias de ellas con dos o tres subespecies) que se distribuyen entre el sur de Estados Unidos y el norte de México (Anderson, 2001; Lodé, 2015). Son plantas de tallos simples, de globosos a cilíndricos, con podarios en disposición espiralada, algunas veces son plantas cespitosas, ya que se propagan asexualmente y los clones se quedan cerca de la planta madre. Poseen aréolas apicales,

dimórficas con medio surco, de donde surgen las flores, las cuales son hermafroditas (Bravo-Hollis y Sánchez-Mejorada, 1991; Fernández, 2017).

Thelocactus leucacanthus (Zucc. ex Pfeiff.) Britton & Rose, es una especie que se distribuye en Hidalgo y Querétaro, de la cual se han reconocido dos subespecies, *T. leucacanthus* ssp. *leucacanthus* (Zucc. ex Pfeiff.) Britton & Rose y *T. leucacanthus* ssp. *schmollii* (Werdermann) Mosco & Zanovello. La primera posee flores amarillas y se distribuye principalmente en Hidalgo y *T. leucacanthus* ssp. *schmollii* tiene flores con tonos que van de violeta a carmín y se ha reportado como microendémica de la zona árida de Querétaro (Anderson, 2001; Guzmán *et al.*, 2003; Sánchez *et al.*, 2008).

De acuerdo con Martínez-Ramos *et al.* (2017), *T. leucacanthus* ssp. *schmollii* produce flores hermafroditas y hercógamas, sugiriendo que se favorece la entrecruza y que probablemente se necesitan polinizadores para la formación de frutos.

Actualmente, la especie *T. leucacanthus* está incluida con el resto de las cactáceas en el Apéndice II de la CITES (2017) y la subespecie *T. leucacanthus* ssp. *leucacanthus* está incluida como una especie bajo protección especial (Pr) en la NOM-059 (SEMARNAT, 2010). Sin embargo, específicamente *T. leucacanthus* ssp. *schmollii*, el taxón de estudio de la presente investigación no se encuentra bajo ninguna categoría de protección (SEMARNAT, 2010; CITES, 2017; Gómez-Hinostrosa *et al.*, 2017). Por lo que es esencial generar información sobre las diferentes estrategias reproductivas de este taxón que le ayudan a sobrevivir y a mantener sus poblaciones, lo cual ayudaría en la propuesta de estrategias de propagación y conservación a futuro, así como para reevaluar el estatus de conservación de este taxón en futuras revisiones de la IUCN, CITES y la NOM-059-SEMARNAT. Por esta razón en el presente estudio se abordan diversos aspectos de la biología reproductiva de *T. leucacanthus* ssp. *schmollii*.

OBJETIVOS

Objetivo general

Conocer algunos aspectos de la biología reproductiva de *Thelocactus leucacanthus* ssp. *schmollii*.

Objetivos particulares

- Conocer la biología floral de *T. leucacanthus* ssp. *schmollii*, determinando la duración de la antesis, la dehiscencia de las anteras y la receptividad del estigma.
- Evaluar si las flores de *T. leucacanthus* ssp. *schmollii* presentan hercogamia y/o dicogamia.
- Determinar los sistemas de cruce que presenta *T. leucacanthus* ssp. *schmollii*.
- Determinar si presenta un sistema de incompatibilidad.
- Identificar los polinizadores potenciales y determinar el tipo de recompensa floral que reciben.

MATERIALES Y MÉTODOS

Población de estudio

La población estudiada de *Thelocactus leucacanthus* ssp. *schmollii* se encuentra en el municipio de Peñamiller, Querétaro (Fig. 1), ubicada en las coordenadas 21°01'25.4"N 99°44'42.2"W. El tipo de vegetación predominante de la localidad es el matorral xerófilo, donde se encuentran especies como: *Larrea tridentata* (DC.) Coville, *Fouquieria* sp. Kunth, *Bursera* sp. Jacq. ex L., *Myrtillocactus geometrizans* (Mart. ex Pfeiff.) Console, *Cylindropuntia imbricata* (Haw.) F.M. Knuth, *C. leptocaulis* (DC.) F.M. Knuth, *Lophophora diffusa* (Croizat) Bravo y *Coryphantha* sp. (Engelm.) Lem.; el clima predominante es semiseco-semicálido (BS1h), con temperatura media anual de 19.6 °C y precipitación media anual de 334.9 mm (INEGI, 2017).



Figura 1. Vista panorámica del sitio de estudio de *Thelocactus leucacanthus* ssp. *schmollii* en el municipio de Peñamiller, Querétaro, México.

Especie de estudio

Thelocactus leucacanthus ssp. *schmollii* tiene tallos ovoides o cortamente cilíndricos, de color verde grisáceo y de hasta 15 cm de altura y 8 cm de diámetro. Presenta podarios dispuestos

en alrededor de 12 costillas (Fig. 2A) y tiene nectarios extraflorales. Su forma de crecimiento puede ser simple o cespitosa. Las flores son de color violeta carmín y los lóbulos del estigma son de color amarillento (Bravo-Hollis y Sánchez-Mejorada, 1991; Anderson, 2001; Fig. 2B). La floración comienza en marzo y termina en noviembre, presenta dos picos de floración, uno grande en mayo-junio y otro en agosto-septiembre (Fernández, 2017); aunque durante el estudio se encontró un pico en mayo; el resto del año la floración fue irregular. Durante la floración de *T. leucacanthus* ssp. *schmollii* se observó que *Coryphantha* sp. coincidió en floración en la visita de agosto. La distribución de los individuos de *T. leucacanthus* ssp. *schmollii* se presenta en parches.

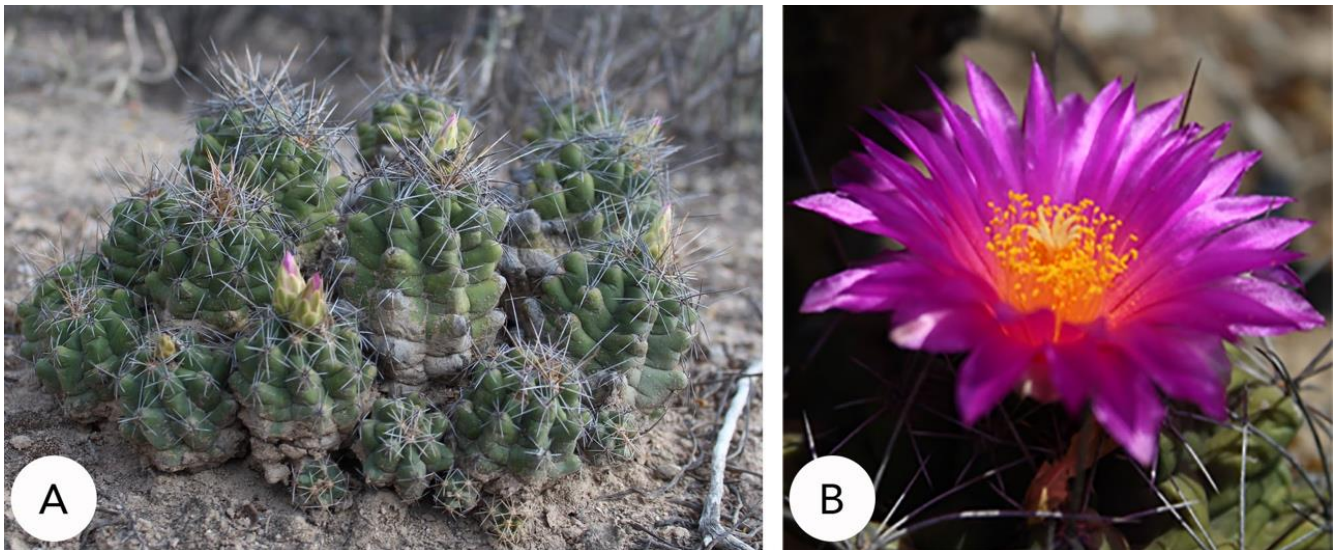


Figura 2. *Thelocactus leucacanthus* ssp. *schmollii* en su hábitat. **A.** Forma de crecimiento cespitosa mostrando los tallos reproductivos. **B.** Flor en anthesis mostrando las anteras dehiscentes, los lóbulos del estigma extendidos y los tépalos brillantes.

Biología floral y sistema de apareamiento

Para determinar el sistema de apareamiento, se realizó la morfometría floral en 30 flores colectadas en anthesis de diferentes individuos, las cuales se fijaron en FAA (formaldehído - ácido acético - etanol - agua). Posteriormente, se decantó el FAA y se hicieron tres lavados con agua corriente y se deshidrataron en una serie de soluciones de etanol en concentraciones graduales (30%, 50%, 70%, y 70% nuevamente) durante 30 minutos cada uno. Después de

24 horas se cambió el etanol al 70% por nueva solución a la misma concentración, donde se almacenaron para su posterior medición (Márquez *et al.*, 2016).

Más tarde, se midió la longitud total de la flor, del estilo (la parte superior del estilo corresponde a la zona de inserción del estigma), de los estambres cortos y largos, el diámetro y la longitud de la cámara ovárica (Fig. 3B) con un vernier digital. También se contó el número de estambres, el número de lóbulos estigmáticos y el número de óvulos por ovario.

Se realizaron observaciones sobre la duración de la antesis en varios parches florales, aproximadamente desde las 9:00 horas hasta las 16:00 horas, durante tres días consecutivos en julio de 2018. Se midió la apertura floral cada hora con un vernier digital (Fig. 3A). También se observó y determinó la hora de la dehiscencia de las anteras. Se midió la receptividad del estigma con peróxido de hidrógeno cada hora, desde el inicio de la antesis, observando y anotando sus cambios y la hora de máxima apertura de los lóbulos estigmáticos. También se realizó una regresión lineal de la longitud de las flores comparada con el número de óvulos en el programa Graphpad Prism 7.0.

Para evaluar la hercogamia se utilizaron los datos obtenidos de la morfometría floral; determinando si la longitud (altura) de los estambres y el estilo (considerando que en su parte apical está inserto el estigma) eran significativamente diferentes entre sí con una prueba *t* de student pareada, realizada en el programa Graphpad Prism 7.0.

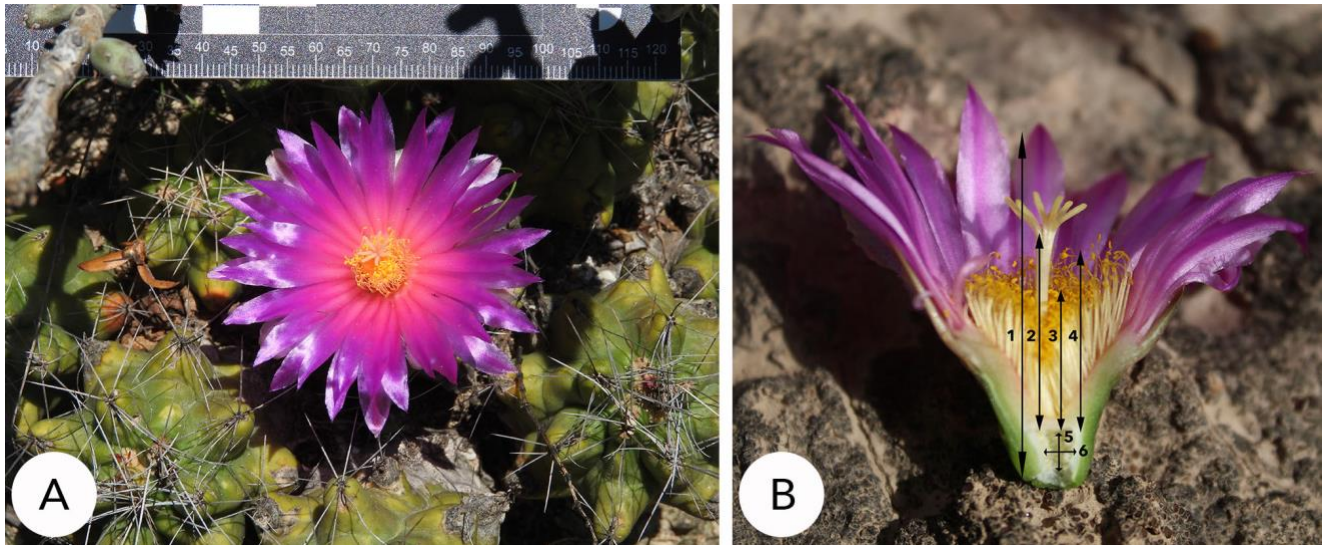


Figura 3. Atributos florales evaluados para determinar el sistema de apareamiento de *Thelocactus leucacanthus* ssp. *schmollii*. **A.** Medición de apertura floral. **B.** Medidas para determinar la hercogamia y morfometría floral. **1.** Longitud total de la flor. **2.** Longitud del estilo. **3.** Longitud de los estambres cortos. **4.** Longitud de los estambres largos. **5.** Longitud de la cámara ovárica. **6.** Diámetro de la cámara ovárica.

Para determinar el sistema de apareamiento se utilizó el índice de entrecruza, que es la suma de tres valores asignados a ciertos rasgos florales de acuerdo a Cruden (1977). El 0 indica cleistogamia, el 1 autogamia obligada, el 2 autogamia facultativa, el 3 xenogamia facultativa y el 4 xenogamia obligada. Para obtener el valor del índice de entrecruza, los rasgos que se evalúan son el diámetro de la corola y la presencia de dicogamia y hercogamia. El valor asignado para el diámetro de las corola se divide en cuatro clases: menos de 1 mm = 0; 1 a 2 mm = 1; 2 a 6 mm = 2 y más de 6 mm = 3. La homogamia (cuando el estigma es receptivo al mismo tiempo de la dehiscencia de las anteras) y protoginia se les asigna un valor de 0, mientras que a la protandria se le asigna el valor de 1. Por último, a la presencia de hercogamia se le asigna el valor de 1 (Cruden, 1977).

Determinación del sistema de cruza

Con el fin de determinar el sistema de cruza que presenta *T. leucacanthus* ssp. *schmollii* en mayo de 2018 se marcaron con etiquetas varios individuos en floración de diferentes parches

(por si fueran clones) y se realizaron los siguientes tratamientos de polinización (n variable por tratamiento) según Dafni (1992):

Control ($n = 30$). Se recolectaron frutos producidos por polinización abierta (sin manipulación).

Entrecruza manual ($n = 29$). Se emascularon botones y en la antesis se les depositó una mezcla de polen de flores recién abiertas de al menos ocho individuos de diferentes parches y se cubrieron con una bolsa de organza.

Autocruza manual ($n = 24$). Se embolsaron botones y cuando abrieron las flores, se depositó polen de esta misma flor sobre el estigma receptivo (aproximadamente a las 12:30 horas, cuando los lóbulos del estigma estaban completamente extendidos) y se volvieron a cubrir inmediatamente.

Autocruza natural ($n = 15$). Los botones florales sin emasculados se cubrieron con una bolsa de organza sin remover anteras.

Apomixis ($n = 6$). Se emascularon botones y se cubrieron inmediatamente sin ser polinizadas.

Para colocar el polen en el estigma correspondiente a cada tratamiento se utilizaron pinzas de punta fina. Posteriormente, las flores se cubrieron con bolsas de organza para evitar la entrada de polen ajeno. Se dejaron transcurrir aproximadamente 45 días para que se formaran los frutos. Posteriormente, se colectaron los frutos y se contó el número de semillas producidas por fruto en cada tratamiento, excluyendo las semillas colapsadas.

Los resultados presentados son el promedio con su respectiva desviación estándar. Para comparar entre los tratamientos que produjeron semillas se aplicó la prueba de normalidad Shapiro-Wilk y posteriormente una prueba U de Mann-Whitney. Todos los análisis se realizaron con el programa Graphpad Prism 7.0.

Tasa de entrecruza

La tasa de entrecruza (t_e) se estimó a partir del número de semillas producidas en los tratamientos de autocruza manual y entrecruza manual, usando la ecuación: $t_e = W_x / (W_x + W_s)$, donde W_s es el resultado de la autocruza y W_x el de la entrecruza. Los valores de la tasa de entrecruza van de 0 a 1, donde 0 equivale a una especie con autocruza estricta, 1 a una especie únicamente con entrecruza y 0.5 a una especie con sistema mixto (Mandujano *et al.*, 2010).

