



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

POSGRADO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS

INSTITUTO DE ECOLOGÍA

ECOLOGÍA

Efecto del flujo de polen en la biología reproductiva y estructura poblacional de los morfos florales de *Opuntia streptacantha* Lem. (Cactaceae)

TESIS

QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE:

MAESTRO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS

PRESENTA:

GERARDO MANZANAREZ VILLASANA

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

COMITÉ TUTOR: DRA. SONIA VÁZQUEZ SANTANA
FACULTAD DE CIENCIAS, UNAM

DR. ÁNGEL SALVADOR ARIAS MONTES
INSTITUTO DE BIOLOGÍA, UNAM

MÉXICO, CDMX. Diciembre, 2023



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

POSGRADO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS

INSTITUTO DE ECOLOGÍA

ECOLOGÍA

Efecto del flujo de polen en la biología reproductiva y estructura poblacional de los morfos florales de *Opuntia streptacantha* Lem. (Cactaceae)

TESIS

QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE:

MAESTRO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS

PRESENTA:

GERARDO MANZANAREZ VILLASANA

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

COMITÉ TUTOR: DRA. SONIA VÁZQUEZ SANTANA
FACULTAD DE CIENCIAS, UNAM

DR. ÁNGEL SALVADOR ARIAS MONTES
INSTITUTO DE BIOLOGÍA, UNAM

MÉXICO, CDMX. Diciembre, 2023

COORDINACIÓN GENERAL DE ESTUDIOS DE POSGRADO
COORDINACIÓN DEL POSGRADO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS
ENTIDAD INSTITUTO DE ECOLOGÍA
OFICIO: CGEP/CPCB/ IE /0894/2023
ASUNTO: Oficio de Jurado

M. en C. Ivonne Ramírez Wence
Directora General de Administración Escolar, UNAM
P r e s e n t e

Me permito informar a usted que el Comité Académico, del Posgrado en Ciencias Biológicas, en su reunión ordinaria del día **11 de septiembre de 2023**, aprobó el siguiente jurado para el examen de grado de **MAESTRO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS** en el campo de conocimiento de (**Ecología**) del estudiante **MANZANAREZ VILLASANA GERARDO** con número de cuenta **313204739** con la tesis titulada: **“EFECTO DEL FLUJO DE POLEN EN LA BIOLOGÍA REPRODUCTIVA Y ESTRUCTURA POBLACIONAL DE LOS MORFOS FLORALES DE *Opuntia streptacantha* Lem (Cactaceae)”**, bajo la dirección de la **DRA. MARÍA DEL CARMEN MANDUJANO SÁNCHEZ**, quedando integrado de la siguiente manera:

Presidente: DR. LUIS ENRIQUE EGUIARTE FRUNS
Vocal: DRA. MARTHA JUANA MARTÍNEZ GORDILLO
Vocal: DRA. ROCIO SANTOS GALLY
Vocal: DRA. NATALIA IVALÚ CACHO GONZÁLEZ
Secretario: DRA. SONIA VÁZQUEZ SANTANA

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

A T E N T A M E N T E
“POR MI RAZA HABLARÁ EL ESPÍRITU”
Ciudad Universitaria, Cd. Mx., a 14 de noviembre de 2023

COORDINADOR DEL PROGRAMA



DR. ADOLFO GERARDO NAVARRO SIGÜENZA

c. c. p. Expediente del alumno

AGNS/ERR/EARR/err



Agradecimientos institucionales

Al Programa del Posgrado en Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional Autónoma de México, UNAM.

Al Consejo Nacional de Humanidades, Ciencias y Tecnologías (CONAHCyT) por la beca otorgada para la realización de esta investigación.

Este proyecto se realizó con financiamiento del proyecto CONAHCyT 221362 “Estrategias reproductivas en cactáceas, facilitación o interferencia” y del presupuesto operativo del Instituto de Ecología, UNAM, otorgados por la Dra. María del Carmen Mandujano Sánchez.

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

A mi comité tutorial, el Dr. Ángel Salvador Arias Montes y Dra. Sonia Vázquez Santana. Por su revisión, su apoyo y contribución a este trabajo.

Agradecimientos personales

A la Universidad Nacional Autónoma de México por ser mi segunda casa.

A mis padres, Raymundo Manzanarez, quien me ha demostrado que con trabajo se puede lograr todo lo que te propones, por nunca rendirse y por siempre apoyar a mis hermanas y a mí, y Gloria Trinidad Villasana, quien me demostró que no hay amor más grande que el de una madre a sus hijos. Gracias por todas las desveladas, los regaños y el amor, espero hacerte sentir orgullosa con todo lo que logró y soy.

A mis hermanas, Carmen y Lupita, a quienes amo con todo mi corazón, y no dudaría en dar todo por ustedes. Gracias por apoyarme en todos mis proyectos.

A Adriana Diaz, quien es y espero que sea por mucho tiempo la persona más importante en mi vida. Gracias por apoyarme desde el primer momento, por todo el cariño que me das. Este logro también es tuyo. Te amo siempre y recuerda que eres una luz que a veces, brillas tan intensamente, que tengo que apartar la mirada.

A Júpiter, que ya no está con nosotros, pero fue parte fundamental de esto, va en tu memoria.

A Meli, por siempre tenerme la confianza y demostrarme que soy capaz de lo que me propongo académicamente. Espero no haberte fallado y seguir trabajando contigo mucho tiempo, gracias por ser una inspiración para mí.

Al Laboratorio de Genética y Ecología del Departamento de Ecología de la Biodiversidad del Instituto de Ecología, Universidad Nacional Autónoma de México, UNAM, por facilitar sus instalaciones para realizar este trabajo.

A el Dr. Salvador y la Dra. Sonia, por ayudarme y enseñarme mucho durante el proceso.

Al personal del Jardín Botánico Regional de Cadereyta, y en especial al Ing. Emiliano Sánchez, director, y a la Biol. Beatriz Maruri Aguilar, coordinadora de investigación educativa, por el apoyo y facilidades otorgadas

A la Dra. Mariana Rojas Aréchiga por el apoyo en la logística de las salidas de campo, por su apoyo en manejo, almacenamiento y germinación de las semillas y a la Lic. Anabel Domínguez Reyes, por el apoyo en el trabajo de laboratorio.

Al jurado conformado por el Dr. Luis Enrique Eguiarte Fruns; Dra. Martha Juana Martínez Gordillo; Dra. Rocío Santos Gally; Dra. Sonia Vázquez Santana y Dra. Natalia Ivalú Cacho González. Por su revisión y contribución a este trabajo.

A Humberto, Miguel, Pancho, Diana, Angela y Eric, que desde que entre en esta nueva etapa me han motivado a ser mi mejor versión siempre, gracias a cada uno por ser la familia que escogí.

A Jime, Juanito, Diana, Guadalupe, Ileri y Pablo, que a pesar de no estar tan cercanos como antes siempre he sentido su amor y apoyo en todo lo que hago.

A los tomentosos del semi-desierto: Omar, Sandino, Eder, Tania, Jessica, Manuel, Rosa, Andrés, Vanesa, Karen y Pactli. Que durante el campo o en el laboratorio hicieron mis días más amenos y me apoyaron con la toma de los datos, en especial a:

A Linda Mariana, Isabel y Mariana Cano; pilares de esta investigación, son unas científicas increíbles y las quiero con todo mi corazón, gracias por todas sus enseñanzas y apoyo.

A Esteban, José Antonio y Emilio; gracias por su gran amistad, son personas muy importantes para mí, gracias por enseñarme que una caguama siempre se puede dividir.

A Diana C. y Mariana Paola; por todo su apoyo y amistad en cada momento, por compartir y escuchar nuestros problemas en cada momento, las quiero mucho.

A Don Saul y Don Chilo, que en el momento más difícil estuvieron apoyándonos siempre.

A Rachel, Miguel y Amanda, mis compañeros de cubículo, por hacer los días más amenos en el laboratorio.

A todo aquel que llegue a leer este trabajo, espero y te sirva en tus investigaciones. Y que cumplas todo lo que te propongas.

Contenido

Resumen	1
Abstract	2
Introducción	3
I. Reproducción en angiospermas	3
II. Sistemas reproductivos en Angiospermas	3
III. Sistemas de cruce en Angiospermas	6
IV. Sistemas de apareamiento en Angiospermas	7
V. Polinización: recompensas y atrayentes florales	8
VI. Reflectancia de luz ultravioleta en las flores y polinización	11
VII. Densidad poblacional, distribución espacial y reproducción	12
VIII. Justificación	13
Objetivos	14
Objetivo general	14
Objetivos particulares	14
Materiales y Métodos	15
Diseño experimental	18
Resultados	29
Discusión	53
Conclusiones	67
Referencias	68

Resumen

La reproducción asegura la permanencia de los genes, poblaciones y especies en el tiempo. En las plantas, un paso fundamental de su reproducción es el flujo de polen. La combinación de atributos morfológicos, temporales, fisiológicos, conductuales, y el tipo de vectores determinan si se produce progeñe, así como su composición genética. La dispersión biótica del polen depende de los polinizadores, quienes a su vez dependen de las recompensas y atrayentes florales. La expresión de los componentes florales se ve reflejada en el éxito reproductivo de la planta y estos componentes pueden determinar o limitar la distribución y abundancia de las plantas. Un atrayente fundamental para los visitantes florales es el color de las flores, y su diversidad se asocia con el éxito reproductivo de las plantas. El objetivo principal del presente trabajo fue determinar el efecto del flujo de polen en la biología reproductiva y en la densidad poblacional y la distribución espacial de los morfos florales (amarillo y anaranjado) de *Opuntia streptacantha* Lem. Para esto, se realizaron experimentos de polinización manual (10 tratamientos con $n = 25$ flores por morfo floral en cada uno) para determinar el sistema de cruce de ambos morfos florales y la compatibilidad intermorfos a través de la producción de frutos y semillas (*fruit set* y *seed set*); se determinó el sistema de apareamiento de ambos morfos florales ($n = 25$ flores por morfo floral); se evaluó la proporción y la distancia de transferencia del polen entre y dentro de morfos florales; se evaluaron las recompensas florales (producción de néctar y marcha floral); se determinó si existe fluorescencia visible inducida por luz ultravioleta en ambos morfos florales; se contabilizó el número de colores que presenta cada morfo floral; se midió la frecuencia de visitas y la composición de visitantes florales que presenta cada morfo para construir una red de interacción bipartita y se evaluó la densidad poblacional y el patrón de distribución para la especie y para los morfos florales. *Opuntia streptacantha* presentan un sistema de cruce de “xenogamia estricta”, según Cruden (1977). Los tratamientos de polinización manual más exitosos del morfo amarillo fueron polen suplementario 1 (polinización con una carga de polen suplementaria de plantas donadoras del mismo morfo) seguido de control (flores abiertas a polinización natural) y el polen suplementario 2 (polinización con una carga de polen suplementaria de plantas donadoras del morfo opuesto). Para el morfo anaranjado los tratamientos con el mayor *fruit set* fueron control, seguido de autopolinización manual (polinización autogama) y cruce artificial intermorfo (polinizaciones con polen del morfo floral opuesto). El flujo de polen es constante y abundante entre y dentro de morfos, y presenta una distancia media de 15 m. El morfo amarillo produce más néctar y tiene una mayor apertura floral. La red de interacción visitante-morfo floral es generalista, principalmente por abejas, y efectivamente su síndrome de polinización es por abejas. El patrón generalista de los visitantes es producto de sus recompensas y atrayentes florales. Ambos morfos florales presentan una alta reflectancia de luz UV, más notoriamente en las anteras y la zona entre anteras y parte interior de los segmentos del perianto (parte adaxial baja de los tépalos internos, en cuya base está la cámara nectarial). El morfo amarillo presentó un mayor número de tonos de colores. La especie presenta una densidad alta y un patrón de distribución agregado. Su sistema de cruce es mixto, como en otros nopales. El alto flujo de polen podría estar influido por su elevada sincronía floral y la densidad entremezclada de plantas de ambos morfos. Es interesante que las diferencias ecológicas y morfológicas entre ambos morfos florales no afectan ni sesgan la preferencia de los visitantes florales; podemos hipotetizar que los morfos florales incrementan el despliegue floral y producen una oferta floral más amplia, que a su vez facilitan la conectividad entre individuos y asegurando el éxito reproductivo de la especie.

Abstract

Reproduction ensures the permanence of genes, populations and species over time. In plants, a fundamental step in their reproduction is the flow of pollen. The combination of morphological, temporal, physiological, behavioral attributes, and the type of vectors determine whether progeny are generated, as well as their genetic composition. Biotic dispersal of pollen depends on pollinators who in turn depend on floral rewards and attractants. The expression of floral components is reflected in the reproductive success of the plant and these components can determine or limit the distribution and abundance of plants. A key attractor for floral visitors is the color of flowers, and their diversity is associated with the reproductive success of plants. The main objective of the present work was to determine the effect of pollen flow on the reproductive biology and population density and spatial distribution of the floral morphs (yellow and orange) of *Opuntia streptacantha* Lem. For this aim, hand-pollination experiments (10 treatments with $n = 25$ flowers per floral morph in each) were conducted to determine the crossing system of both floral morphs and the inter-morph compatibility through fruit set and seed set; the mating system of both floral morphs was determined ($n = 25$ flowers per floral morph); the proportion and distance of pollen transfer between and within floral morphs was evaluated; floral rewards (nectar production and floral gait) were evaluated; it was determined if there is visible fluorescence induced by ultraviolet light in both floral morphs; the number of colors presented by each floral morph was counted; the frequency of visits and the composition of floral visitors to each morph were measured to construct a bipartite interaction network, and the population density and distribution pattern were evaluated for the species and for the floral morphs. *Opuntia streptacantha* have a "strict xenogamy" crossing system, according to Cruden (1977). The most successful hand pollination treatments of the yellow morph were supplemental pollen 1 (pollination with a supplemental pollen load from donor plants of the same morph) followed by control (flowers open to natural pollination) and supplemental pollen 2 (pollination with a supplemental pollen load from donor plants of the opposite morph). For the orange morph, the treatments with the highest fruit set were control, followed by manual self-pollination (self-pollination) and artificial inter-morph cross (pollinations with pollen from the opposite floral morph). Pollen flow is constant and abundant between and within morphs, with an average distance of 15 m. The yellow morph produces more nectar and has a larger flower opening. The visitor-flower morph interaction network is generalist, mainly by bees, and accordingly its pollination syndrome is by bees. The generalist pattern of visitors is a product of their floral rewards and attractants. Both floral morphs show high UV light reflectance, most notably in the anthers and the area between anthers and the inner part of the perianth segments (lower adaxial part of the inner tepals, at the base of which is the nectarial chamber). The yellow morph presented a greater number of color tones. The species has a high density and an aggregated distribution pattern. Its crossbreeding system is mixed, as in other prickly pear cactus. The high pollen flow could be influenced by its high floral synchrony and the intermixed density of plants of both morphs. Interestingly, the ecological and morphological differences between the two floral morphs do not affect or bias the preference of floral visitors. We can hypothesize that the floral morphs increase floral display and produce a wider floral supply, facilitating connectivity between individuals and ensuring the reproductive success of the species.