Crecimiento de tubos polínicos como indicador de la presencia/ausencia de un sistema de incompatibilidad

Con el fin de indagar sobre el sistema de autoincompatibilidad de la especie de estudio se rehidrataron flores y frutos secos de los tratamientos de autopolinización manual y entrecruza. Posteriormente se disectaron los tépalos para dejar el estilo, el estigma y una sección del ovario (pistilo) y se colocaron en bisulfito de sodio (NaHSO_3) durante una hora para ablandar el tejido. En seguida se colocaron en azul de anilina 1% durante toda la noche con el fin de teñir la pared de calosa de los tubos polínicos. Finalmente se realizó un *squash* del pistilo de ambos tratamientos y se tomaron fotomicrografías con un microscopio de fluorescencia con filtro de excitación para calosa (Márquez *et al.*, 2016).

Visitantes florales

Los visitantes florales fueron observados en el sitio de estudio en cuatro parches florales elegidos al azar, los cuales tenían una gran concentración de plantas en floración. Se observaron todas las flores posibles de cada parche (aproximadamente 50 flores) cinco días en los meses de mayo, junio y octubre de 2018. Se registraron las visitas en 10 minutos de observación por 20 minutos de descanso. Éstas se hicieron de las 10:00 horas a las 15:00

horas (ya que previas observaciones mostraron que las flores comienzan a cerrar a las 14:00 horas) (Ne'Eman *et al.*, 2010).

Los visitantes fueron identificados con ayuda de guías de campo y claves dicotómicas (Ayala, 1988; Mackay y Mackay, 1989; White, 1998; Michener, 2007). Además, se registró su comportamiento, el promedio de visitas por flor, por tipo de visitante y la carga de polen conoespecífico que llevaban en el cuerpo. Del comportamiento, se anotó el verticilo que visitaban primero, si se posaban sobre ambos verticilos sexuales, o si no lo hacían. Para determinar la carga de polen en el cuerpo, los visitantes se colectaron en cámaras letales de etanol al 70% y posteriormente se agitaron en el vórtex para desprender el polen de sus cuerpos. Posteriormente, los tubos se centrifugaron a 14,000 rpm durante 10 minutos. Se eliminó el sobrenadante y se añadieron 100 μ l de agua con detergente para disminuir la tensión superficial. De esta solución se contaron los granos de polen en una muestra de 10 μ l, por duplicado y se calculó el promedio, el cual se multiplicó por 10 (considerando que la muestra total fue de 100 μ l) para cuantificar el número de granos de polen conoespecíficos que los visitantes llevaban en el cuerpo. Para cerciorarse de que los granos de polen eran de la especie de estudio, se observó polen tomado directamente de las flores previamente colectadas y se comparó con el que portaban los visitantes (Ne'Eman *et al.*, 2010).

Para evaluar la efectividad de los visitantes florales se tomaron en cuenta las diferentes observaciones del número de visitas por flor, los toques que hacían al estigma y/o anteras y la carga de polen conoespecífico que llevaban en el cuerpo.

Para establecer los intervalos de manera equitativa y asignar los puntos de las categorías de: visitas por flor por hora y de carga de polen, se realizaron tablas de intervalos con cinco categorías cada una en el programa Microsoft Excel, versión 16.16.16. Los intervalos se

calcularon con base en los promedios de los datos obtenidos de las categorías de número de visitas ($n = 11$) y de la carga de polen ($n = 11$) por tipo de visitante.

En cuanto al número de visitas se tomó en cuenta el promedio de visitas por flor por hora (v/f/h) de cada visitante. Se determinó la n , el número de clases, el valor máximo y el mínimo de los datos; el rango se calculó restando el valor mínimo al valor máximo; por último, el tamaño del intervalo se calculó dividiendo el rango entre el número de clases deseado (cinco). El primer intervalo se delimitó tomando el valor mínimo para el límite inferior y se le sumó el tamaño del intervalo para el límite superior. Para los intervalos subsecuentes, se tomó el valor del límite superior del intervalo anterior como límite inferior y así sucesivamente hasta tener los cinco intervalos (Gorgas *et al.*, 2011; Tabla 1).

Para la carga de polen se utilizó el promedio de granos de polen que llevaban en todo el cuerpo por visitante y se siguió el mismo procedimiento (Gorgas *et al.*, 2011; Tabla 1). El número de visitantes a los que se contó el polen de cada morfoespecie fue el siguiente: *Lasioglossum* sp. (subgénero *Dialictus*) ($n = 9$), *Augochlora* sp. ($n = 1$), *Agapostemon* sp. ($n = 1$), *Exomalopsis* sp. ($n = 5$), *Diadasia* sp. ($n = 1$), *Ceratina* sp. ($n = 1$), *Ashmeadiella* sp. ($n = 3$), *Dianthidium* sp. ($n = 1$), *Pseudopanurgus* sp. ($n = 8$), *Monomorium* sp. ($n = 1$) y *Trichochrous* sp. ($n = 8$).

Además, se asignó un valor a cada rasgo evaluado para cuantificar la efectividad de los visitantes florales. Se le sumaron máximo cuatro puntos de acuerdo con las visitas que hacían por flor por hora, máximo cuatro puntos de acuerdo con la carga de polen que tenían en sus cuerpos, se agregó un punto si el visitante tocaba las anteras y por último, otro punto si tocaba el estigma, sumando un máximo de 10 puntos (Tabla 2).

De acuerdo con el puntaje obtenido, se le asignó una categoría a los visitantes. El 0 como visitantes casuales o florívoros, del 1 al 5 visitantes frecuentes, y del 6 al 10 como potenciales polinizadores.

Tabla 1. Tablas de intervalos utilizadas para establecer los puntajes de evaluación de los visitantes florales de *Thelocactus leucacanthus* ssp. *schmollii* en una población de Peñamiller, Querétaro. Se muestran los valores de *n* por categoría, el número de clases (Núm. clases), el valor máximo (Máx), mínimo (Mín), el rango, el tamaño del intervalo, el número de clases con su respectivo límite inferior (Lím inferior) y superior (Lím. superior).

NÚMERO DE VISITAS				
n	11	Núm. clases	Lím. inferior	Lím. superior
Núm. clases	5	1	0.29	1.09
Máx	4.24	2	1.09	1.89
Mín	0.29	3	1.89	2.69
Rango	3.95	4	2.69	3.49
Tamaño intervalo	0.79	5	3.49	4.29
CARGA POLEN				
n	11	Núm. clases	Lím inferior	Lím superior
Núm. clases	5	1	0	502
Máx	2510	2	502	1004
Mín	0	3	1004	1506
Rango	2510	4	1506	2008
Tamaño intervalo	502	5	2008	2510

Tabla 2. Atributos evaluados para determinar la efectividad de los visitantes florales de *Thelocactus leucacanthus* ssp. *schmollii* en una población de Peñamiller, Querétaro. Se indican como rasgos la presencia/ausencia y un valor arbitrario (puntos del 0 al 4, siendo el 4 el más alto y el 0 para ausencia de un atributo).

Número de visitas	Puntos	Carga polen	Puntos	Tocan anteras	Puntos	Tocan estigma	Puntos
< 1.09	0	< 502	0	Sí	1	Sí	1
1.09 - 1.89	1	502 - 1004	1	No	0	No	0
1.89 - 2.69	2	1004 - 1506	2				
2.69 - 3.49	3	1506 - 2008	3				
> 3.49	4	> 2008	4				

Recompensas florales

Para determinar la cantidad y concentración de néctar se utilizaron capilares de vidrio de 10 μL y un refractómetro. Las flores se embolsaron para evitar que el néctar fuera consumido por los visitantes. Además, se analizó la morfo-anatomía del nectario floral para corroborar la producción de néctar. Las flores fijadas en FAA y deshidratadas hasta etanol 70% se disectaron para analizar el nectario, tanto longitudinal como transversalmente. Algunas de las muestras del nectario se procesaron para su observación en el microscopio electrónico de barrido (MEB) y otras se incluyeron en Paraplast[®]. Para el análisis histológico, las secciones obtenidas del nectario incluido en Paraplast[®] se tiñeron con safranina-verde rápido. Asimismo, se realizaron diferentes pruebas histoquímicas al tejido nectarial, la de lugol para detectar almidón, Rojo "O" de aceite para lípidos, Ácido Peryódico-Reactivo de Schiff (APS) para polisacáridos insolubles y Azul Negro de Naftol para proteínas. Además se realizó una tinción doble de Azul Negro de Naftol y APS para proteínas y polisacáridos insolubles respectivamente (Márquez *et al.*, 2016).

RESULTADOS

Morfología floral

Las flores de *T. leucacanthus* ssp. *schmollii* son actinomorfas, perfectas y con tépalos de color rosa brillante, los externos menos coloridos que los internos. Tienen en promedio una longitud total de 36.04 ± 4.02 mm y un diámetro de 51.21 ± 11.67 mm en el punto máximo de la antesis. La longitud del estilo es de $14.44 \text{ mm} \pm 1.69$ mm, el número de lóbulos estigmáticos varió entre 6 y 12, el diámetro de la cámara ovárica es de 3.47 ± 0.6 mm, mientras que la longitud es de 3.5 ± 0.92 mm y el número de óvulos por flor estuvo en un intervalo de 42 a 203. Cabe mencionar que el número de óvulos estaba directamente relacionado con la longitud de la flor, las flores más pequeñas tenían un menor número de óvulos (Fig. 4). La longitud de los estambres cortos es de 10.18 ± 1.44 mm y la de los estambres largos de 14.8 ± 1.82 mm y el promedio del número de estambres fue de 746.87 ± 241.6 (Tabla 3).

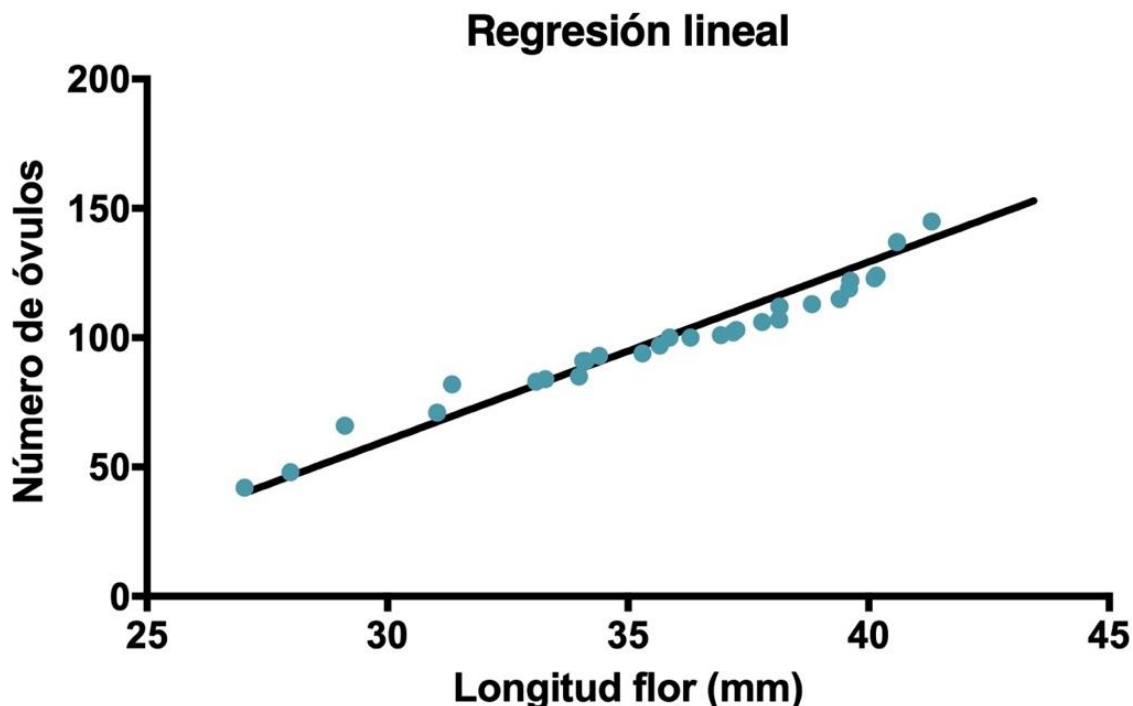


Figura 4. Regresión lineal de la longitud de las flores comparado con el número de óvulos presentes en las flores de *Thelocactus leucacanthus* ssp. *schmollii* en la población de estudio de Peñamiller, Querétaro. Se grafica la longitud de las flores (mm) comparada con el número de óvulos por flor. Hay una correlación positiva entre ambos rasgos ($R_2 = 0.8604$; $p < 0.0001$).

Tabla 3. Morfometría floral en la población de *Thelocactus leucacanthus* ssp. *schmollii* de la localidad de Peñamiller, Querétaro ($n = 30$) durante la etapa de floración (mayo de 2018). Flores fijadas en FAA y se midieron posteriormente en el laboratorio. Se muestran los resultados de la media \pm la desviación estándar (SD), así como el mínimo (Mín) y máximo (Máx) registrado de cada característica evaluada.

Característica	Media \pm SD	Mín - Máx
<i>Longitud total (mm)</i>	36.04 \pm 4.02	27.03 - 43.43
<i>Diámetro de la flor en antesis (mm)</i>	51.21 \pm 11.67	25.1 - 82.47
<i>Longitud del estilo (mm)</i>	14.44 \pm 1.69	11.6 - 18.24
<i>Número de lóbulos estigmáticos</i>	9.43 \pm 1.61	6 - 12
<i>Diámetro de la cámara ovárica (mm)</i>	3.47 \pm 0.6	2.24 - 4.53
<i>Longitud de la cámara ovárica (mm)</i>	3.5 \pm 0.92	1.46 - 5.26
<i>Número de óvulos por ovario</i>	101.97 \pm 29.88	42 - 203
<i>Longitud de estambres cortos (mm)</i>	10.18 \pm 1.44	6.44 - 12.89
<i>Longitud de estambres largos (mm)</i>	14.8 \pm 1.82	9.93 - 17.92
<i>Número de estambres</i>	746.87 \pm 241.6	419 - 1287

Biología floral y sistema de apareamiento

La longevidad de las flores de *T. leucacanthus* ssp. *schmollii* es de un solo día. La antesis comienza alrededor de las 10:30 horas, la máxima apertura se da entre las 13:00 horas ($n = 11$) y las 14:00 horas ($n = 13$) y las flores comienzan a cerrar alrededor de las 14:00 ($n = 10$) a 15:00 horas ($n = 9$; Fig. 5).

Los lóbulos del estigma generalmente están cerrados y permanecen erectos al comienzo de la antesis ($n = 23$; Fig. 6A), aunque en algunas flores ($n = 3$) los lóbulos estaban ligeramente extendidos (Fig. 6B). Aproximadamente tres horas después del comienzo de la antesis, los lóbulos del estigma se extienden por completo ($n = 17$; Fig. 6C), aunque en algunas flores ($n = 8$) los lóbulos seguían cerrados en este tiempo. Por tal motivo se propone que *T. leucacanthus* ssp. *schmollii* presenta dicogamia, particularmente protandria incompleta, ya que a pesar de que la dehiscencia de anteras es previa a la receptividad del estigma, estos eventos se sobrelapan por corto tiempo (Lloyd y Webb, 1986), en este caso por dos horas de las cuatro horas totales de antesis.