Introducción

I. Reproducción en angiospermas

Las angiospermas o plantas con flores constituyen uno de los grupos más exitosos y ampliamente distribuidos del reino vegetal (Villaseñor & Ortiz 2014), e incluyen ~290, 000 especies (Ramírez-Barahona *et al.* 2020). Son consideradas como uno de los principales modelos de estudio para diversas áreas de estudio como la biología de la reproducción (Soltis *et al.* 2018). En las plantas, la reproducción (como en todos los organismos) es uno de los mecanismos más importantes, ya que así se aseguran su permanencia a través de las generaciones en el tiempo (Wyatt 1983).

Los sistemas reproductivos en plantas están relacionados con los fenómenos y rasgos que ocurren desde antes de la polinización y la formación del embrión, por ejemplo: la presencia o ausencia de algún verticilo floral reproductivo (androceo o gineceo); el arreglo floral a diferentes niveles (flor, individuo, población y especie), la relación genética entre gametos, la fecundación y el desarrollo de las semillas, entre otros. Estos fenómenos permiten explicar las diferentes estrategias reproductivas en plantas, en relación con su ambiente, filogenia y condiciones genéticas (Wyatt 1983; Cardoso *et al.* 2018). Estos sistemas reproductivos se pueden catalogar a diferentes niveles: floral, individuo, población y especie (Wyatt 1983; Cardoso *et al.* 2018).

A pesar de que la flor es uno de los caracteres que apoyan la monofilia de las angiospermas (Crane *et al.* 1995; Soltis & Soltis 2004; Ramírez-Barahona *et al.* 2020), las flores presentan una gran diversidad a todo tipo de niveles taxonómicos, y en cada nivel, esta variación tiene una función importante en su sistema reproductivo.

II. Sistemas reproductivos en angiospermas

A nivel de flor se pueden encontrar flores unisexuales (estaminadas o pistiladas) y bisexuales (con ambos verticilos florales fértiles) (Wyatt 1983; Dafni 1992; Cardoso *et al.* 2018).

A nivel de individuo podemos encontrar los siguientes sistemas reproductivos:

- 1) Individuos hermafroditas: donde se presentan únicamente flores bisexuales, a veces llamas flores perfectas, es decir, con ambos verticilos reproductivos funcionales (Silvertown & Charlesworth 2001; Barrett & Hough 2013). Este sistema de reproducción es el más común dentro de las angiospermas, en *ca.* 90% de las especies (Jong & Klinkhamer 2005; Barrett & Hough 2013) y es considerado como el sistema de reproducción ancestral en las angiospermas (Sauquet *et al.* 2017).
- 2) Individuos monoicos: cuando se presentan flores unisexuales, tanto masculinas como femeninas en cada individuo (Barrett 2002; Charlesworth 2006; Jong *et al.* 2008). Este sistema tiene de un 5% a un 19% (según diferentes estudios) de presencia en las angiospermas (Lewis 1942; Ramírez & Brito 1990) y es una condición derivada (Mitchell & Diggle 2005).
- 3) Individuos ginomonoicos: cada individuo presenta flores bisexuales y unisexuales femeninas, las cuales pueden presentar un androceo atrofiado, reducido e incluso no presentarlo (Jong *et al.* 2008). Se estima que cerca del 3% de las angiospermas presentan este sistema (Yang & Shuangquan 2006).
- 4) Individuos andromonoicos: cada individuo presenta flores bisexuales y unisexuales masculinas, las cuales pueden presentar un gineceo atrofiado, reducido e incluso no presentarlo (Jong *et al.* 2008). Se estima que sólo el 1.7% de las angiospermas presentan este sistema de reproducción (Richards 1997).
- 5) Individuos trimonoicos: cada individuo tiene tanto flores bisexuales como unisexuales masculinas y femeninas (Cruden & Lloyd 1995). Este sistema es raro en las angiospermas, por lo que es considerado como una estrategia evolutiva no estable en las plantas (Jong *et al.* 2008).

A nivel de población, podemos definir los siguientes sistemas reproductivos:

- 1) Poblaciones hermafroditas: donde sólo hay individuos hermafroditas, con flores perfectas, con las características previamente mencionadas.
- 2) Poblaciones monoicas: donde los individuos tienen flores masculinas y femeninas (Silvertown & Charlesworth 2001).

- 3) Poblaciones dioicas: donde cada individuo es unisexual, es decir, hay individuos con flores masculinas e individuos con sólo flores femeninas (Barrett 2002; Charlesworth 2006; Käfer *et al.* 2017). Algunas de estas poblaciones pueden presentar un pseudo-dioicismo (Charlesworth 2006), que es el menos común entre las angiospermas, presentándose en *ca.* de un 7% de las especies, sin embargo, lo podemos ver en aproximadamente la mitad de las familias de las plantas con flor (Renner & Ricklefs 1995; Heilbuth 2000). Se hipotetiza que el dioicismo es una estrategia para prevenir la autofecundación o para hacer más eficiente la polinización, o por selección sexual/uso más eficiente de los recursos (*trade-off*), entre otros (Cardoso *et al.* 2018).
- 4) Poblaciones trioicas: con individuos hermafroditas (flores perfectas), e individuos unisexuales sólo con flores masculinas o sólo con flores femeninas (Silvertown & Charlesworth 2001).
- 5) Poblaciones ginodioicas: individuos unisexuales femeninos e individuos hermafroditas. Se estima que menos del 1% de las angiospermas presentan este sistema de reproducción (Charlesworth 2006; Godin & Demyanova 2013; Käfer *et al.* 2017).
- 6) Poblaciones andródioicas: individuos unisexuales masculinos e individuos hermafroditas. Se hipotetiza que estas poblaciones son causa de una mutación que produce la esterilidad del gineceo y solos sistemas menos frecuentes (Charlesworth 2006; Käfer *et al.* 2017).

En Cactaceae en general y en particular en el género *Opuntia*, la mayoría de las especies presentan flores hermafroditas (Bravo & Sánchez-Mejorada 1978; Anderson 2001; Mandujano *et al.* 2010), por lo que sus poblaciones también son hermafroditas. Sólo se han reportado cuatro especies que no siguen este patrón: *O. quitensis* y *O. stenopetala*, cuyas poblaciones son dioicas (Bravo & Sánchez-Mejorada 1978; Anderson 2001); *O. quimilo* con individuos femeninos y hermafroditas, siendo una población ginodioica (Díaz & Cocucci 2003); y *O. robusta* la cual presenta dos tipos de sistemas sexuales: dioicas (plantas masculinas y femeninas) y trioicas (plantas masculinas, femeninas y hermafroditas) (del Castillo 1999).

Para describir la reproducción y los sistemas de reproducción en angiospermas, se usan distintas aproximaciones, entre las cuales destacan los sistemas de cruza y los sistemas de apareamiento (Wyatt 1983; Dafni 1992; Mandujano *et al.* 2010).

III. Sistemas de cruza en angiospermas

Los sistemas de cruza determinan el modo por el cual se transmiten los genes a través de las generaciones y la composición genética de la progenie (Wyatt 1983), es decir, hacen referencia a los mecanismos encargados de un intercambio de material genético por medio de la reproducción sexual. Existen tres grandes sistemas de cruza: entrecruza, auto cruza y mixto (Wyatt 1983; Mandujano *et al.* 2010).

Los sistemas de cruza más comunes en las angiospermas son:

- 1) La autocruza (autopolinización): este sistema de cruza consiste en la unión de gametos masculinos y femeninos producidos en la misma flor, por lo que sólo puede ocurrir en flores bisexuales y se conoce como autogamia (Richards 1997). Este sólo puede ocurrir en especies autocompatibles, y se favorece por diferentes factores como: la cleistogamia (flores que nunca abren), un gineceo encorvado, la ausencia de hercogamia y dicogamia, la polinización autónoma, y la hercogamia inversa, entre otros (Goodwillie & Weber 2018), o el comportamiento del visitante floral (Lloyd 1992). Es importante destacar, que este sistema de cruza es más común en especies invasoras (Williamson & Fitter 1996) y en sistemas con escasez de polinizadores. Otra forma en la que puede ocurrir es por geitonogamia, que consiste en la fusión de gametos de diferentes flores, pero del mismo individuo (Richards 1997), esta puede ocurrir en flores hermafroditas o unisexuales. La progenie de una geitonogamia suele ser genéticamente similares (Cardoso *et al.* 2018).
- 2) La entrecruza (xenogamia): consiste en la fecundación de flores de diferentes individuos (Richards 1997), este sistema de cruza es el más frecuente entre las angiospermas, ya que se encuentra presente en aproximadamente el 50% al 90% de las especies. (Schemske & Lande 1985; Charlesworth 2006; Ferrer & Good

2012). Hay plantas que son xenógamas obligadas, es decir, que estas plantas se reproducen únicamente por entrecruza, formando cerca del 95% de sus frutos por esta vía (Canuto *et al.* 2014). Este sistema de cruza ayuda a mantener la diversidad genética en las poblaciones (Simpson 2006).

- 3) Sistema mixto: cuando se habla de un sistema mixto, se hace referencia a que puede ocurrir la formación de semillas por una mezcla de entrecruzas una autocruzas, y en algunos casos por apomixis (Richards 1997).

En el género *Opuntia*, el sistema que generalmente se presenta es el mixto (Reyes-Agüero *et al.* 2006; Mandujano *et al.* 2010). Se han reportado diferentes niveles de entrecruza y auto-cruza en *O. ficus-indica* (Nerd & Mizrahi 1995) y un sistema mixto en *O. quimilo*, en la cual las plantas hermafroditas presentan entrecruza y autocruza y las plantas femeninas reciben polen por entrecruza (Díaz & Cocucci 2003). Por otra parte, se ha demostrado auto-cruza en *O. streptacantha*, *O. cochinera* y *O. rastrera* (Trujillo & González 1991). En contraste, muchas especies hermafroditas de opuntias presentan principalmente entrecruza (Reyes-Agüero *et al.* 2006). En el género hay algunos reportes de especies autoincompatibles, como *O. microdasys* (Piña *et al.* 2007), *O. macrocentra* (Ortiz-Martínez *et al.* 2022) y dioicas como *O. stenopetala* y *O. robusta* (Mandujano *et al.*, 2010).

IV. Sistemas de apareamiento en angiospermas

Los sistemas de apareamiento constituyen la expresión sexual de las plantas, como son las características florales, funcionales y la distribución temporal (dicogamia) y espacial (hercogamia) de sus funciones sexuales (Webb & Lloyd 1986; Barrett 2003), como es el caso de la presencia de hercogamia en las flores de *Turbinicarpus horripilus* (Cactaceae) (Matías-Palafox 2007). La combinación de atributos morfológicos, temporales, fisiológicos y conductuales, así como el tipo de vectores que intervienen en el flujo de polen determinan la formación y composición genética de la progenie. De esta manera, puede estimarse la tasa de entrecruza (o de auto-cruza) mediante experimentos de polinización controlada o indirectamente con los coeficientes de endogamia (Mandujano *et al.* 2010).

En el género *Opuntia* se ha observado la presencia de hercogamia en especies como *O. macrocentra* (Ortiz-Martínez *et al.* 2022), *O. tomentosa* (Mandujano *et al.* 2014), *O. brasilaris* y *O. rastrera* (Grant *et al.* 1979). En cuanto la dicogamia, no ha sido registrada en el género (Reyes-Agüero *et al.* 2006).

Estos mecanismos cuentan con un paso fundamental conocido como flujo de polen, el cual consiste en el movimiento de los granos de polen de una flor a otra (Harden & Barret 1996), generalmente depende de diferentes vectores y factores.

V. Polinización: recompensas y atrayentes florales

La dispersión del polen puede variar dentro de una especie (Mena-Montoya *et al.* 2020). Por ejemplo, se ha observado que existe un cambio en el flujo cuando hay diversidad entre los fenotipos (Tonsor 1985), lo cual puede ser influenciado por selección dependiente de frecuencias (Gigord *et al.* 2001), por cambios en el vector de polinización (Liu *et al.* 2013), o por diferencias en la densidad y distribución de las plantas (Levin & Kerster 1969) y en su fenología (Lachenaud *et al.* 2007).

El movimiento del polen en muchas angiospermas depende de los polinizadores y estos a su vez dependen de las recompensas (el néctar y el polen) y de los atrayentes florales, como el color, la forma, el tamaño, las fragancias, entre otros (Richards 1997). Incluso, la geografía de cada región y las condiciones climáticas tienen un impacto en el movimiento del polen, ya que van a afectar o favorecer el vuelo de los vectores bióticos (Hennessy *et al.* 2021).

Tomando la analogía que varios autores han planteado (Heinrich 1979; Menzel & Shmida 1993; Chittka 1997; Gumbert *et al.* 1999), los sistemas de polinización son como los mercados, donde los productos son las recompensas principales [como el néctar y el polen] mientras que el color, la forma y el tamaño de las flores, serían las señales publicitarias y los consumidores serían los polinizadores.

El color de las flores es una señal utilizada por los polinizadores para localizar a las flores y al néctar (Chittka *et al.* 2003; Giurfa 2004; Dyer *et al.* 2006). Se ha hipotetizado que

los visitantes florales presentan una mayor frecuencia de visitas en los colores que han asociado con mayores recompensas (Menzel *et al.* 1993; Gumbert *et al.* 1999; Raguso 2004). Por ejemplo, las aves, asocian los colores a recompensas (Stiles 1976; Kaczorowski *et al.* 2014), lo mismo que las abejas, aunque cada grupo se basa en distintos parámetros de color (Papiorek *et al.* 2016). En *Viola cornuta* (Violaceae), el cambio de color de blanco a púrpura se asocia como señal de baja disponibilidad de néctar y/o la receptividad de la flor (Farzad *et al.* 2002).

Sin embargo, los visitantes no son siempre fieles a una sola especie de planta (polinizadores generalistas), y cuando estos cambian de una planta a otra no es algo aleatorio o arbitrario (Gumbert *et al.* 1999). Se ha observado que las abejas suelen moverse con menor frecuencia entre flores que presentan señales distintas (Waser 1983; Wilson & Stine 1996; Chittka *et al.* 1999), por lo que el color de las flores puede promover la constancia de visitantes (Gumbert *et al.* 1999).

No obstante, los visitantes florales presentan diferencias en la visión del color y a la luz ultravioleta, por lo que determinados colores y patrones de reflectancia de la luz UV de las flores atraen selectivamente a los mismos visitantes (Grant 1949; Melendez-Ackerman & Campbell 1998; Campbell *et al.* 2010; Junker *et al.* 2013; Papiorek *et al.* 2016).

El néctar es sin duda la recompensa floral por excelencia, ya que se ha demostrado que hay una correlación positiva entre la producción de néctar y diferentes medidas de adecuación, ya que cuando ocurre el incremento de la producción de néctar se provoca un incremento en la tasa de visitantes florales, lo cual incrementa la importación y exportación del polen (Brandenburg *et al.* 2009; Golubov & Mandujano 2009). Sin embargo, se ha reportado que la variación intraindividual de néctar puede representar un mecanismo de manipulación en la tasa de visitantes florales, permitiendo reducir costos energéticos en la planta y asegurar al mismo tiempo una visita constante de polinizadores (Maldonado *et al.* 2023).

La forma de la flor, el tamaño y apertura son consideradas a menudo como algunas de las características principales que determinan el tipo de polinizador. La transición de polinización por vectores bióticos a vectores abióticos (por viento o agua) va acompañada de

cambios en los rasgos florales, como la reducción o eliminación del perianto (Friedman & Barrett 2009; Stephens *et al.* 2023).