Apertura floral

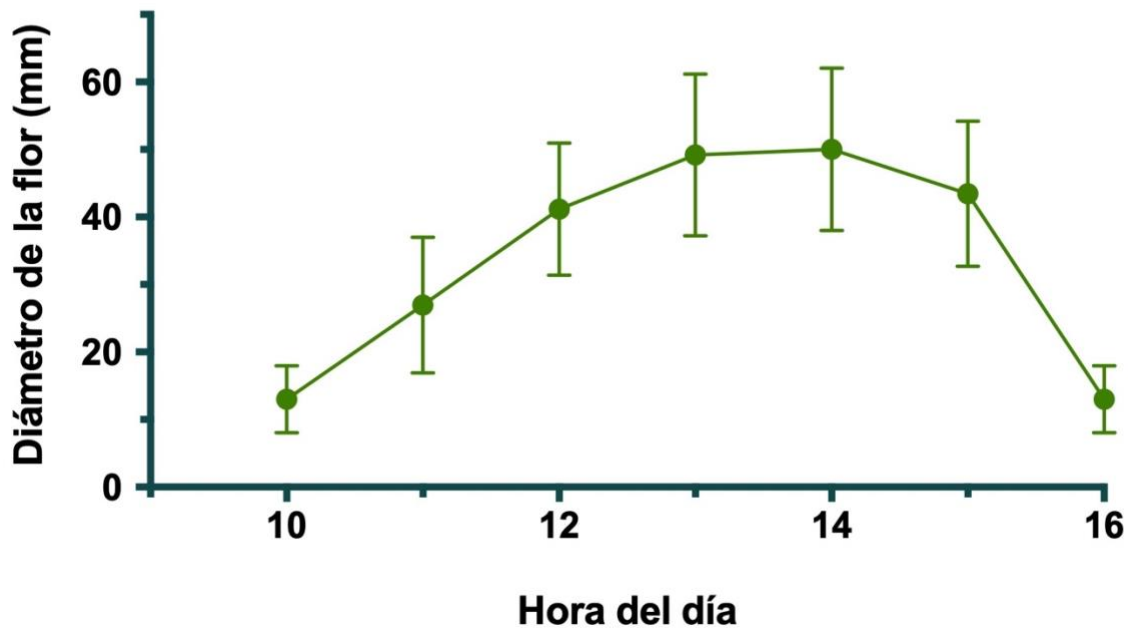


Figura 5. Apertura floral a lo largo del día de *Thelocactus leucacanthus* ssp. *schmollii* ($n = 27$) en el sitio de estudio de Peñamiller, Querétaro. Se muestra el diámetro del perigonio de flores durante la antesis. Los puntos representan el promedio del diámetro del perigonio \pm la desviación estándar en función de la hora del día. La antesis comienza alrededor de las 10:30 horas y termina a las 15:00 horas.



Figura 6. Flores de diferentes individuos de *Thelocactus leucacanthus* ssp. *schmollii* en antesis en el sitio de estudio de Peñamiller, Querétaro: dehiscencia de las anteras y apertura del estigma. **A.** Al inicio de la antesis las anteras son dehiscentes y los lóbulos del estigma están cerrados y son erectos (flor observada a las 11:18 horas). Barra = 20 mm. **B.** Estambres ligeramente separándose de la cercanía del estigma y los lóbulos del estigma ligeramente extendidos (flor observada a las 11:30 horas). Barra = 20 mm. **C.** Tépalos, estambres y lóbulos estigmáticos completamente extendidos (flor observada a las 12:48 horas). Barra = 30 mm.

De acuerdo con la prueba t de student pareada, la diferencia en la longitud de los estambres largos y del estilo (la distancia que separa a las anteras y el estigma) no es significativa; ($t =$

1.112; $df = 29$; $p = 0.1375$, Fig. 7). Lo que indica que la distancia que separa al estigma de las anteras no es suficiente para evitar la autopolinización, por lo que, al menos en la población de estudio, *T. leucacanthus* ssp. *schmollii* no presenta hercogamia.

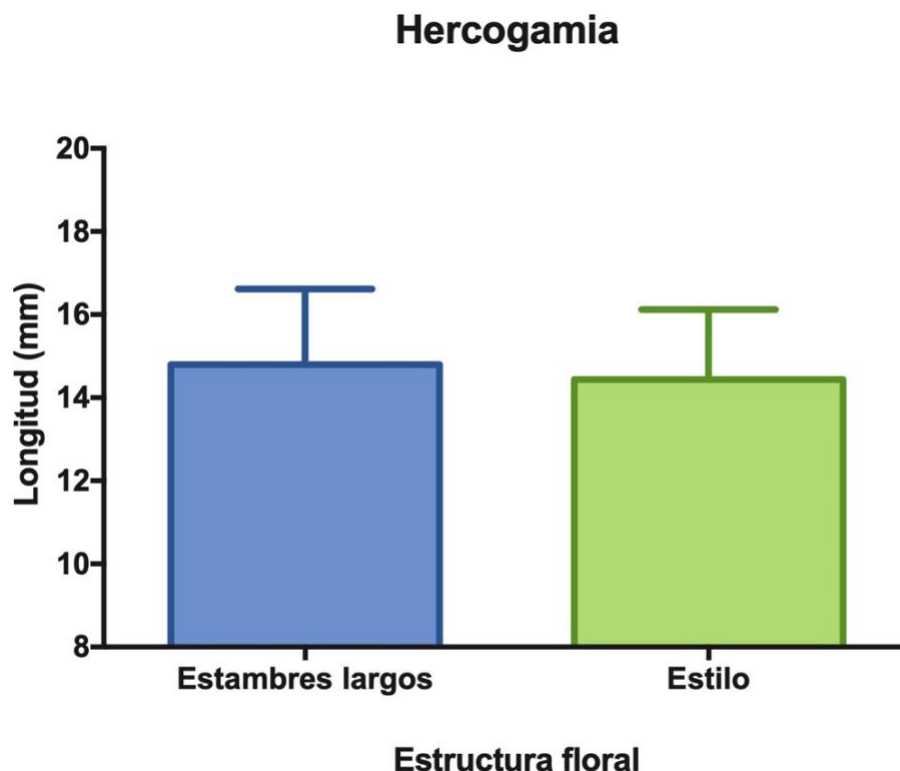


Figura 7. Comparación entre longitud de estambres largos y estilo de las flores de *Thelocactus leucacanthus* ssp. *schmollii* colectadas en el sitio de estudio en Peñamiller, Querétaro en mayo de 2018 ($n = 30$). Se grafica el promedio de la longitud más la desviación estándar en mm de la longitud de los estambres largos y el estilo. La distancia que separa al estigma de las anteras no es significativa ($t = 1.112$; $p = 0.1375$; $df = 29$), por lo que no hay hercogamia.

Con base en la información anterior, se determinó el sistema de apareamiento con los siguientes valores: como las flores tienen un diámetro mayor a 6 mm se le asignó el valor de 3, a la presencia de protandria 1 y a la ausencia de hercogamia 0, dando como resultado 4, por lo tanto el índice de entrecruza para *T. leucacanthus* ssp. *schmollii* implica una xenogamia obligada.

Sistema de cruce y tasa de entrecruza

La formación de frutos y semillas en la especie de estudio sólo ocurrió en los tratamientos control y entrecruza manual (Tabla 4). No hubo diferencias significativas en el promedio de semillas producidas entre los tratamientos control y entrecruza manual ($U=355.5$; $p=0.1582$; Fig. 8).

En los tratamientos de autocruza manual y natural no hubo desarrollo de frutos ni de semillas. Por otra parte, se pudo determinar que las semillas de la especie sólo se producen por reproducción sexual, ya que tampoco se obtuvieron semillas por apomixis. Con base en estos resultados, la especie estudiada posee un **sistema de cruce por entrecruza**. Por último, utilizando la fórmula propuesta por Mandujano *et al.* (2010), la tasa de entrecruza para *T. leucacanthus* ssp. *schmollii* fue de 1, lo que indica que **esta especie presenta entrecruza estricta**.

Tabla 4. Número de frutos y semillas formados por cada tratamiento de polinización que se realizó en las flores de *Thelocactus leucacanthus* ssp. *schmollii* en el sitio de estudio de Peñamiller, Querétaro en mayo de 2018 (n total = 104). Se muestra el promedio de semillas formadas por fruto formado \pm la desviación estándar (SD).

Tratamiento	n	Frutos formados (%)	Promedio de semillas formadas por fruto \pm SD
<i>Control</i>	30	30 (100%)	65.76 \pm 25.42
<i>Entrecruza manual</i>	29	29 (100%)	61.52 \pm 45.19
<i>Autocruza manual</i>	24	0 (0%)	0
<i>Autocruza natural</i>	15	0 (0%)	0
<i>Apomixis</i>	6	0 (0%)	0

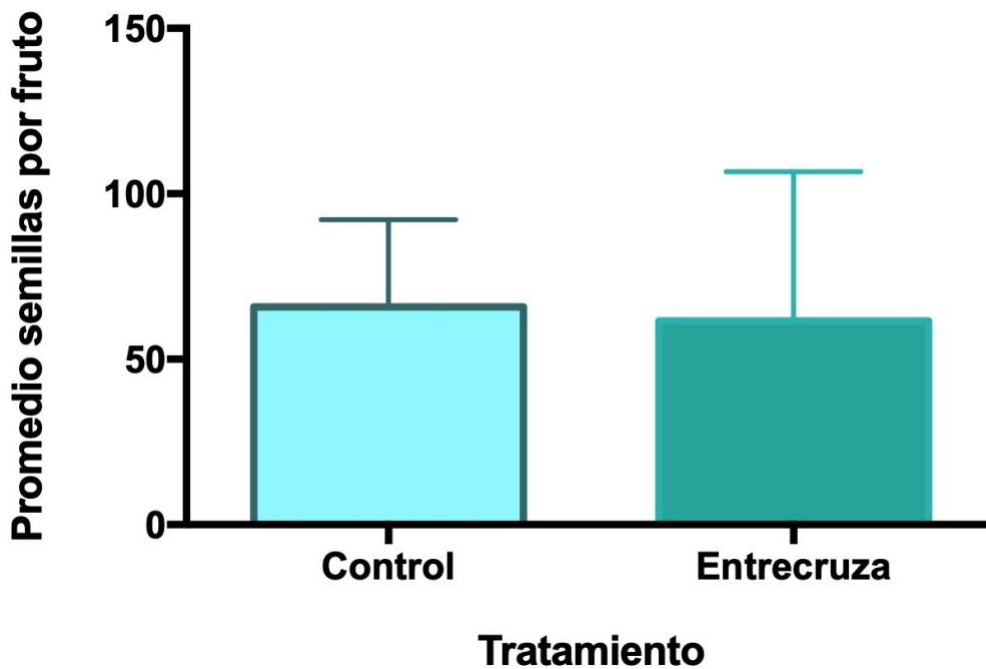


Figura 8. Comparación del número de semillas formadas en tratamientos de control y entrecruza de *Thelocactus leucacanthus* ssp. *schmollii* en la población del sitio de estudio en Peñamiller, Querétaro en mayo de 2018 (n control = 30; n entrecruza = 29). Se grafica el promedio de semillas formadas por fruto formado más la desviación estándar (SD). No hubo diferencias significativas entre los tratamientos ($U = 355.5$; $p = 0.1582$).

Crecimiento de tubos polínicos como indicador de la presencia/ausencia de un sistema de incompatibilidad

Se comparó el crecimiento de tubos polínicos en los tratamientos de entrecruza manual y autocruza manual. En ambos casos se observó que los granos de polen germinan en el estigma (Fig. 9A, B) y los tubos de polínicos crecen por el estilo (Fig. 9C, D) hasta la base de éste (Fig. 9D, F). Sin embargo, los resultados de las autopolinizaciones manuales no forman frutos ni semillas, por lo que *T. leucacanthus* ssp. *schmollii* presenta un sistema de incompatibilidad. No se analizó si los tubos polínicos entran a los óvulos para efectuar la fecundación debido a la carencia de material.

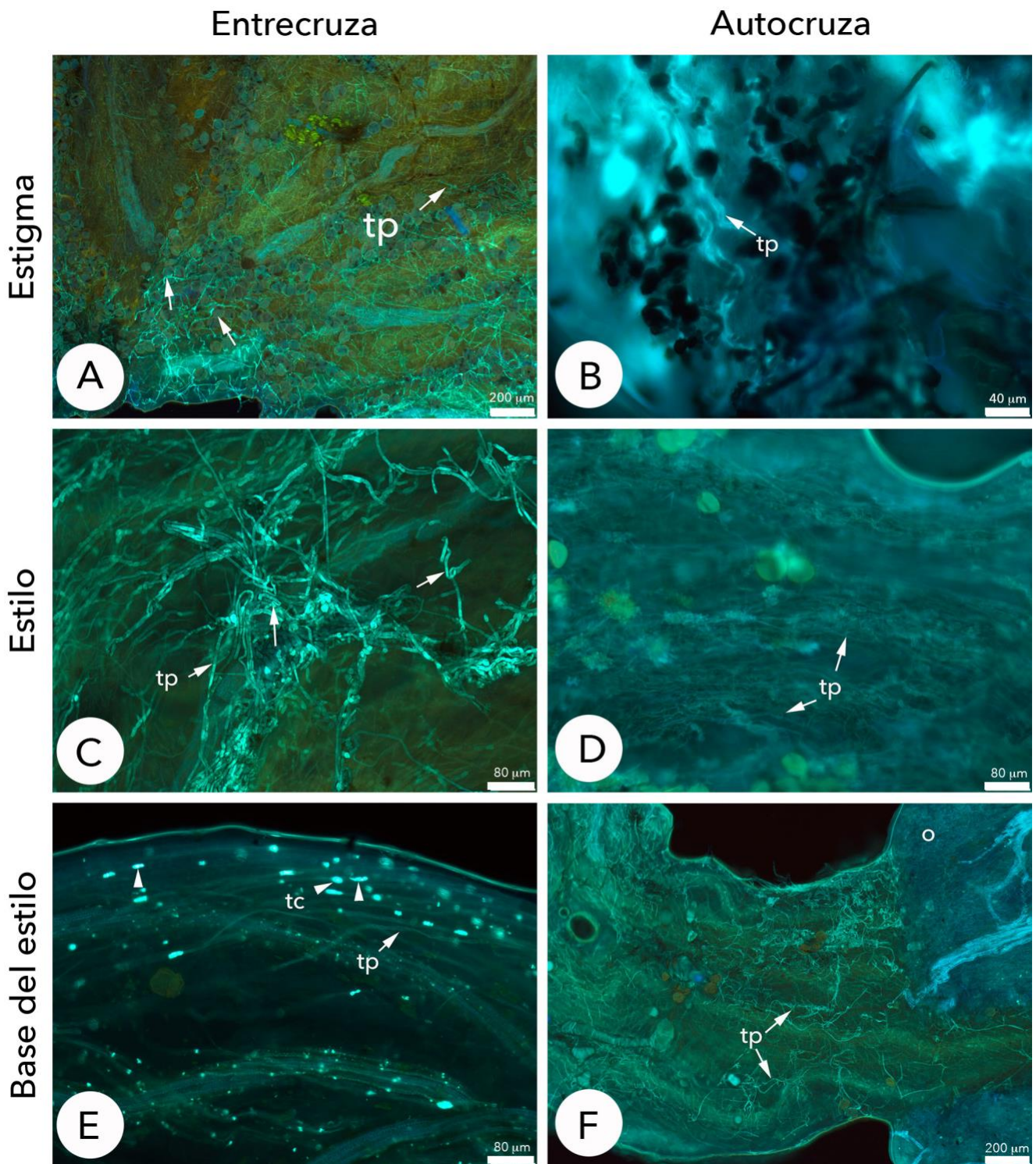


Figura 9. Crecimiento de tubos polínicos en las flores deshidratadas y frutos formados de los tratamientos de entrecruza y autocruza manual de *Thelocactus leucacanthus* ssp. *schmollii* de la población del sitio de estudio en Peñamiller, Querétaro. A, C, E. Entrecruza manual. B, D, F. Autocruza manual. Tanto en el tratamiento de entrecruza como el de autocruza manual se observa que los tubos polínicos (flechas) crecen desde el estigma hasta la base del estilo. o, ovario; tp, tubos polínicos; tc, tapones de calosa (puntas de flecha).

Visitantes florales

Antes de la antesis se observaron hormigas del género *Monomorium* (subfamilia Myrmicinae) buscando alrededor de los botones florales (Fig. 10A). Además, la mayor parte del tiempo de observación se detectaron escarabajos del género *Trichochrous* (familia Melyridae), éstos entraban hasta la base del tubo floral. Se encontró uno de ellos con restos de tejido floral en el aparato bucal al momento de disectar las flores (Fig. 10B). Sin embargo, ninguno de ellos toca los verticilos sexuales, por lo que se descarta que sean polinizadores.

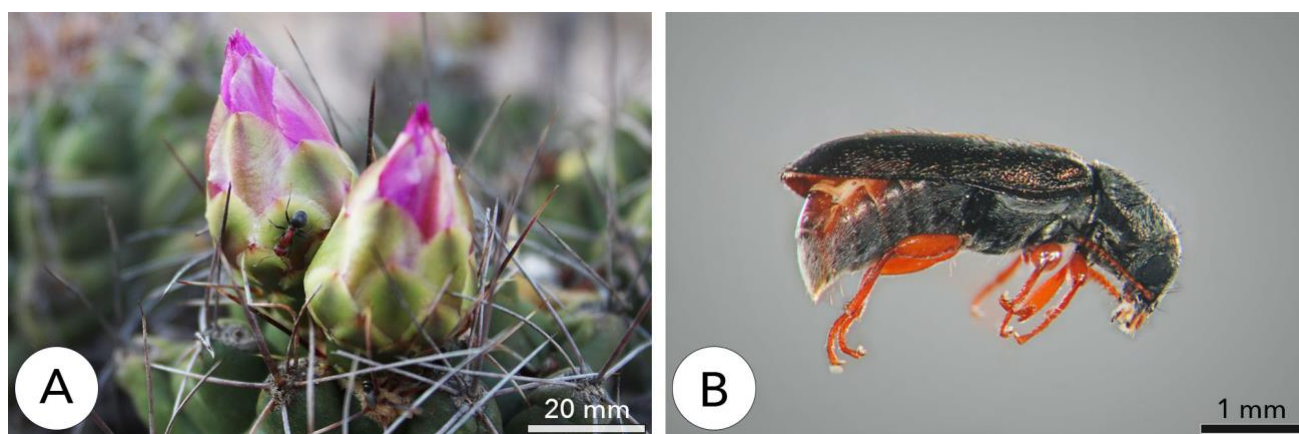


Figura 10. Visitantes florales de *Thelocactus leucacanthus* ssp. *schmollii* en la población del sitio de Peñamiller, Querétaro en mayo, junio y octubre de 2018. A. Hormiga del género *Monomorium* visitando botones florales. Barra = 20 mm. B. Escarabajo del género *Trichochrous*, florívoro o nectarívoro. Barra = 1 mm.

Los visitantes más frecuentes son abejas, pertenecientes a tres familias: Halictidae, Apidae, Megachilidae y Andrenidae. En cuanto a su comportamiento, la mayoría de las veces aterrizaban en el estigma y después forrajeaban las anteras y aunque no siempre lo hacían en este orden, siempre tocaban alguno o ambos verticilos sexuales, un comportamiento atribuido a los polinizadores. Las visitas eran más frecuentes de las 12:00 a las 13:30 horas, antes y después de este intervalo las visitas eran muy escasas. De la familia Halictidae se registraron tres géneros (*Lasioglossum*, *Augochlora* y *Agapostemon*) y tres morfoespecies (Fig. 11A-C). Del género *Lasioglossum* se identificó un subgénero, *Dialictus* (Fig. 11A). De la familia Apidae

se encontraron tres morfoespecies pertenecientes a tres géneros (*Exomalopsis*, *Diadasia* y *Ceratina*; Fig. 11D-F). De la familia Megachilidae se registraron dos géneros (*Ashmeadiella* y *Dianthidium*) y dos morfoespecies (Fig. 11G-H). Por último, de la familia Andrenidae se registró una morfoespecie del género *Pseudopanurgus* (Fig. 11I).

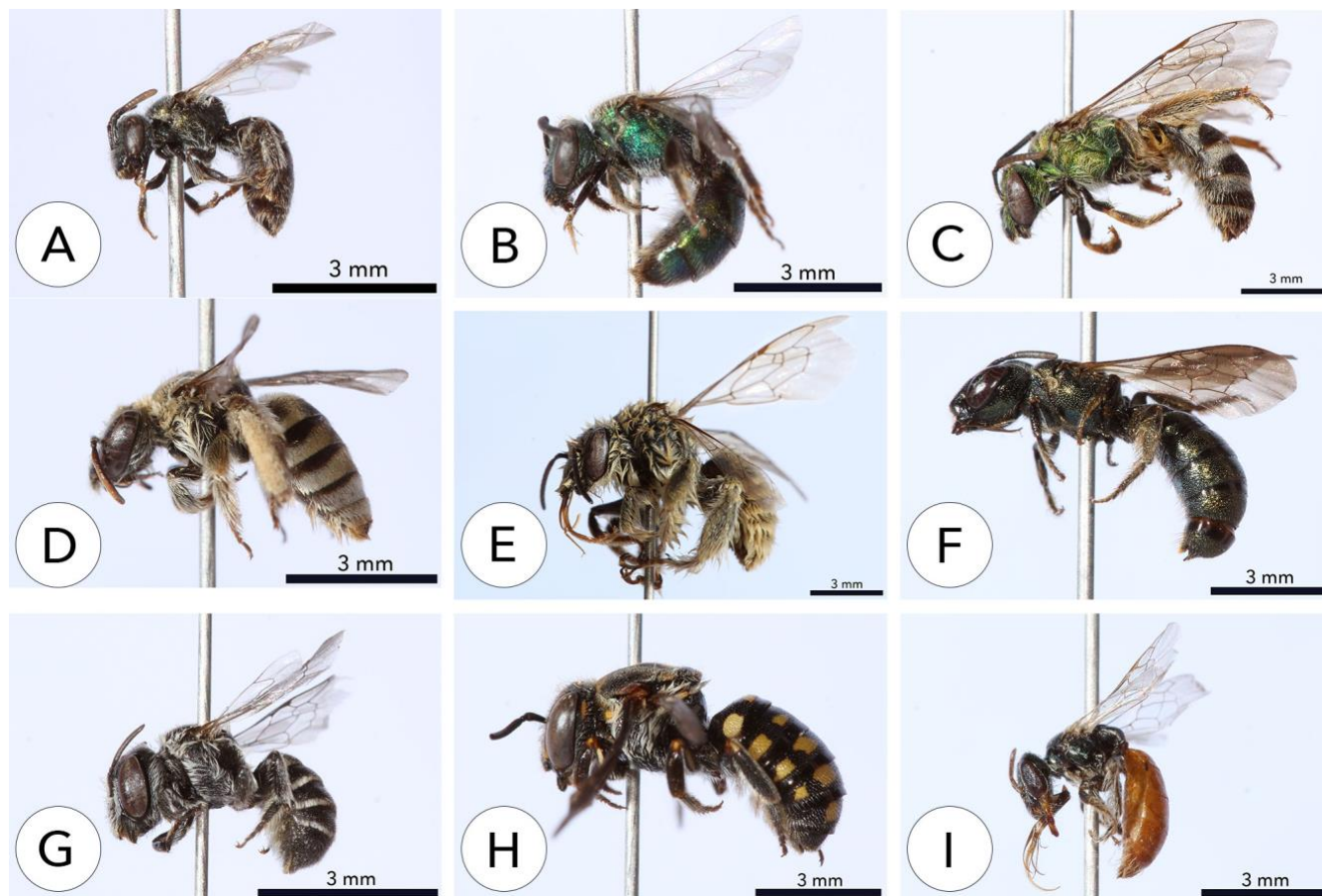
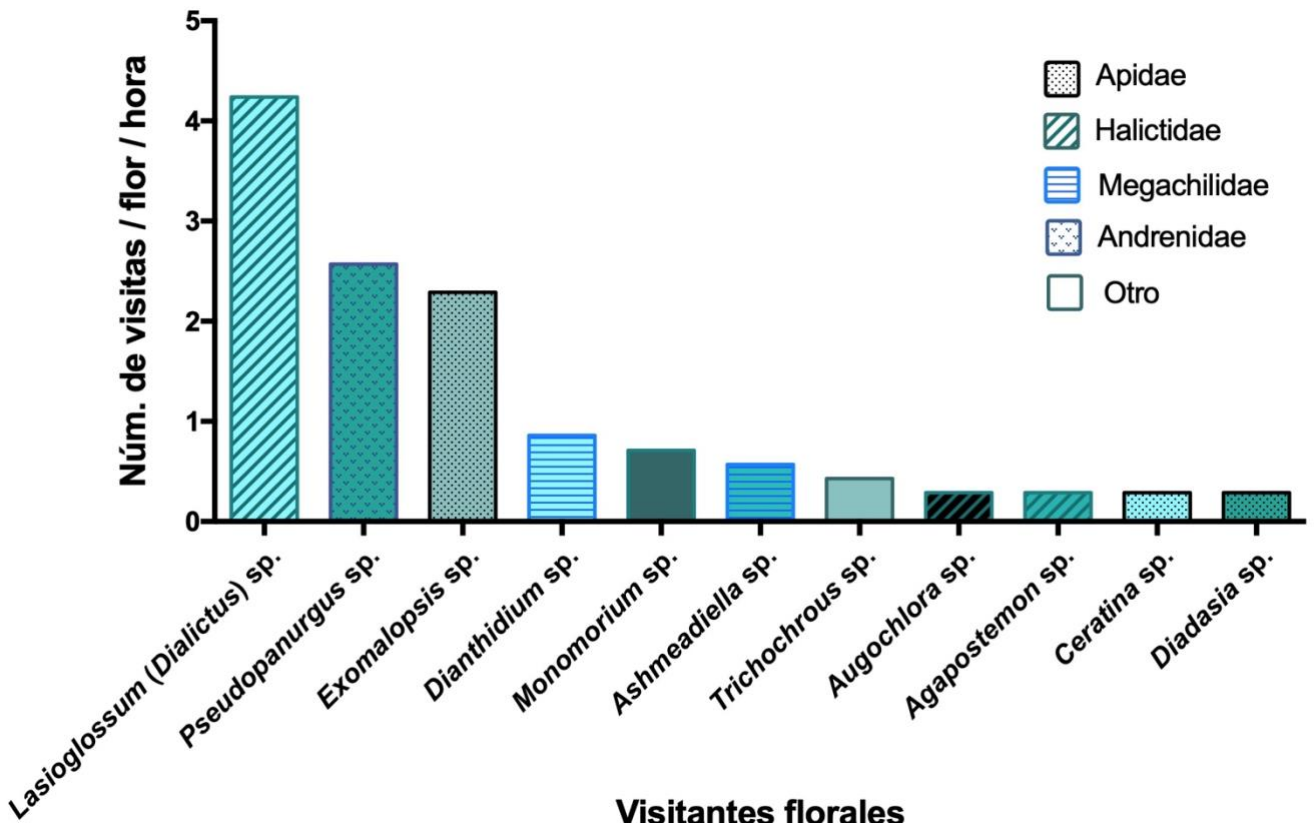


Figura 11. Abejas que visitan las flores de *Thelocactus leucacanthus* ssp. *schmollii* en la población del sitio de estudio en Peñamiller, Querétaro en mayo, junio y octubre de 2018. A-C. Familia Halictidae. D-F. Familia Apidae. G-H. Familia Megachilidae. I. Familia Andrenidae. A. *Lasioglossum* sp. (subgénero *Dialictus*). B. *Augochlora* sp. C. *Agapostemon* sp. D. *Exomalopsis* sp. E. *Diadasia* sp. F. *Ceratina* sp. G. *Ashmeadiella* sp. H. *Dianthidium* sp. I. *Pseudopanurgus* sp. Barras = 3 mm.

Los visitantes más frecuentes son los del subgénero *Dialictus* del género *Lasioglossum*, sus tasas de visitas son de alrededor de 4.2 visitas por flor por hora (v/f/h). Después le sigue la morfoespecie del género *Pseudopanurgus*, con 2.6 v/f/h y después la morfoespecie del género *Exomalopsis* con 2.2 v/f/h. El resto de las morfoespecies tuvieron una tasa menor a 1 v/f/h (Fig. 12).



Visitantes florales

Figura 12. Observaciones de la tasa de visitas a las flores de *Thelocactus leucacanthus* ssp. *schmollii* por cinco horas en cinco días en la población del sitio de Peñamiller, Querétaro en mayo, junio y octubre de 2018. Se grafica el número de visitas por flor por hora de cada tipo de visitante. La tasa de *Lasioglossum* sp. (subgénero *Dialictus*) es la más frecuente, seguida de *Pseudopanurgus* sp. y *Exomalopsis* sp. El resto tuvo una tasa de visita menor a 1 v/f/h.

En cuanto a la carga de polen, las morfoespecies con mayor número de granos de polen en el cuerpo fueron *Lasioglossum* sp. (subgénero *Dialictus*), lo que coincide con la alta frecuencia de visitas a las flores, seguida de *Diadasia* sp., *Pseudopanurgus* sp. y *Ceratina* sp. Aunque las visitas *Diadasia* sp. no fueron tan frecuentes, la carga de polen conespecífico en su cuerpo se acerca mucho a la carga de *Lasioglossum* sp. (subgénero *Dialictus*; Fig. 13).

Después de estas cuatro morfoespecies, la carga de polen en el resto de los visitantes disminuyó a menos de la mitad de la carga de polen de *Ceratina* sp. La hormiga (*Monomorium*

sp.) y el escarabajo (*Trichochoirus* sp.) fueron los visitantes con menor carga de polen, con 10 granos de polen (Fig. 13).

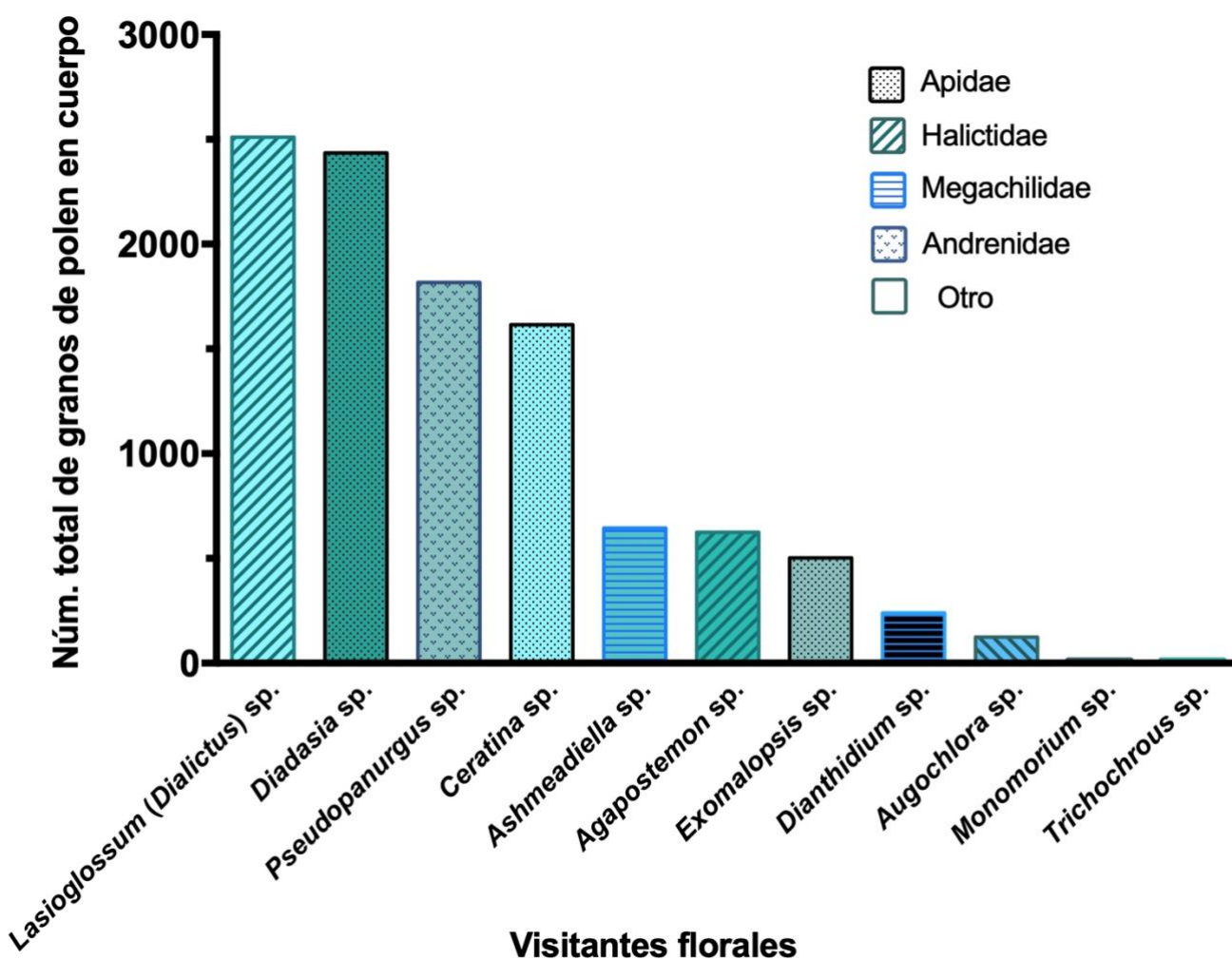


Figura 13. Carga de polen total de los visitantes florales de *Thelocactus leucacanthus* ssp. *schmollii* colectados en la población del sitio de estudio en Peñamiller, Querétaro en mayo, junio y octubre de 2018. Se grafica el número de granos de polen estimados de los diferentes tipos de visitantes portaban en el cuerpo. Las morfoespecies con mayor número de granos de polen en el cuerpo fueron *Lasioglossum* sp. (subgénero *Dialictus*), seguida de *Diadasia* sp., *Pseudopanurgus* sp. y *Ceratina* sp. En los visitantes restantes hubo una menor cantidad de granos de polen conoespecíficos.