Por esto, la hipótesis de la selección estabilizadora mediada por el polinizador sugiere que el sistema de polinización especializado de las flores zigomórficas (flores que presentan un único plano de simetría), puede promover una selección estabilizadora; y por lo tanto la variación del tamaño de las flores zigomórficas es menor en comparación a las flores actinomórficas (flores que presentan múltiples planos de simetría), ya que las flores actinomórficas suelen tener polinizadores generalistas (Wolfe & Krstolic 1999; Fenster *et al.* 2004), es decir, que el ensamble entre la flor y el polinizador afecta la eficacia de la polinización (Harden & Barrett 1993), e impulsa la evolución de la amplia variedad de formas florales presentes (van der Niet *et al.* 2014; Stephens *et al.* 2023).

La variación en colores, formas e incluso recompensas de las flores han favorecido la evolución de los diferentes síndromes de polinización (Armbruster *et al.* 2000; Fenster *et al.* 2004), los cuales se basan en la hipótesis que las características actuales de las flores son el producto de su historia evolutiva con un grupo particular de polinizadores (Proctor *et al.* 1996; Stebbins 1970; Fenster *et al.* 2004; Pérez-Tejada & Pérez 2013).

En el género *Opuntia*, las flores son actinomórficas, de colores atractivos (generalmente amarillas, pero también pueden ser naranjas, rosas y púrpuras), con fragancias suaves y dulces (Bravo & Sánchez-Mejorada 1978; Anderson 2001). Los estigmas son húmedos, pegajosos y lobulados, los estambres son numerosos y con poco polen o pocos estambres con abundante polen (Grant & Hurd 1979; Nerd & Mizrahi 1995; Reyes-Agüero *et al.* 2006). El nectario se encuentra en la base del estilo o de los filamentos (Grant & Hurd 1979), presentando floraciones largas y aperturas de perianto grandes (Grant & Hurd 1979; Nerd & Mizrahi 1995; Reyes-Agüero *et al.* 2006), con una antesis (periodo en el cual las flores están abiertas) que dura entre 8 y 11 horas (Rosas & Pimienta 1986; Mandujano *et al.* 1996; Reyes-Agüero *et al.* 2005); también hay especies que pueden abrir un segundo día (Rosa & Pimienta 1986; Mandujano *et al.* 2010; Martínez-Ramos 2016).

Se ha descrito que el género *Opuntia* presenta una polinización generalmente por abejas, y que su síndrome de polinización es la melitofilia (Grant & Hurd 1979; Mandujano *et al.* 2010), hipotetizándose una coevolución entre estos grupos (Sipes & Tepedino 2005;

Reyes-Agüero *et al.* 2006), como es el caso ya corroborado de las abejas solitarias de los géneros *Diadasia* sp. y *Lithurge* sp., las cuales presentan una especialización oligoléctica con los nopales (Mandujano *et al.* 1996; Reyes-Agüero *et al.* 2006; Piña *et al.* 2007; Mandujano *et al.* 2010; Munguía-Soto 2016). Sin embargo, no son los únicos visitantes de las flores de *Opuntia*, pues hay reportes de colibríes (Arizmendi & Ornelas 1990; Díaz & Cocucci 2003; Díaz-Infante *et al.* 2020; Manzanarez-Villasana 2020), hormigas (Oliveira *et al.* 1999; Gómez-Otamendi *et al.* 2018) y escarabajos (Barrales-Alcalá *et al.* 2012), entre otros animales.

VI. Reflectancia de luz ultravioleta en las flores y polinización

Otro atrayente floral es la fluorescencia visible inducida por ultravioleta (UV) o reflectancia de luz ultravioleta. La luz ultravioleta es radiación electromagnética cuya longitud de onda está entre los 40 y 400 nanómetros (Primack 1982).

La reflectancia UV es un rasgo floral usado por diferentes grupos de polinizadores (principalmente por insectos) para la detección y discriminación de las flores. Gracias a esta reflectancia, los polinizadores pueden identificar patrones de UV de las flores y/o contrastar la reflectancia de otras zonas, como la de las hojas o del mismo suelo (Chittka *et al.* 1994; Buckovac *et al.* 2017; Koski & Ashman 2013; Napoleone *et al.* 2022). De hecho, se ha encontrado que hay una correlación positiva entre la frecuencia de visitas por insectos y la reflectancia UV (Rae & Vamosi 2013; Fornoff *et al.* 2017).

La reflectancia de UV es más común en flores grandes, independientemente de su simetría, y se ha observado que las flores amarillas y violetas muestran una mayor tendencia a reflejar UV que las de otros colores (Primack 1982; Papiorek *et al.* 2016). La reflectancia de UV puede darse en cualquier parte de la flor, sin embargo, suele ser más común en los pétalos, incluso no en todos los pétalos, ya que hay ocasiones donde la mayoría de la reflectancia está acumulada en un solo pétalo o secciones particulares de los pétalos, creando patrones llamados: “guías de néctar”. Por otro lado, los estambres y el estigma suelen ser las zonas con mayor contraste en la luz UV (Primack 1982).

En cactáceas, la reflectancia de UV ha sido poco estudiada. En el complejo *Echinocereus viridiflorus* se detectó reflectancia de luz UV en las flores verde amarillosas y rojas (Leuck & Miller 1982). En *Peniocereus greggii*, las flores blancas tienen muy baja reflectancia de UV (Raguso 2003). En *Opuntia* no hay registros de la reflectancia UV en las flores, sin embargo, se ha observado la existencia de cantidades relativamente grandes de glucósidos de flavonol en las flores (Clark & Parfitt 1980; Clark *et al.* 1980). Los flavonoides se concentran en la superficie en células epidérmicas papilosas, las cuales funcionan para la absorción de luz UV en la superficie de los pétalos de las flores (Brehm & Krell 1975).

VII. Densidad poblacional, distribución espacial y reproducción

Todos los atributos florales y sistemas sexuales mencionados previamente pueden determinar o limitar la distribución y abundancia de los visitantes florales (Dafni 1992). Es importante incluir además parámetros demográficos como la densidad poblacional y distribución espacial, porque pueden, por ejemplo, determinar una posible selección dependiente de frecuencias e influir en los patrones de propagación, dispersión y/o establecimiento de la población, lo que influye a su vez en el movimiento del polen y la dispersión de semillas (Carillo-Ángeles & Mandujano 2011).

Las cactáceas en su mayoría presentan una distribución espacial agregada, lo cual podría ser reflejo de una distribución heterogénea de los recursos en los ambientes donde habitan. Otro posible factor es la asociación de los cactus con plantas nodrizas (Godínez-Álvarez *et al.* 2003). En el género *Opuntia*, se han encontrado patrones de distribución agregados o aleatorios, como es el caso de *Opuntia echios* var. *gigantea* (Hicks & Mauchamp 1999). Algo importante en *Opuntia* con relación a su distribución y densidad poblacional es su propagación clonal, la cual ha sido ampliamente descrita en varias especies del género, entre ellas *O. rastrera* (Mandujano *et al.* 2001), *O. microdasys* (Piña *et al.* 2007), *O. echinos* (Hicks & Mauchamp 1999), entre otra. Esta propagación clonal tiene efectos importantes en la ecología de poblaciones, la estructura genética y los sistemas de apareamiento y de cruce (Mandujano *et al.* 2010). La agregación de plantas del mismo genotipo o de parches con

varios genotipos tendrán respuestas diferenciales en el éxito reproductivo de las plantas (Carillo-Angeles & Mandujano 2011).

VIII. Justificación

Con el presente trabajo se pretende generar información que nos ayude en avanzar en la comprensión del éxito reproductivo de las plantas, en particular en las especies que presentan diferentes morfos florales. Además, busca evaluar las implicaciones ecológicas, evolutivas y genéticas que puedan conllevar el establecimiento de los morfos en una misma población.