Los visitantes con mayor actividad fueron las abejas, pues todas las morfoespecies tocaban alguno o ambos verticilos sexuales. Ordenadas de mayor a menor efectividad de visitas, primero se encuentran los polinizadores potenciales, que son las del género *Lasioglossum* (subgénero *Dialictus*), seguidas de los géneros *Pseudopanurgus* y *Diadasia*, después siguen

los visitantes frecuentes que son de los géneros *Exomalopsis*, *Ceratina*, *Ashmeadiella*, *Agapostemon*, *Dianthidium*, y por último la del género *Augochlora*. Los visitantes casuales o florívoros fueron las hormigas del género *Monomorium* y los escarabajos del género *Trichochrous*, pues ninguno tocaba los verticilos sexuales y tanto su tasa de visita como la carga de polen en sus cuerpos fue muy baja (Tabla 5, Anexo I).

Recompensas florales

La cantidad de néctar que produce *T. leucacanthus* ssp. *schmollii* es muy pequeña para ser cuantificada, ya que el capilar no alcanzaba a tomarlo de la flor. Sin embargo, ésta presenta un nectario hipantial de forma anular y se localiza por debajo de la inserción de los filamentos más internos (Fig. 14A). En todo el anillo hay nectarostomas, los cuales son estomas que no pueden regular su apertura y cierre (Fig. 14B) de acuerdo a Nicolson *et al.* (2007), y a través de sus ostíolos se secreta el néctar producido por el parénquima secretor del nectario (Fig. 14C).

En los cortes histológicos longitudinales se observa que el nectario anular es muy delgado (Fig. 15A). Debajo de la epidermis se encuentra el parénquima nectarífero, compuesto por células secretoras de tamaño pequeño y con citoplasma denso, por debajo de estas células se localiza el parénquima subnectarífero, que se distingue por poseer células más grandes que el parénquima nectarífero y no son secretoras (Fig. 15B, C). A lo largo de la epidermis del nectario se observan nectarostomas (Fig. 15D).

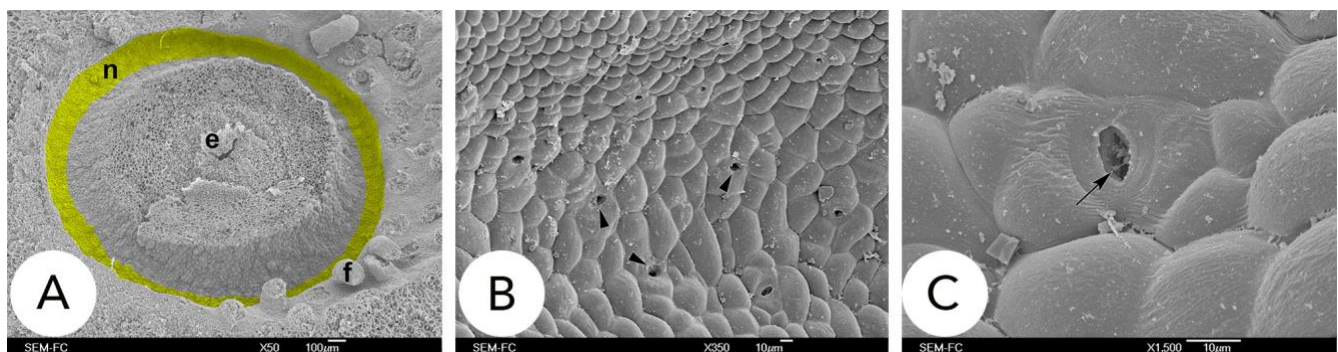


Figura 14. Morfología del nectario de *Thelocactus leucacanthus* ssp. *schmollii* en la población del sitio de estudio en Peñamiller, Querétaro. A. Vista panorámica del nectario hipantial anular (coloreado en amarillo), se encuentra por debajo de la inserción de los filamentos. **B.** Acercamiento al nectario, se observan los nectarostomas (puntas de flecha). **C.** Restos de las secreciones del nectarostoma (flecha). e, estilo; f, filamento; n, nectario.

En cuanto a las pruebas histoquímicas, la de Rojo "O" de aceite resultó positiva para lípidos sólo en la cutícula (Fig. 16A, B) debido a los compuestos cerosos de ésta. La prueba de lugol resultó positiva tanto para el parénquima nectarífero y para algunas células del parénquima subnectarífero, pero en menor cantidad. Se observa mayor concentración de almidón en las células secretoras (Fig. 16C, D). La prueba de Ácido Peryódico-Reactivo de Schiff (APS) muestra una gran concentración de carbohidratos insolubles en el parénquima nectarífero, el citoplasma se ve de color rosa intenso, en algunas células del parénquima subnectarífero también se observan algunos polisacáridos insolubles (Fig. 16E, F).

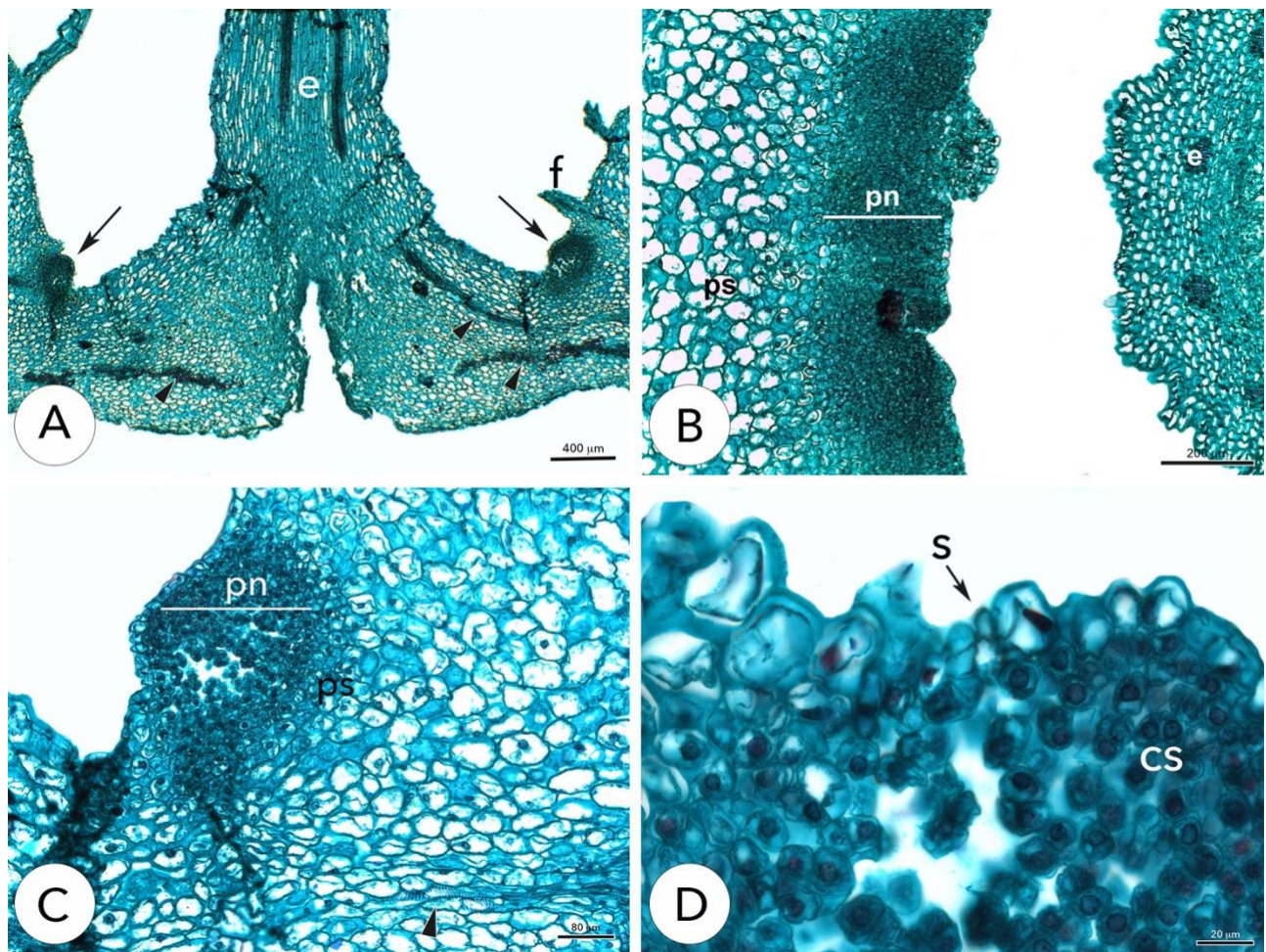


Figura 15. Anatomía del nectario de *Thelocactus leucacanthus* ssp. *schmollii* en la población del sitio de estudio en Peñamiller, Querétaro. Cortes longitudinales (A, C, D) y transversal (B) del nectario. **A.** Nectario (flechas) por debajo de la inserción de los filamentos, con haces vasculares (cabezas de flechas) cercanos al nectario. **B.** Se observa el parénquima nectarífero y el parénquima subnectarífero. **C.** Acercamiento al nectario, se observa el parénquima nectarífero y subnectarífero, además de un haz vascular (cabeza de flecha). **D.** Acercamiento al parénquima nectarífero, se observan las células secretoras pequeñas con citoplasma denso y un estoma (flecha). cs, células secretoras; e, estilo; f, filamento; pn, parénquima nectarífero; ps, parénquima subnectarífero; s, estoma.

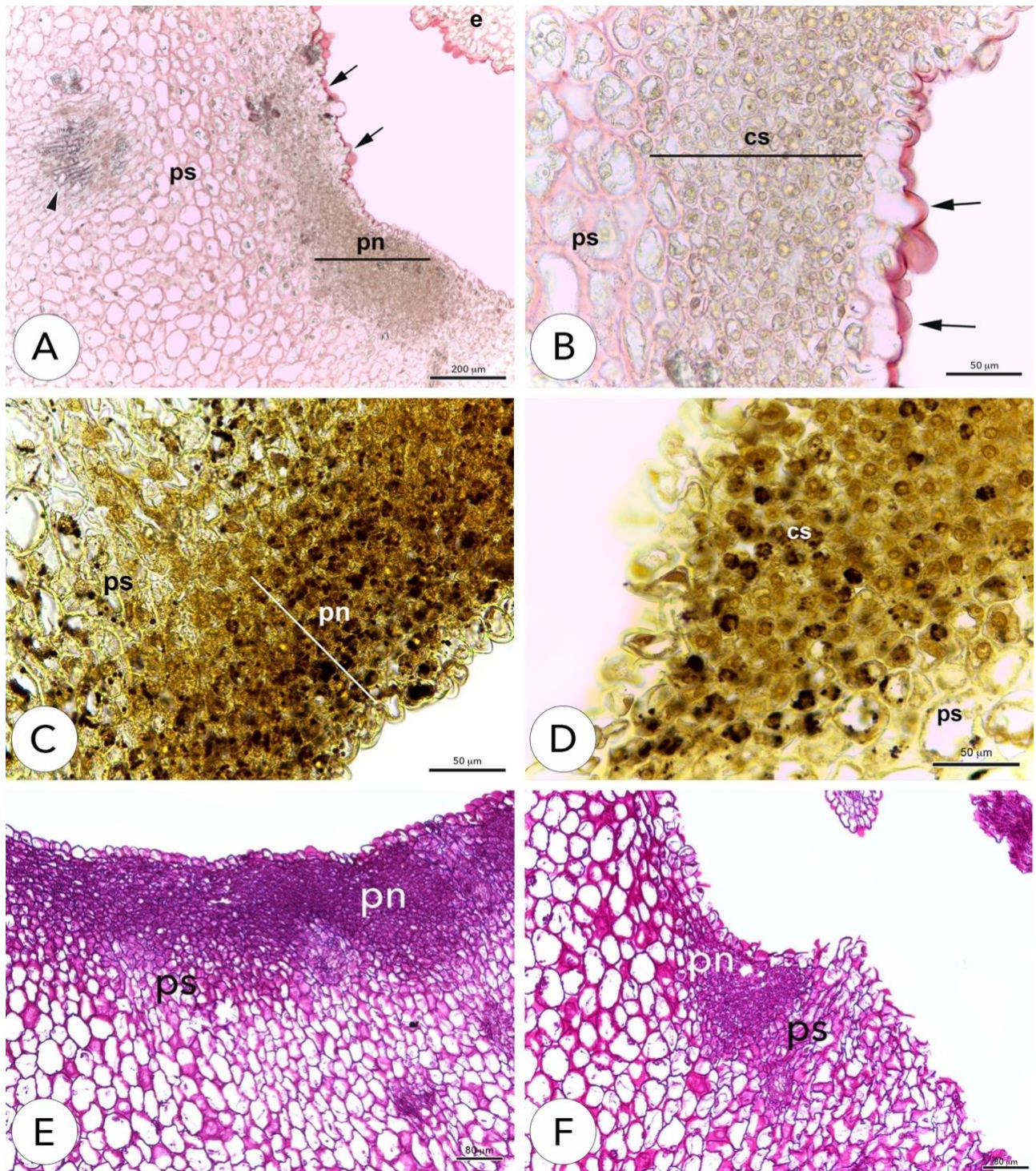


Figura 16. Pruebas histoquímicas del nectario de *Thelocactus leucacanthus* ssp. *schmollii* en la población del sitio de estudio en Peñamiller, Querétaro. Cortes transversales (A-C, E) y longitudinales (D, F). A, B. Prueba de Rojo "O". Sólo la cutícula presenta lípidos (flechas). La cabeza de flecha señala un haz vascular. C, D. Prueba de lugol, fue positiva para almidón en el parénquima nectarífero y en algunas células del parénquima subnectarífero. E, F. Prueba de APS, fue positiva para polisacáridos insolubles en el parénquima nectarífero y en algunas células del parénquima subnectarífero. cs, células secretoras; pn, parénquima nectarífero; ps, parénquima subnectarífero.

También se observa una gran cantidad de proteínas en el parénquima nectarífero con la prueba de Azul Negro de Naftol (Fig. 17A, B). Por último, la prueba doble de Azul Negro de Naftol y APS salió positiva para proteínas y polisacáridos insolubles respectivamente presentes en el parénquima nectarífero (Fig. 17C, D).

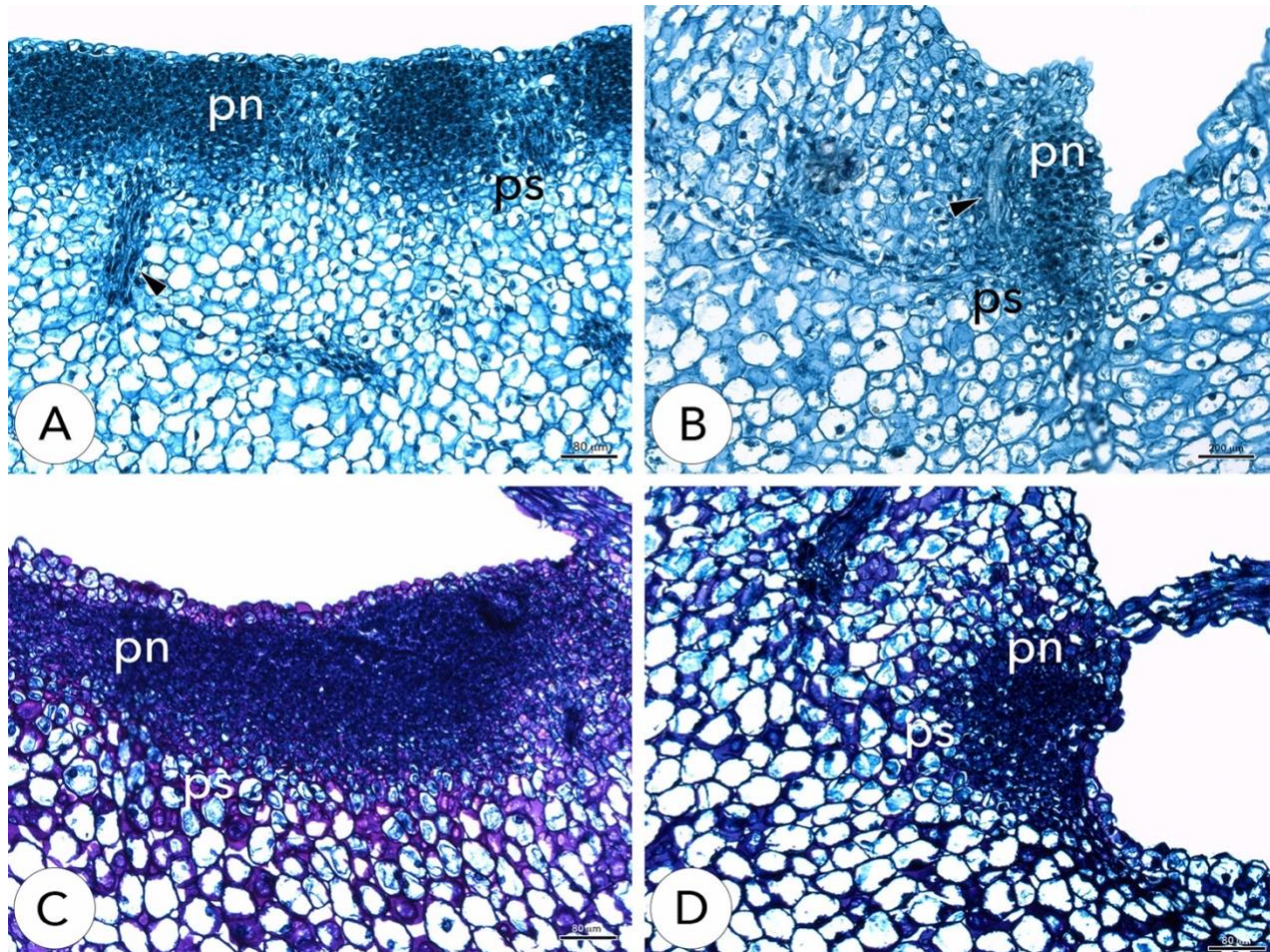


Figura 17. Pruebas histoquímicas del nectario de *Thelocactus leucacanthus* ssp. *schmollii* en la población del sitio de estudio en Peñamiller, Querétaro (continuación). Cortes transversales (A, C) y longitudinales (B, D). **A, B.** Prueba de Azul Negro de Naftol, resultó positiva para proteínas en el parénquima nectarífero; las cabezas de flecha señalan haces vasculares asociados al nectario. **C, D.** Prueba Azul Negro de Naftol – APS resultó positiva para proteínas y polisacáridos insolubles en el nectario. pn, parénquima nectarífero; ps, parénquima subnectarífero.

Observaciones sobre la fragmentación del hábitat por actividades antropogénicas

Durante las visitas al campo, se observó que a lo largo del tiempo (en un periodo de dos años de visitas) el hábitat de esta población se ha ido degradando por la actividad humana. Al inicio del trabajo, se observaba mucha basura en el sitio. En el sitio de estudio también se encuentran ejemplares de *Lophophora diffusa*, y se observaron personas que saqueaban estas plantas.

Con el paso del tiempo se encontraban menos ejemplares de *L. diffusa*. Aunado a esto, se observó que los individuos de *T. leucacanthus* ssp. *schmollii* estaban en malas condiciones por falta de agua debido a la erosión y actividades de limpia del terreno para otros fines, lo que provoca que muchos de los ejemplares se encontraran desenterrados y algunos muertos. Al terminar las visitas a la población, se encontró una gran parte del sitio de estudio completamente deforestada (Fig. 18), comparado con la primera visita en el 2018 (ver Fig. 1). Lamentablemente, no se pudo cuantificar el número de plantas destruidas porque las utilizadas para la biología floral y demás experimentos no estaban marcadas, ni tampoco se hizo un censo inicial.



Figura 18. Panorámica del sitio de estudio de la población de *Thelocactus leucacanthus* ssp. *schmollii* en Peñamiller, Querétaro. En la última visita (agosto del 2019) el sitio se encontró deforestado.

DISCUSIÓN

Biología floral y sistema de apareamiento

Aunque la duración floral de uno o dos días es típico en Cactaceae (Mandujano *et al.*, 2010), en *T. leucacanthus* ssp. *schmollii* el ciclo floral es realmente corto y se restringe a unas cuantas horas, por lo que su oportunidad para ser visitadas y polinizadas es muy corto y de alto riesgo, debido a que presenta dicogamia incompleta y es autoincompatible, lo que limita aún más el número de cruza compatibles, disminuyendo la producción de semillas. La longevidad floral cercana a dos días y una receptividad aproximadamente de tres horas después de la dehiscencia de las anteras (protandria) ocurre también en *Hylocereus* sp. (Pimienta-Barrios y Del Castillo, 2002), en *Pilosocereus royenii* (Rivera-Marchand y Ackerman, 2006), en siete especies del género *Ariocarpus* (Martínez-Peralta *et al.*, 2014b) y en *Echinocereus pentalophus* (Reyes, 2019). En cambio, en otras cactáceas que no son polinizadas el primer día siguen abriendo días consecutivos, como en *Mammillaria grahamii* (Bowers, 2002) y *Strombocactus disciformis* (DC.) Britton & Rose (Camacho, tesis en revisión). Además de la falta de polinización, la longevidad floral también puede estar influenciada por las condiciones ambientales. Se ha visto que en *Ariocarpus trigonus* (F.A.C. Weber) K. Schum. la falta de radiación solar hace que la duración de la antesis sea más corta y como consecuencia, las flores son capaces abrir hasta un día más de lo usual (Martínez-Peralta y Mandujano, 2012).

De acuerdo con Ornduff (1969) y Cruden (1977), se pueden hacer predicciones sobre los sistemas de cruce de una especie con base en su sistema de apareamiento, ellos proponen que las especies con sistemas de cruce por entrecruza presentan flores grandes (mayor a 6 mm) con hercogamia y dicogamia. En cuanto al sistema de apareamiento, el índice de entrecruza dio un valor de 4 para *T. leucacanthus* ssp. *schmollii* indicando que es xenógama, ya que el diámetro de sus flores es mayor a 6 mm (es de 51.21 ± 11.67 mm) y presenta

protandria. Lo que indica según los autores anteriores que el taxón de estudio presenta un sistema de entrecruza.

De acuerdo con dos estudios de *T. leucacanthus* ssp. *schmollii* de una localidad diferente en Querétaro, las flores presentan hercogamia (Martínez-Ramos *et al.*, 2017; García, tesis en revisión), sin embargo, en la presente investigación no se encontró una separación espacial entre el estigma y las anteras. La diferencia en los resultados disímiles del presente trabajo con el de García (tesis en revisión) puede deberse a que cada población presente características intrínsecas específicas que se ven reflejadas al estudiarlas.

Sistema de cruza y tasa de entrecruza

Los resultados obtenidos a partir de las polinizaciones controladas confirmaron lo predicho con el sistema de apareamiento, ya que *T. leucacanthus* ssp. *schmollii* presenta un sistema de cruza por entrecruza, ya que no formó semillas en los tratamientos de autopolinización. El sistema de entrecruza se ha reportado en otras 83 especies de la subfamilia Cactoideae, como en *Stenocactus anfractuosus*, *Coryphantha cornifera* (Fuentes, 2012), *Cleistocactus baumannii* y *C. smaragdiflorus* (Gorostiague y Ortega-Baes, 2016).

Los valores de la tasa de entrecruza van de 0 a 1, donde 0 equivale a una especie con autocruza estricta, 1 a una especie únicamente con entrecruza y 0.5 a una especie con sistema mixto (Barrett y Eckert, 1990; Barrett *et al.*, 1996). Por lo tanto, el valor 1 que resultó de la ecuación indica que *T. leucacanthus* ssp. *schmollii* presenta entrecruza estricta. En efecto, ni las autopolinizaciones ni la apomixis formaron semillas en esta especie. Con base en la formación de frutos solamente en los tratamientos control y de entrecruza, es claro que la formación de semillas en el grupo control se dio por polinización cruzada.

La prueba U de Mann-Whitney señala que no hubo diferencias significativas en la producción de semillas entre los tratamientos control y de entrecruza manual, lo que podría

indicar que no hay una limitación de polinizadores de la especie *T. leucacanthus* ssp. *schmollii* en el sitio de estudio; sin embargo, hacen falta corroborarlo con un tratamiento de polen suplementario, como el realizado en otras cactáceas (Martínez-Peralta y Mandujano, 2016). Cuando se poliniza manualmente con polen de otro individuo, se espera que se sature el estigma y por lo tanto todos o la mayoría de los óvulos sean fecundados y los resultados muestran que el total de semillas formadas en ambos tratamientos son similares.

En otras especies de plantas se ha observado que una buena carga de polen en el estigma (carga estigmática) puede aumentar el número de semillas producidas, porque la presencia de más polen conoespecífico incrementa la posibilidad de competencia entre los granos de polen, que se traduce en la producción de un mayor número de semillas (Snow, 1986; Bertin, 1990; Mitchell, 1997). Al no haber diferencias significativas en el análisis del presente estudio, se infiere que es posible que los polinizadores sí transfieren el polen entre individuos de manera eficaz al compararlo con una carga de polen única. Por lo tanto, los polinizadores son cruciales en la polinización cruzada, pues depositan grandes cantidades de polen conoespecífico en el estigma, el suficiente para desarrollar un número de semillas equivalente al de la entrecruza manual, en donde se satura el estigma. Por lo tanto, la especie necesita polinizadores para reproducirse por la vía sexual, pero en el caso de la especie estudiada, el color magenta, tan llamativo y brillante y el efecto contrastante con el pálido color del sustrato y el verde de los tallos, realmente resulta en que las flores de *T. leucacanthus* ssp. *schmollii* no pueden pasar desapercibidas para los polinizadores.

Las poblaciones que presentan entrecruza se ven favorecidas al tener mayor variabilidad genética, evitando o disminuyendo la depresión por endogamia. La depresión por endogamia se expresa como la reducción en la viabilidad y/o fertilidad de la descendencia producida por autogamia, ya que aumenta la homocigosidad (Charlesworth y Charlesworth, 1987). Es posible

que por esta razón, la población *T. leucacanthus* ssp. *schmollii* estudiada, se ve beneficiada por presentar un sistema de entrecruza estricto, ya que se propicia la diversidad de la población, su supervivencia y reproducción sexual y, por lo tanto, que la población pueda enfrentarse a cambios ambientales (Eguiarte *et al.*, 1992).

Por otra parte, en un estudio que fue desarrollado por García (tesis en revisión), en otra población de *T. leucacanthus* ssp. *schmollii*, se encontró que es hercogámica y presenta un sistema de cruza mixto, ya que hubo formación de semillas por autogamia. Esa la localidad, denominada Agua del Ángel en Peñamiller, Querétaro, se encuentra aproximadamente a una distancia de 7.84 km en línea recta de la población del presente estudio (Fig. 19). Estas diferencias se deben a que las especies en diferentes poblaciones se comportan de manera diferente y puede ser una prueba de que en la población estudiada por García (tesis en revisión) algunos individuos estén perdiendo el sistema de incompatibilidad.



Figura 19. Localización de dos poblaciones de *Thelocactus leucacanthus* ssp. *schmollii* en el estado de Querétaro. A la izquierda la población Agua del Ángel estudiada por García (tesis en revisión) y a la derecha la población del presente estudio. Ambas poblaciones se encuentran separadas por una distancia de aproximadamente 7.84 km en línea recta (tomado de Google Maps, consultado el 15 de noviembre de 2019).

Sistema de autoincompatibilidad

La nula formación de frutos y semillas provenientes de los tratamientos de autocruza tanto natural como manual, sugiere que la especie posee un sistema genético de autoincompatibilidad, o bien, se debe a algún evento post-fecundación, como el aborto del embrión (Ornduff, 1969).

La autoincompatibilidad ha sido poco estudiada en las cactáceas, pero en ciertos estudios se reporta que algunas especies de la subfamilia Cactoideae presentan sistemas de autoincompatibilidad gametofítica (aquella en la cual los granos de polen germinan en el estigma y los tubos polínicos logran crecer hasta el estilo, donde su crecimiento es bloqueado; De Nettancourt, 1977). Este tipo de incompatibilidad ha sido reportado en algunas especies del género *Schlumbergera*, *Hatiora* (Boyle, 1997, 2003) y *Echinopsis chamaecereus* H. Friedrich & Glaetzle (Boyle e Idnurm, 2000); sin embargo faltan estudios que informen sobre la gran mayoría de las cactáceas.

A pesar de que los tubos polínicos de *T. leucacanthus* ssp. *schmollii* llegan hasta la base del estilo en el tratamiento de autocruza, no se forman semillas, por lo que no presenta un sistema de autoincompatibilidad gametofítico como se ha reportado en otras especies de la subfamilia Cactoideae (Boyle 1997, 2003; Boyle e Idnurm, 2000). En los sistemas de incompatibilidad gametofíticos de Solanaceae, Rosaceae y Plantaginaceae el crecimiento de los tubos polínicos se detiene en el estilo (De Nettancourt, 1977; Ávila-Castañeda y Cruz-García, 2011; Jiménez-Durán y Cruz-García, 2011). Es posible que el crecimiento de los tubos polínicos siga hasta llegar al ovario y se inhiba el crecimiento ahí, lo que se conoce como incompatibilidad ovárica o tardía (Seavey y Bawa, 1986). La inhibición ovárica se ha observado en *Hylocereus polyrhizus* (F.A.C. Weber) Britton & Rose (Lichtenzveig *et al.*, 2000) y

Strombocactus disciformis ssp. *disciformis* y *S. disciformis* ssp. *corregidora* (Camacho, tesis en revisión).

Otro posible mecanismo es el de rechazo post-cigótico que se da después de la aparente doble fecundación normal (Ornduff, 1969). El rechazo se da por abortición del óvulo en etapa de cigoto y después de la primera división del núcleo del endospermo. Se ha observado que el rechazo se da por incompatibilidad entre los tubos polínicos propios y el óvulo, más que por la falta de capacidad del embrión y endospermo de continuar su desarrollo (Sears, 1937; Seavey y Bawa, 1986); sin embargo esto no ha sido abordado en Cactaceae.

Visitantes florales

Con base en su comportamiento, las hormigas (*Monomorium* sp.) no son polinizadores porque casi no visitan flores abiertas y cuando lo hacen no tocan los verticilos sexuales. Es posible que los escarabajos (*Trichochrous* sp.) sólo sean florívoros, pues sólo entran al tubo floral, sin tocar los verticilos sexuales y se alimentan de los tejidos del fondo del tubo floral o hipantio. Algunos trabajos han reportan que escarabajos del género *Trichochrous* son polinívoros y que buscan refugio en las flores de especies como *Echinocereus pentalophus* (Reyes, 2019) y *Lophophora diffusa* (Briseño, 2016).

Las abejas son los potenciales polinizadores de *T. leucacanthus* ssp. *schmollii*, pues se observa mucho polen en sus estructuras colectoras (escopas, corbículas, etc.). Además, con base en su comportamiento, favorecen la entrecruza, pues la mayoría de las veces aterrizan en el estigma, después forrajean las anteras y se van a otra planta, transfiriendo así el polen entre individuos. De acuerdo con los rasgos evaluados, *Lasioglossum* sp. (subgénero *Dialictus*) es una de las abejas polinizadoras con mayor efectividad en sus visitas en el sitio de estudio, seguidas de *Pseudopanurgus* sp. y *Diadasia* sp. Aunque las visitas de otros géneros de abejas no pueden ser descartados, ya que existen muchos factores que influyen en la polinización,

que en este estudio no se tomaron en cuenta, como la temporada, la cantidad de recompensa, etc. (Golubov *et al.*, 2010; Ne'Eman *et al.*, 2010), por lo que se necesitan estudios más específicos que se centren en observaciones más detalladas a lo largo del tiempo de los visitantes florales. Aunado a esto, el método para la evaluación de la efectividad de los visitantes sólo puede ser tomado como una propuesta debido al pequeño tamaño de la muestra para realizar los intervalos. Por otra parte, se necesitan hacer estudios con otras especies y muchas repeticiones para poder afirmar que es un criterio confiable para determinar la efectividad de los visitantes florales.