Con base en lo mencionado anteriormente, este trabajo se estudió si hay diferencias en el flujo de polen entre los morfos florales amarillo y anaranjado de *Opuntia streptacantha* Lem. y en determinar si estas diferencias inciden en aspectos como la biología floral, la densidad poblacional y la distribución espacial de ambos morfos florales.

Objetivos

Objetivo general

Determinar el efecto del movimiento de polen en la biología reproductiva, la polinización, la densidad poblacional y la distribución espacial de los morfos florales de color de *Opuntia streptacantha*, en una población silvestre en el municipio de Cadereyta de Montes, Querétaro, México.

Objetivos particulares

- Determinar el sistema de cruce de ambos morfos florales, y analizar si hay diferencias entre ellos a partir de polinizaciones controladas.
- Determinar el sistema de apareamiento por medio del índice de entrecruza y la relación polen/óvulo de ambos morfos florales.
- Determinar la proporción y la distancia de movimiento del polen entre y dentro de ambos morfos florales de *O. streptacantha*.
- Evaluar si hay diferencias en las recompensas y atrayentes florales de ambos morfos florales.
- Evaluar la composición de la red de visitantes florales para cada morfo floral.
- Determinar si la mayor frecuencia de visitantes coincide con el pico de apertura floral y de producción de néctar para cada morfo floral y si difieren entre morfos.
- Evaluar si los morfos florales de *O. streptacantha* presenta reflectancia de luz ultravioleta.
- Determinar la paleta de colores que presenta cada morfo floral de *O. streptacantha*
- Estimar la densidad poblacional y su distribución en el espacio para cada morfo floral.

Materiales y Métodos

Sitio de estudio

El presente estudio se llevó a cabo en el área silvestre resguardada por el Jardín Botánico Regional de Cadereyta “Ing. Manuel González de Cosío” (Fig. 1), que tiene un área total de 7.3 ha. Sus coordenadas geográficas son 20°41'15.8"N y 99°48'17.7"O, con una altitud de 2,046 m.s.n.m. El clima es de tipo BS1 kw (w) semi-seco (clasificación de Köppen modificada por García (2004)), templado con lluvias en verano. La temperatura promedio anual oscila entre 12° y 19° C y la precipitación promedio anual es de cerca de 550 mm al año (<http://www.concyteq.edu.mx/JB/inicio.html>). Su tipo de vegetación es matorral xerófilo crasicaule y de acuerdo con las condiciones climáticas existentes en la región, la vegetación se encuentra compuesta por diversas especies entre las que sobresalen las cactáceas, y pequeñas áreas boscosas de pinos y encinos, en lo que corresponde a la Sierra Gorda (INAFED 2017).

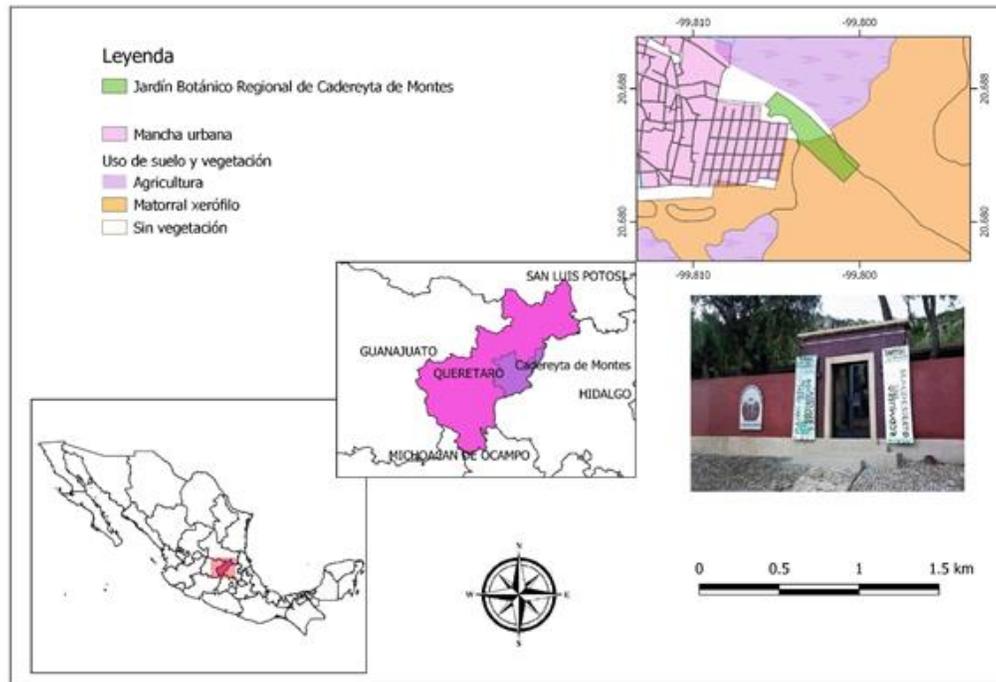


Fig. 1. Ubicación del Jardín Botánico Regional de Cadereyta, Querétaro, México. Elaborado por Cristina Ramírez Gutiérrez y Linda M. Martínez R. con cartas de CONABIO (2008). División Política Estatal. Versión 2. Escala 1:250,000 para el sitio de estudio, y corresponde al mapa del recuadro superior derecho. (Martínez-Ramos 2019).

Especie de estudio

Opuntia streptacantha Lem., generalmente es una planta arborescente o arbustiva, de hasta 4 m de alto: Sus tallos presentan cladodios que llegan a medir de 18-34 cm de largo y 14-16 cm de ancho y son ascendentes, obovados a suborbiculares, glabros, sin podarios (con la base foliar dilatada y expandida), con aréolas de 2-3 mm largo, suelen ser distantes entre sí de 2.3-2.5 cm, cuentan con glóquidas amarillas a rojizas, de 3-5 espinas que son subuladas, rectas, las inferiores adpresas, blancas a grises, negruzcas con la edad, sin vainas. Las flores llegan a medir de 6-7 cm largo; el pericarpelo 2-3 cm largo y 2.1-2.4 cm ancho, suelen ser obovoide; las glóquidas son cortas, rojizas, deciduas; los segmentos del perianto externos suelen medir de 0.5-3.5 cm largo y 0.6-1.5 cm de ancho, son obovados, con el ápice acuminado, margen superior ligeramente denticulado. Presenta dos morfos florales, uno con flores amarillas y otro donde son anaranjadas. Los estambres son más cortos que los segmentos del perianto; cuenta con filamentos verde-amarillentos a rojos; estilo 2-2.2 cm largo, blanco-amarillento, lóbulos del estigma 8-10, ca. 5.0 mm largo, verdes. Los frutos suelen medir de 4-4.2 cm largo, 3.5-5 cm ancho, son globosos a obovoides, rojos, las glóquidas son cortas, tienen pulpa roja. Sus semillas miden 3.8-4.5 mm largo y 2.6 mm ancho (Arias *et al.* 2012, Manzanarez-Villasana 2020).

Las principales diferencias entre los dos morfos florales de la especie (aparte de la coloración de la flor) se encuentran en el tamaño las flores. Las flores amarillas son más grandes (en su altura y diámetro) que las anaranjadas, lo cual se refleja en una diferencia en los segmentos del perianto, en el tamaño los estambres y el estilo y en el tamaño en los frutos, que también son mayores en el morfo amarillo. Sin embargo, las flores anaranjadas presentan una cámara ovárica más larga y ancha. En los cladodios, la única diferencia entre estos morfos florales es el largo del cladodio y el número de líneas de areolas, donde el anaranjado presenta mayores medidas (Manzanarez-Villasana 2020).

Es importante precisar que la descripción original de la especie dada por Lemaire (1839) no menciona el color ni la morfología de la flor, ya que eran desconocidas. No fue hasta Schumann (1899) cuando se describió la morfología y el color de las flores (amarillas) y de los frutos (rojos). Bravo-Hollis & Sánchez-Mejorada (1978) se hace una descripción más detallada de la morfología, indicando que las flores son de color amarillo hasta

anaranjado, mención secundada por publicaciones posteriores, como en la de Anderson (2001), por lo que se podría hipotetizar que el morfo floral amarillo fue descrito primero.