En varias especies de Cactoideae se ha reportado que las abejas son polinizadoras importantes, como en *Astrophytum asterias* (Martínez, 2007), *Echinocereus schmollii* (Vázquez *et al.*, 2016), *Echinocereus pentalophus* (Reyes, 2019), *Mammillaria grahamii* (Bowers, 2002), *Lophophora diffusa* (Briseño, 2016), así como ciertas especies de los géneros *Ariocarpus* (Martínez-Peralta y Mandujano, 2012; Martínez, 2014; Martínez-Peralta *et al.*, 2014a, 2014b), *Echinocactus* (Jiménez, 2008) y *Ferocactus* (Del Castillo, 1994).

Recompensas florales

Con base en las pruebas histoquímicas el nectario de *T. leucacanthus* ssp. *schmollii* no produce lípidos como recompensa, pero sí produce néctar, pues tiene mucha actividad metabólica, detectada por la gran cantidad de proteínas presente en el parénquima nectarífero. El almidón es la fuente del néctar, pues es un almacén de carbohidratos (polisacáridos insolubles). Se ha visto que la tasa de secreción está relacionada con la presencia de almidón. Al haber un almacén de almidón, la tasa de secreción es más rápida que si se produjeran los carbohidratos directamente por fotosíntesis (Nicolson *et al.*, 2007). Se ha observado que la secreción por nectarostomas es común en la familia Cactaceae (Fuentes, 2004; Almeida *et al.*, 2013; Gudiño *et al.*, 2015; Gudiño *et al.*, 2018; Camacho-Velázquez *et al.*, 2019).

El volumen de néctar que produce *T. leucacanthus* ssp. *schmollii* es muy poco como para ser cuantificado, sin embargo, al observar los nectarostomas en microscopio electrónico de barrido se detectaron secreciones a través del ostiolo y sobre la epidermis del nectario. Otras especies de la misma subfamilia Catoideae también producen poco néctar, como *Melocactus andinus* R. Gruber ex N.P. Taylor y *M. schatzlii* W. Till & R. Gruber (5.3 μ l y 4.4 μ l respectivamente; Nassar *et al.*, 2007). En otras especies no es cuantificable, como en *Lophophora diffusa* (Briseño, 2016) y en *Strombocactus disciformis* (Camacho-Velázquez *et al.*, 2019).

Por otra parte, los únicos visitantes florales que llegan hasta la zona del nectario son los coleópteros (*Trichochrous*), pues las abejas sólo forrajean las anteras para obtener polen. Esto aunado a la gran cantidad de anteras que presenta el taxón, indica que la principal recompensa para los polinizadores es el polen, aunque también ofrecen néctar.

Fragmentación del hábitat por actividades antropogénicas

La degradación del hábitat, la sobreexplotación de recursos y el cambio climático son factores que amenazan la biodiversidad porque alteran el equilibrio de las poblaciones (Ramawat *et al.*, 2014). Las cactáceas son muy vulnerables, debido a la combinación de diversos factores intrínsecos y extrínsecos, como la baja tasa de crecimiento y reclutamiento, los ciclos de vida largos, la distribución restringida y el pequeño tamaño de sus poblaciones. La combinación de estos factores impacta de manera importante a las poblaciones (Mandujano *et al.*, 2010).

En otra población de *T. leucacanthus* ssp. *schmollii* se ha observado que la tasa de crecimiento está en equilibrio y que la propagación clonal podría asegurar que la población permanezca. Sin embargo, tiene una ligera tendencia a decrecer y se encontró que la mortalidad o saqueo de plantas en etapa reproductiva, es uno de los factores que más

impactan a la densidad poblacional, por lo que es importante proteger a los individuos reproductivos para mantener a la población (Fernández, 2017).

En la última visita realizada a la población estudiada de *T. leucacanthus* ssp. *schmollii*, se encontró una gran parte del sitio de estudio completamente deforestada, este evento, junto con las características intrínsecas de la especie, como ser autoincompatible, tener un sistema de entrecruza estricta, depender de polinizadores y los efectos del cambio climático, la hacen una especie vulnerable. Algo similar ocurrió en una población de *Ariocarpus retusus* Scheidw. en una localidad de Tamaulipas, México. En esa población, arrasaron con aproximadamente 2000 plantas debido a que el terreno se destinó a la construcción de una presa captadora de agua, causando un daño irreversible a la población de esta especie (Arroyo-Cosultchi *et al.*, 2014). Es por esto que se vuelve estrictamente indispensable un estudio demográfico para determinar el área de distribución completa del taxón y reevaluar su estatus de conservación en listas nacionales e internacionales.

CONCLUSIONES

Thelocactus leucacanthus ssp. *schmollii* presenta un sistema de apareamiento xenógamo debido a la presencia de flores grandes y dicogamia (protandria), además presenta un sistema de entrecruza estricta. La población estudiada de *T. leucacanthus* ssp. *schmollii* es autoincompatible y es probable que presente inhibición ovárica para evitar la autofecundación, sin embargo faltan estudios que lo corroboren.

Todo esto indica que el taxón necesita de vectores de polinización para la reproducción sexual. Los potenciales polinizadores del taxón en la población de estudio son diferentes especies abejas. Los visitantes con una mayor efectividad de visita con base en diferentes rasgos como la tasa de visitas y la carga de polen fueron de los géneros *Lasioglossum* (subgénero *Dialictus*), *Pseudopanurgus* y *Diadasia*. La principal recompensa que ofrece *T. leucacanthus* ssp. *schmollii* a los polinizadores es el polen, aunque también ofrecen néctar. Se registró un escarabajo del género *Trichochrous* como posible florívoro.

Las características intrínsecas (como el lento crecimiento, ciclo de vida largo y la necesidad de entrecruza) y extrínsecas (como la degradación de su hábitat y el cambio climático) de *T. leucacanthus* ssp. *schmollii* hacen que el taxón sea vulnerable y esté en riesgo de desaparecer. Debido a esto es necesario realizar estudios demográficos para conocer el área de distribución real del taxón y así poder reevaluar el estatus de conservación específico de la subespecie *schmollii* en las diferentes listas nacionales e internacionales como la NOM-059-SEMARNAT, la lista roja de la UICN o los apéndices de la CITES.

BIBLIOGRAFÍA

- Aguilar, R., L. Ashworth, L. Galetto y M.A. Aizen. 2006. Plant reproductive susceptibility to habitat fragmentation: review and synthesis through a meta-analysis. *Ecology Letters* **9**(8): 968-980.
- Almeida, O., J. Cota-Sánchez y A. Paoli. 2013. The systematic significance of floral morphology, nectaries, and nectar concentration in epiphytic cacti of tribes Hylocereeae and Rhipsalideae (Cactaceae). *Perspectives in Plant Ecology, Evolution and Systematics* **15**(5): 255-268.
- Anderson, E. 2001. *The Cactus family*. Timber Press. EUA, Oregon. 776 pp.
- Arias, S. y J. Flores. 2013. La familia Cactaceae. En: Márquez-Guzmán, J., M. Collazo-Ortega, M. Martínez-Gordillo, A. Orozco-Segovia y S. Vázquez-Santana. (Eds.). *Biología de Angiospermas*. Universidad Nacional Autónoma de México. México, D.F. Páginas 492-503.
- Arreola, H.J. 1997. Formas de vida y características morfológicas. En: Valle, C. (Ed.). *Suculentas mexicanas: Cactáceas*. CONABIO, SEMARNAT, UNAM, México.
- Arroyo-Cosultchi, G., D. Cárdenas, M. Martínez-Ramos y S. Hernández. 2014. Desaparición de una población de *Ariocarpus retusus* Scheidw. por la destrucción de su hábitat en Miquihuana, Tamaulipas, México. *Cactáceas y Suculentas Mexicanas* **59**(2): 52-63.
- Ávila-Castañeda, B.A. y F. Cruz-García. 2011. Sistema de incompatibilidad gametofítico en plantas: una oportunidad para evitar la endogamia. *Mensaje Bioquímico* **XXXV**: 67-78.
- Ayala, R. 1988. Abejas silvestres (Hymenoptera: Apoidea) de Chamela, Jalisco, México. *Folia Entomológica Mexicana* **77**: 395-493.
- Ayasse, M. y J. Arroyo. 2011. Pollination and plant reproductive biology. *Plant Biology* **13**(S1): 1-6.
- Badano, E.I. y B.O. Schlumpberger. 2001. Sistema de cruzamiento y estimaciones en la eficiencia de polinización sobre *Trichocereus pasacana* (Cactaceae) en dos poblaciones del Noroeste Argentino. *Gayana Botánica* **58**(2): 115-122.
- Barrett, S. 2002. The evolution of plant sexual diversity. *Nature Reviews Genetics* **3**(4): 274-284.
- Barrett, S. 2014. Evolution of mating systems: Outcrossing versus selfing. En: Losos, J. (Ed.). *The Princeton guide to evolution*. Princeton University Press, Princeton, Nueva Jersey. Páginas 356-362.
- Barrett, S. y C.G. Eckert. 1990. Variation and evolution of mating systems in seed plants. En: Kawano, S. (Ed.). *Biological approaches and evolutionary trends in plants*. Academic Press. London. 229-254 pp.
- Barrett, S., L.D. Harder y A.C. Worley. 1996. The comparative biology of pollination and mating in flowering plants. *Philosophical Transactions: Biological Sciences* **351**(1345): 1271-1280.
- Bascompte, J. y P. Jordano. 2014. *Mutualistic Networks*. Princeton University Press, EUA, Princeton y Oxford. 208 pp.
- Bawa, K.S. 1980. Evolution of dioecy in flowering plants. *Annual Review of Ecology and Systematics* **11**(1): 15-39.

- Bertin, R.I. 1990. Effects of pollination intensity in *Campsis radicans*. *American Journal of Botany* **77**(2): 178-187.
- Bowers, J.E. 2002. Flowering patterns and reproductive ecology of *Mammillaria grahamii* (Cactaceae), a common, small cactus in the Sonoran Desert. *Madroño* **49**(4): 201-206.
- Boyle, T.H. 1997. The genetics of self-incompatibility in the genus *Schlumbergera* (Cactaceae). *Journal of Heredity* **88**(3): 209-214.
- Boyle, T.H. 2003. Identification of self-incompatibility groups in *Hattiora* and *Schlumbergera* (Cactaceae). *Sexual Plant Reproduction* **16**(3): 151-155.
- Boyle, T.H. y A. Idnurm. 2000. Physiology and genetics of self-incompatibility in *Echinopsis chamaecereus* (Cactaceae). *Sexual Plant Reproduction* **13**(6): 323-327.
- Bravo-Hollis, H. 1978. *Las Cactáceas de México*. Vol 1. Universidad Nacional Autónoma de México. México D. F. 743 pp.
- Bravo-Hollis, H. y H. Sánchez-Mejorada. 1991. *Las Cactáceas de México*. Vol 2. Universidad Nacional Autónoma de México. México D. F. 564 pp.
- Briseño, S.M.I. 2016. Estructura poblacional y biología de la reproducción de *Lophophora diffusa* (Croizat) Bravo (Cactaceae) en Querétaro, México. Tesis de Licenciatura (Biología), Facultad de Estudios Superiores Iztacala, Universidad Nacional Autónoma de México. Tlalneapantla, Estado de México. 86 pp.
- Camacho, V.A. (En revisión). Biología reproductiva de *Strombocactus* (Cactaceae). Tesis de Doctorado en Ciencias Biológicas, Facultad de Ciencias, Universidad Nacional Autónoma de México. México, CDMX.
- Camacho-Velázquez, A., S. Arias, J. Márquez-Guzmán y S. Vázquez-Santana. 2019. The structure of nectaries in the genus *Strombocactus* (Cactaceae). *Botanical Sciences* **97**(1): 100-109.
- Camacho-Velázquez, A., S. Ríos-Carrasco y S. Vázquez-Santana. 2016. Biología reproductiva de la subfamilia Cactoideae (Cactaceae). *Cactáceas y Suculentas Mexicanas* **61**(4): 100-127.
- Charlesworth, D. y B. Charlesworth. 1987. Inbreeding depression and its evolutionary consequences. *Annual Review of Ecology and Systematics* **18**(1): 237-268.
- Chaves, F.A. 2000. Aspectos de la biología reproductiva de una población de *Wigginsia vorweckiana* (Cactaceae). En: Resúmenes de Trabajos de Grado. Facultad de Ciencias, Universidad Nacional de Colombia. *Acta Biológica Colombiana* **5**: 83.
- CITES. 2017. Appendices | CITES. Consultado el 9 de septiembre del 2019 de: <https://www.cites.org/eng/app/appendices.php>
- Cruden, R.W. 1977. Pollen-ovule ratios: A conservative indicator of breeding systems in flowering plants. *Evolution* **31**(1): 32-46.
- Dafni, A. 1992. *Pollination Ecology*. Oxford University Press. Reino Unido. 272 pp.
- De Nettancourt, D. 1977. *Incompatibility in Angiosperms*. Springer, Berlin, Heidelberg. 232 pp.
- Del Castillo, R.F. 1994. Polinización y otros aspectos de la biología floral de *Ferocactus histrix*. *Cactáceas y Suculentas Mexicanas* **39**(2): 36-43.

- Domínguez, C. y J.R. Pérez. 2013. La biología de la polinización. En: Márquez-Guzán, J., M. Collazo-Ortega, M. Martínez-Gordillo, A. Orozco-Segovia y S. Vázquez-Santana. (Eds.). *Biología de Angiospermas*. Universidad Nacional Autónoma de México. México, D.F. Páginas 93-100.
- Eguiarte, L., J. Núñez-Farfán, C. Domínguez y C. Cordero. 1992. Biología evolutiva de la reproducción en plantas. *Ciencias* **6**: 69-86.
- Fenster, C.B., W.S. Armbruster, P. Wilson, M.R. Dudash y J.D. Thomson. 2004. Pollination syndromes and floral specialization. *Annual Review of Ecology, Evolution and Systematics* **35**(1): 375-403.
- Fernández-Muñiz, T.Y. 2017. Dinámica poblacional y evaluación del estado de conservación de un cactus endémico del desierto Chihuahuense. Tesis de Maestría en Ciencias Biológicas, Instituto de Ecología, Universidad Nacional Autónoma de México. México, CDMX. 87 pp.
- Fleming, T.H., C. Geiselman y W. John Krees. 2009. The evolution of bat pollination: a phylogenetic perspective. *Annals of Botany* **104**(6): 1017-1043.
- 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**(3): 279-289.
- Fleming, T.H., C. Sahley, J. Holland, J. Nassar y J. Hamrick. 2001. Sonoran Desert columnar cacti and the evolution of generalized pollination systems. *Ecological Monographs* **71**(4): 511-530.
- Fuentes-Mayo, V. 2012. Atributos demográficos y biología reproductiva de *Coryphantha cornifera* y *Stenocactus anfractuosus* con fines de conservación. Tesis de Doctorado en Ciencias, Colegio de Postgraduados. Monteciméxico, Estado de México. 97 pp.
- Fuentes-Pérez, M. 2004. Anatomía floral de algunas especies de la tribu Pachycereeae (Cactaceae). Tesis de Licenciatura (Biología), Facultad de Ciencias, Universidad Nacional Autónoma de México. México, D.F. 119 pp.
- García, B.L. (En revisión). Biología floral de *Thelocactus leucacanthus* ssp. *schmollii* (Werderm.) Mosco & Zanovello (Cactaceae) en una localidad del semidesierto queretano, México. Tesis de Licenciatura (Biología), Facultad de Ciencias, Universidad Nacional Autónoma de México. México, CDMX.
- Gibson, A.C. y P.S. Nobel. 1986. *The Cactus Primer*. Harvard University Press. Boston, MA. 286 pp.
- Golubov, J., M.C. Mandujano, A.J. Martínez y J. López-Portillo. 2010. Bee diversity on nectarful and nectarless honey mesquites. *Journal of Insect Conservation* **14**(3): 217:226.
- Gómez-Hinostrosa, C. Sánchez, J. Guadalupe-Martínez y R. Bárcenas-Luna. 2017. *Thelocactus leucacanthus*. *The IUCN Red List of Threatened Species 2017*.
- Gorgas, J., N. Cardiel y J. Zamorano. 2011. *Estadística Básica para Estudiantes de Ciencias*. Universidad Complutense de Madrid. España, Madrid. 242 pp.
- Gorostiague, P. y P. Ortega-Baes. 2016. How specialised is bird pollination in the Cactaceae? *Plant Biology* **18**(1): 63-72.

- Gudiño, W., E. de la Barrera E. y J. Márquez-Guzmán. 2018. Estructura de los nectarios florales y el néctar en la familia Cactaceae. *Cactáceas y Suculentas Mexicanas* **63**(4): 100-126.
- Gudiño, W, J. Márquez-Guzmán y E. de la Barrera. 2015. Structural implications for nectar secretion by nectaries of three columnar cacti. *Maejo International Journal of Science and Technology* **9**: 156-164.
- Guzmán, U., S. Arias y P. Dávila. 2003. *Catálogo de Cactáceas Mexicanas*. Universidad Nacional Autónoma de México, México D.F. 315 pp.
- Hernández, C.R. 2011. Estudio comparativo de la sexualidad floral de *Echinocereus coccineus* y *Echinocereus polyacanthus* (Cactoideae: Cactaceae). Tesis de Maestría en Ciencias Biológicas, Facultad de Ciencias, Universidad Nacional Autónoma de México. México, D.F. 78 pp.
- Hernández-Cruz, R., F. Barrón-Pacheco, D. Sánchez, S. Arias y S. Vázquez-Santana. 2018. Functional Dioecy in *Echinocereus*: Ontogenetic patterns, programmed cell death, and evolutionary significance. *International Journal of Plant Sciences* **179**(4): 257–274.
- Hernández-Cruz, R., J. Silva-Martínez, F. García-Campusano, F. Cruz-García, G. Orozco-Arroyo, I. Alfaro and S. Vázquez-Santana. 2019. Comparative development of staminate and pistillate flowers in the dioecious cactus *Opuntia robusta*. *Plant Reproduction* **32**(3): 257- 273.
- Hoffman, M.T. 1992. Functional Dioecy in *Echinocereus coccineus* (Cactaceae): Breeding system, sex-ratios, and geographic range of floral dimorphism. *American Journal of Botany* **79**(12): 1382-1388.
- Ibarra-Cerdeña, C.N., L.I. Íñiguez-Dávalos y V. Sánchez-Cordero. 2005. Pollination ecology of *Stenocereus queretaroensis* (Cactaceae), a chiropterophilous columnar cactus, in a tropical dry forest of Mexico. *American Journal of Botany* **92**(3): 503-509.
- INEGI. 2017. *Análisis Estadístico y Geográfico de Querétaro*. Instituto Nacional de Estadística y Geografía. México. 451 pp.
- Jiménez, S.C.L. 2008. Estudios sobre la biología y demografía de *Echinocactus platyacanthus* Link et Otto, en Zapotitlán de las Salinas, Puebla. Tesis de Doctorado en Ciencias Biológicas, Facultad de Ciencias, Universidad Nacional Autónoma de México. México, D.F. 139 pp.
- Jiménez-Durán, K. y F. Cruz-García. 2011. Incompatibilidad sexual, un mecanismo genético que evita la autofecundación y contribuye a la diversidad vegetal. *Revista Fitotecnia Mexicana* **34**(1): 1-9.
- Johnson, R.A. 1992. Pollination and reproductive ecology of Acuña Cactus, *Echinomastus erectocentrus* var. *acunensis* (Cactaceae). *International Journal of Plant Sciences* **153**(3): 400-408.
- Kephart, S.R., E. Brown y J. Hall. 1999. Inbreeding depression and partial selfing: evolutionary implications of mixed-mating in a coastal endemic, *Silene douglasii* var. *oraria* (Caryophyllaceae). *Heredity* **82**(5): 543–554.
- Lichtenzweig J., S. Abbo, A. Nerd, N. Tel-Zur e Y. Mizrahi. 2000. Cytology and mating systems in the climbing cacti *Hylocereus* and *Selenicereus*. *American Journal of Botany* **87**(7): 1058-1065.

- Lloyd, D.G. y C.J. Webb. 1986. The avoidance of interference between the presentation of pollen and stigmas in angiosperms I. Dichogamy. *New Zealand Journal of Botany* **24**(1): 135-162.
- Lodé, J. 2015. *Taxonomía de las Cactáceas*. Vol. 2. Cactus-Aventuras. España, Almería. 719 pp.
- Mackay, W.P. y E.E. Mackay. 1989. Clave de los géneros de hormigas en México (Hymenoptera: Formicidae). II Simposio Nacional de Insectos Sociales. México, Oaxtepec. 82 pp.
- Mandujano, M.C., I. Carrillo-Ángeles, C. Martínez-Peralta y J. Golubov. 2010. Reproductive Biology of Cactaceae. En: Ramawat, K.G. (Ed.). *Desert Plants*. Springer-Verlag. Berlín. Páginas 197-230.
- Márquez, J., R. Wong, M. Pérez, L. López y G. Murguía. 2016. *Técnicas de laboratorio para el estudio del desarrollo en angiospermas*. Las prensas de Ciencias. Universidad Nacional Autónoma de México. México, CDMX. 247 pp.
- Martínez, A.J.G. 2007. Dinámica poblacional del “falso peyote” *Astrophytum asterias* (Zucc) Lem. (Cactaceae), una especie amenazada del Noroeste de México. Tesis de Doctorado. Facultad de Ciencias Forestales, Universidad Autónoma de Nuevo León. México. 107 pp.
- Martínez, O.C. 2014. Evolución de caracteres florales y reproductivos en el género *Ariocarpus* (Cactaceae): especies raras en peligro de extinción. Tesis de Doctorado en Ciencias, Instituto de Ecología, Universidad Nacional Autónoma de México. México, CDMX. 110 pp.
- Martínez-Peralta, C. y M.C. Mandujano. 2012. Biología de la polinización y fenología reproductiva del género *Ariocarpus* Scheidweiler (Cactaceae). *Cactáceas y Suculentas Mexicanas* **57**(4): 80-90.
- Martínez-Peralta, C. y M.C. Mandujano. 2016. Pollen limitation in a rare cactus with synchronous mass flowering. *Haseltonia* **22**: 2-8.
- Martínez-Peralta, C., J. Márquez-Guzmán y M.C. Mandujano. 2014a. How common is self-incompatibility across species of the herkogamous genus *Ariocarpus*? *American Journal of Botany* **101**(3): 530-538.
- Martínez-Peralta, C., F. Molina-Freaner, J. Golubov, A. Vázquez-Lobo y M.C. Mandujano. 2014b. A comparative study of the reproductive traits and floral morphology of a genus of geophytic cacti. *International Journal of Plant Sciences* **175**(6): 663-680.
- Martínez-Ramos, L., M. Mejía, M. Rojas-Aréchiga y M. Mandujano. 2017. La hercogamia como indicador del sistema reproductivo de *Thelocactus leucacanthus* ssp. *schmollii*. *Cactáceas y Suculentas Mexicanas* **62**(1): 13-22.
- Michener, C.D. 2007. *The Bees of the World*. The Johns Hopkins University Press. EUA, Baltimore. 953 pp.
- Mitchell, R.J. 1997. Effects of pollination intensity on *Lesquerella fendleri* seed set: Variation among plants. *Oecologia* **109**(3): 382-388.
- Morgan, M.T. y D.J. Schoen. 1997. The role of theory in an emerging new plant reproductive biology. *Trends in Ecology and Evolution* **12**(6): 231–234.

- Nassar, J.M., J.L. Hamrick y T.H. Fleming. 2001. Genetic variation and population structure of the mixed-mating cactus, *Melocactus curvispinus* (Cactaceae). *Heredity* **87**(1): 69-79.
- Nassar, J.M., J.L. Hamrick y T.H. Fleming. 2003. Population genetic structure of Venezuelan chiropterophilous columnar cacti (Cactaceae). *American Journal of Botany* **90**(11): 1628-1637.
- Nassar, J.M. y N. Ramírez. 2004. Reproductive biology of the melon cactus, *Melocactus curvispinus* (Cactaceae). *Plant Systematics and Evolution* **248**(1-4): 31-44.
- Nassar, J.M., N. Ramírez, M. Lampo, J.A. González, R. Casado y F. Nava. 2007. Reproductive biology and mating system estimates of two Andean melocacti, *Melocactus schatzlii* and *M. andinus* (Cactaceae). *Annals of Botany* **99**(1): 29-38.
- Nassar, J.M., N. Ramirez y O. Linares. 1997. Comparative pollination biology of Venezuelan columnar cacti and the role of nectar-feeding bats in their sexual reproduction. *American Journal of Botany* **84**(7): 918-927.
- Ne'Eman, G., A. Jürgens, L. Newstrom-Lloyd, S.G. Potts y A. Dafni. 2010. A framework for comparing pollinator performance: Effectiveness and efficiency. *Biological Reviews* **85**(3): 435-451.
- Nicolson, S., M. Nepi y E. Pacini. 2007. *Nectaries and nectar*. Springer. Países Bajos. 395 pp.
- Ornduff, R. 1969. Reproductive biology in relation to systematics. *Taxon* **18**(2): 121-133.
- Orozco, A.G. 2002. Sistema reproductivo de *Opuntia stenopetala* Engelmann (Cactaceae). Tesis de Licenciatura (Biología), Facultad de Ciencias, Universidad Nacional Autónoma de México. México, D.F. 82 pp.
- Orozco-Arroyo, G., S. Vázquez-Santana, A. Camacho, J.G. Dubrovsky y F. Cruz-García. 2012. Inception of maleness: auxin contribution to flower masculinization in the dioecious cactus *Opuntia stenopetala*. *Planta* **236**(1): 225-238.
- Ortega-Baes, P. y H. Godínez-Alvarez. 2006. Global diversity and conservation priorities in the Cactaceae. *Biodiversity and Conservation* **15**(3): 817-827.
- Pimienta-Barrios, E. y R.F. Del Castillo. 2002. Reproductive Biology. En: Nobel, P.S. (Ed.). *Cacti: Biology and Uses*. University of California Press. Berkeley. Páginas 75-90.
- Raguso, R.A., C. Henzel, S.L. Buchmann y G.P. Nabhan. 2003. Trumpet flowers of the Sonoran Desert: Floral biology of *Peniocereus* cacti and sacred *Datura*. *International Journal of Plant Sciences* **164**(6): 877-892.
- Ramawat, K.G., J.M. Mérillon y K.R. Shivanna. 2014. *Reproductive Biology of Plants*. CRC Press. EUA, Boca Raton. 390 pp.
- Rebman, J. 2001. The succulents of Islote Toro, Baja California, Mexico. *Cactáceas y Suculentas Mexicanas* **46**(3): 52-55.
- Reyes, T.J. 2019. Efecto de la biología reproductiva sobre la dinámica poblacional de *Echinocereus pentalophus* en el estado de Querétaro, México. Tesis de Maestría en Ciencias Biológicas, Instituto de Ecología, Universidad Nacional Autónoma de México. México, CDMX. 102 pp.
- Richards, A.J. 1997. *Plant Breeding Systems*. Chapman and Hall. Londres. 529 pp.

- Rivera-Marchand, B. y J.D. Ackerman. 2006. Bat pollination breakdown in the Caribbean columnar cactus *Pilosocereus royerii*. *Biotropica* **38**(5): 635-642.
- Sánchez, C.D. 2007. Embriología de *Mammillaria dioica* K. Brandegees (Cactaceae). Tesis de Licenciatura (Biología), Facultad de Ciencias, Universidad Nacional Autónoma de México. México, D.F. 52 pp.
- Sánchez, D., y S. Vázquez-Santana. 2018. Embryology of *Mammillaria dioica* (Cactaceae) reveals a new male sterility phenotype. *Flora* **241**: 16-26.
- Sánchez, E., R. Chávez, J. Hernández y M. Hernández. 2008. *Especies de Cactaceae prioritarias para la conservación de la zona árida queretano-hidalguense*. CONCYTEQ. Querétaro, México. Página 80.
- Sears, E.R. 1937. Cytological phenomena connected with self-sterility in the flowering plants. *Genetics* **22**(1): 130-181.
- Seavey, S.R. y K.S. Bawa. 1986. Late-acting self-incompatibility in angiosperms. *The Botanical Review* **52**(2): 195-219.
- SEMARNAT. 2010. Norma Oficial Mexicana NOM-059-SEMARNAT-2010. Protección ambiental- Especies nativas de México de flora y fauna silvestres- Categoría de riesgo y especificaciones para su inclusión, exclusión o cambio- Lista de especies en riesgo. *Diario Oficial de la Federación* (30 de diciembre de 2010). México, D.F.
- Snow, A. 1986. Pollination dynamics in *Epilobium canum* (Onagraceae): Consequences for gametophytic selection. *American Journal of Botany* **73**(1): 139-151.
- Sreekala, A.K. 2017. Importance of plant reproductive biology in conservation. In: *National Conference on "Bioresources: Conservation, Utilization and Future Prospects*. India, Tamil Nadu.
- Strittmatter, L.I., V. Negrón-Ortiz y R.J. Hickey. 2002. Subdioecy in *Consolea spinosissima* (Cactaceae): breeding system and embryological studies. *American Journal of Botany* **89**(9): 1373-1387.
- Strong, A.W. y P.S. Williamson. 2007. Breeding system of *Astrophytum asterias*: An endangered cactus. *The Southwestern Naturalist* **52**(3): 341-346.
- Valiente-Banuet, A., A. Rojas-Martínez, M. del Coro-Arizmendi y P. Dávila. 1997. Pollination biology of two columnar cacti (*Neobuxbaumia mezcalaensis* and *Neobuxbaumia macrocephala*) in the Tehuacan Valley, Central Mexico. *American Journal of Botany* **84**(4): 452-455.
- Vázquez, E., E. Sánchez y B. Maruri. 2016. Biología floral de *Echinocereus schmollii* (Weing.) N.P. Taylor, especie endémica de Cadereyta de Montes, Querétaro, México. *Cactáceas y Suculentas Mexicanas* **61**(1):12-28.
- Webb, C.J. y D.G. Lloyd. 1986. The avoidance of interference between the presentation of pollen and stigmas in angiosperms II. Herkogamy. *New Zealand Journal of Botany* **24**(1): 163-178.
- White, R.E. 1998. *The Beetles of North America*. Houghton Mifflin Harcourt. EUA, Boston. 384 pp.

ANEXO I

Tabla 5. Evaluación del comportamiento de los visitantes florales de *Thelocactus leucacanthus* ssp. *schmollii* colectados en la población del sitio de estudio en Peñamiller, Querétaro en mayo, junio y octubre de 2018. Se muestran los valores asignados a cada categoría y la suma de éstos. Los visitantes con mayor actividad fueron las abejas del género *Lasioglossum* subgénero *Dialictus*. Los visitantes menos efectivos fueron las hormigas del género *Monomorium* y los escarabajos del género *Trichochrous*.

Morfoespecie	Número de visitas	de Carga polen	Toca anteras	Toca estigma	Total
<i>Lasioglossum (Dialictus) sp.</i>	4	4	1	1	10
<i>Pseudopanurgus sp.</i>	2	3	1	1	7
<i>Diadasia sp.</i>	0	4	1	1	6
<i>Exomalopsis sp.</i>	2	1	1	1	5
<i>Ceratina sp.</i>	0	3	1	1	5
<i>Ashmeadiella sp.</i>	0	1	1	1	3
<i>Agapostemon sp.</i>	0	1	1	1	3
<i>Dianthidium sp.</i>	0	0	1	1	2
<i>Augochlora sp.</i>	0	0	1	1	2
<i>Monomorium sp.</i>	0	0	0	0	0
<i>Trichochrous sp.</i>	0	0	0	0	0