En el sitio de estudio se han reportado que ambos morfos florales son visitados principalmente por abejas, sin embargo, el morfo floral amarillo tuvo una mayor cantidad de visitas a lo largo del día que el anaranjado. El morfo floral anaranjado tiene una floración de febrero a junio y una fructificación de abril a noviembre, mientras que el morfo floral amarillo tiene una floración de marzo a junio y su fructificación de junio a octubre (Manzanarez-Villasana 2020).

Esta especie es endémica de México y se distribuye en los estados de Aguascalientes, Chihuahua, Coahuila, Ciudad de México, Durango, Guanajuato, Hidalgo, Jalisco, Estado de México, Michoacán, Nuevo León, Oaxaca, Puebla, Querétaro, San Luis Potosí, Tamaulipas, Tlaxcala y Zacatecas (Hunt *et al.* 2006), y crece en elevaciones de 1,600 a 2,400 m.s.n.m. (Arias *et al.* 2017, Fig. 2). La distribución de los morfos florales en la especie sugiere que el morfo anaranjado podría tener una distribución más limitada y posiblemente una frecuencia menor en comparación con el morfo amarillo.

Generalmente se encuentra en matorral xerófilo o pastizal; llega a formar comunidades llamadas “nopaleras”, en sustratos riolíticos o aluviales (Arias *et al.* 2012). De acuerdo con Bravo-Hollis & Sánchez-Mejorada (1978) es una especie silvestre de notable manejo en varias regiones del país; es utilizada como alimento tradicional de pobladores del Altiplano Mexicano, ya que se pueden consumir los cladodios o nopales como ensalada y el fruto como alimento de temporada (Torres-Ponce *et al.* 2015). Con los frutos aparte de ser consumidos como fruta fresca, se elaboran diversos productos como queso de tuna, jalea, colonche, melcocha y miel (López-González *et al.* 1997). A la especie se le conoce en las distintas regiones del país como: “Cardón”, “Cenizo”, “Chaveño” o “Nopal cardón” (Arias *et al.* 2012).

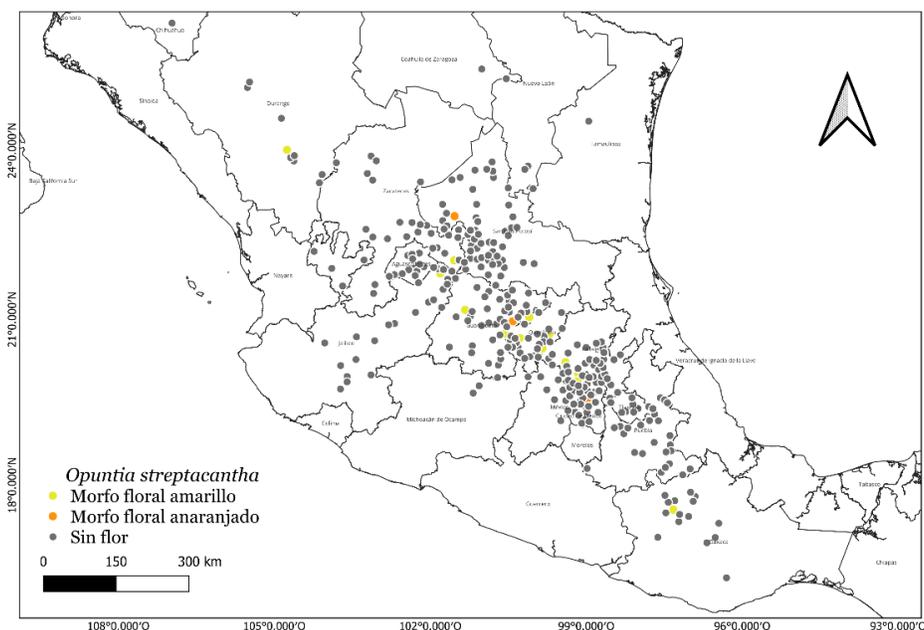


Fig. 2. Distribución de *Opuntia streptacantha* en México. Elaborado con cartas de CONABIO (2008). División Política Estatal. Versión 2. Escala 1:250000. Elaboración propia.

Diseño experimental

I. Sistema de Cruza

Para cada morfo floral de *O. streptacantha* se determinó un sistema de cruce mediante experimentos de polinización controlada (Tabla 1), siguiendo un diseño de bloques ($n = 20$ individuos para el morfo floral amarillo, $n = 25$ para el morfo floral anaranjado). Este tamaño de muestra dependió de la disponibilidad de plantas y flores para completar los tratamientos.

Se escogió aleatoriamente una muestra de flores, las cuales fueron aisladas con bolsas de organza de 10×20 cm, para evitar a los visitantes y polinizadores. Estas flores permanecieron embolsadas previo y posterior a su manipulación experimental y hasta la formación de sus frutos. En el experimento se calculó la proporción de frutos formados a partir del número de flores sometidas a cada uno de los tratamientos (*fruit set*). De igual forma se contabilizó el número de semillas presentes en cada uno de los frutos y el número de óvulos que se convirtieron en semillas (*seed set*) (Burd 1994; Galicia-Pérez 2013).

Tabla 1. Descripción de los experimentos de polinización controlada en cada uno de los morfos florales de *Opuntia streptacantha* para la determinación del sistema de cruce. n = número de individuos por morfo floral. Al tratarse de un diseño en bloques, se muestreo una flor por individuo en cada tratamiento.

Tratamiento	Características	Muestra (n) de individuos
Control (CN)	La polinización ocurrió bajo condiciones naturales. No hubo ningún tipo de manipulación.	Amarillo: 20 Anaranjado: 25
Cruza artificial intra-morfo (EN intra)	El estigma se aisló previamente a la dehiscencia de las anteras. Se realizaron polinizaciones con polen de cinco plantas donadoras del mismo morfo floral	Amarillo: 20 Anaranjado: 25
Cruza artificial inter-morfo (EN inter)	El estigma se aisló previamente a la dehiscencia de las anteras. Se realizaron polinizaciones con polen de cinco plantas donadoras del morfo floral opuesto	Amarillo: 20 Anaranjado: 25
Autopolinización artificial (AM)	Se aislaron las flores y se auto polinizaron manualmente	Amarillo: 20 Anaranjado: 25
Autopolinización natural (AN)	Se aislaron las flores sin manipulación	Amarillo: 20 Anaranjado: 25
Geitonogamia (GT)	Se tomó polen de diferentes flores de un individuo y se cruzaron entre ellas	Amarillo: 20 Anaranjado: 25
Apomixis 1 (APO 1)	Se retiraron los estambres previos a la receptividad del estigma.	Amarillo: 20 Anaranjado: 25
Apomixis 2 (APO 2)	Se retiró el estigma previo a la dehiscencia de las anteras	Amarillo: 20 Anaranjado: 25
Polen suplementario 1 (Sup 1)	Se polinizaron las plantas con una carga de polen suplementario de plantas donadoras del mismo morfo	Amarillo: 20 Anaranjado: 25
Polen suplementario 2 (Sup 2)	Se polinizaron las plantas con una carga de polen suplementario de plantas donadoras del morfo opuesto	Amarillo: 20 Anaranjado: 25

Los datos se evaluaron usando como factor al morfo floral y al tipo de cruce y como variables de respuesta el éxito reproductivo (proporción de frutos producidos y número de semillas; Burd 1994; Reyes-Tovar 2019). Se utilizó un modelo lineal generalizado (*glm*) con distribución *binomial* (distribución para evaluar probabilidades de “éxito” (proporciones); Bolker 2008) para el *fruit set* y número de óvulos que se convirtieron en semillas, y un *glm* con distribución *poisson* (distribución para evaluar conteos; Bolker 2008) para el número de semillas presentes en cada uno de los frutos, todo en el programa R versión 4.2.2 (R Core Team 2022) y el paquete *emmeans* (Lenth 2023).

II. Sistema de apareamiento

Se determinó a partir del índice de entrecruza (OCI) de Cruden (1977). Se midió el diámetro máximo de la apertura del perianto en campo ($n = 25$ flores para cada morfo) (Mandujano *et al.* 1996), se categorizó el tamaño de la flor y se le asignó un puntaje según su apertura máxima, donde: 0 = flores de 1 mm de diámetro, 1= 1.1 a 2 mm de diámetro, 2= 2.1 a 6 mm de diámetro y 3 = mayor a 6 mm, como se define en el Tabla 2.

También se midió la longitud del estambre más largo y la longitud del estilo hasta el estigma, para determinar la existencia de hercogamia (separación espacial entre la antera más alta y el estigma) (Tabla 2), esto mediante una *prueba de t* de variables independientes (Zar, 1999) en el programa R versión 4.2.2 y el paquete *stats* (R Core Team 2022).

Para la dicogamia, se observó el comportamiento floral; si maduraban los órganos sexuales al mismo tiempo se consideraba como homógamas y si la maduración se daba por intervalos distintos, se consideraba dicógama (Tabla 2).

Se calculó la relación polen-óvulo (P/O), contando el número total de óvulos presentes en cada flor ($n = 25$ flores para cada morfo) y se recolectaron anteras previo a su dehiscencia para el conteo de granos de polen por flor ($n = 25$ anteras para cada morfo). Las anteras fueron guardadas en tubos Eppendorf de 1.5 ml con alcohol etílico al 96% y homogenizadas con un agitador vórtex. Se tomaron alícuotas de 100 μ L para contar los granos de polen, usando un microscopio estereoscópico hasta contabilizar todo el volumen. Con los datos obtenidos se calculó el número de granos de polen presentes por flor (Kearns

& Inouye 1993). La relación P/O se calculó como el cociente del número de granos de polen por flor entre el total de óvulos presentes en la misma (Cruden 1977; Kearns & Inouye 1993) (Tabla 3). La suma de las puntuaciones para cada morfo floral indican el valor otorgado para el OCI.

Tabla 2: Características florales evaluadas y valores para la estimación del índice de entrecruza (OCI, Cruden, 1977).

Apertura del perianto (mm)	Valor	Dicogamia	Valor	Hercogamia	Valor
<1	0	Homogamia	0	Ausente	0
1-2	1	Protoginia	1	Presente	1
2-6	2	Protandria	1		
>6	3				

Tabla 3. Relación polen-óvulo para la determinación del sistema de apareamiento (Cruden, 1977).

P/O	OIC	Sistema de Apareamiento
4.7:1	0	Cleistogamia
27.7:1	1	Autogamia estricta
168.5:1	2	Autogamia facultativa
796.6:1	3	Xenogamia facultativa
5859.2:1	4	Xenogamia estricta

También se evaluó la viabilidad del polen. Se tomó una antera de 25 flores de cada morfo floral de diferentes individuos seleccionados aleatoriamente. La viabilidad del polen se determinó con la prueba de tinción de Alexander (López *et al.* 2005). La muestra de polen fue colocada en un portaobjetos, a esta se le aplicó una gota del reactivo de Alexander. Posteriormente se cubrió y se pasó a la flama de una lámpara de etanol durante tres segundos, se dejó reposar durante un minuto, y se observó al microscopio óptico con aumentos de 10x y 40x. Cuando el citoplasma del polen teñido era morado o fucsia se consideraba como polen viable, cuando no se encontraba teñido o tenía un color verde o azul únicamente en la cubierta del polen se tomaba como polen no viable (Fig. 3). Se contabilizó el número de granos de

polen viable y no viable en cada antera y se comparó para evaluar si hay diferencias entre estos, esto mediante una *prueba de t* de variables independientes (Zar 1999) en el programa R versión 4.2.2 y el paquete *stats* (R Core Team 2022).

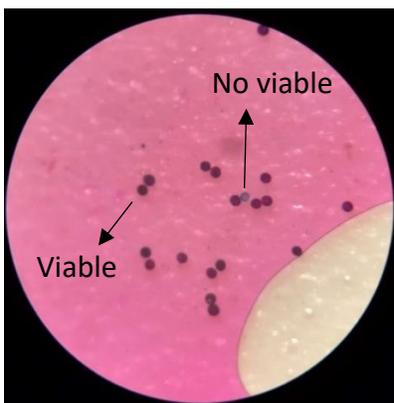


Fig. 3. Prueba de tinción de Alexander a los granos de polen de *Opuntia streptacantha* donde se muestra el polen viable y no viable. Foto: Gerardo Manzanarez-Villasana.

III. Movimiento de polen

La proporción y la distancia de transferencia del polen (medida en m) entre y dentro de morfos florales fue cuantificada, por lo que se seleccionaron plantas focales para cada morfo floral ($n= 10$ plantas focales de cada morfo), y se marcaron las flores abiertas con polvos fluorescentes (Marca: Arco colores[®]) asignados aleatoriamente y cambiando el color del polvo fluorescente (azul, rosa y verde) entre días para realizar el experimento (10 días por morfo). En ningún caso se realizó la emasculación de las plantas focales previo a colocar el polvo fluorescente. La distancia de dispersión se analizó con la ecuación de la recta para la distancia entre dos puntos (Lehmann 1993).

Se observaron las flores que abrieron de cada morfo floral durante el día para detectar la ausencia o presencia de polen sobre el estigma y se registró la cantidad del tipo de polvo fluorescente mediante estimaciones visuales, para asignarlo a una de cuatro categorías: nada (sin presencia del polvo fluorescente), poco (menos del 25% del estigma con polvo fluorescente), regular (entre el 25% y 80% del estigma con polvo fluorescente) y mucho (más del 80% del estigma con polvo fluorescente), recolectando los estigmas de las flores para ser

observados bajo luz UV (de 395 nm). El análisis de la cantidad de polen en el estigma se realizó mediante una prueba de χ^2 (Agresti 2007), en el programa R versión 4.2.2 y el paquete *stats* (R Core Team 2022).

Se realizaron análisis de estadística circular para determinar la dirección del movimiento del polen para cada morfo floral. Para identificar la dirección del movimiento del polen, se realizó el mapeo de las plantas focales y destino. En cada mapa, se extrajeron las coordenadas polares de cada planta destino. También se calculó la prueba de uniformidad de *Rayleigh* (Zar 1999; Mendoza 2020) con el programa R versión 4.2.2 (R Core Team 2022), con el paquete *circular* (Agostinelli & Lund 2022). Esta prueba permite identificar si la distribución de las muestras es uniforme o tiende a algún patrón.

IV. Producción de néctar

Se embolsaron 30 flores de diferentes individuos tomados aleatoriamente por cada morfo floral. Las flores fueron embolsadas entre las 9:00 h y las 18:00 h, limitando cualquier manipulación exclusivamente a los horarios de extracción. Se extrajo el néctar con tubos capilares de 5 μ l a 20 μ l de la marca Blaubrand® intraMark. El proceso de extracción se realizó cada cuatro horas desde el momento de la apertura hasta la senescencia floral (a las 10:00 h, 14:00 h y 18:00 h), para poder determinar el total de néctar producido en la vida de la flor (Kearns & Inouye 1993). La cantidad de néctar extraída se midió con un vernier digital, utilizando la siguiente ecuación:

$$\text{Volumen de néctar } (\mu\text{l}) = \frac{\text{Volumen del capilar } (\mu\text{l}) \times \text{columna de néctar en el capilar } (\text{mm})}{\text{Medida total del capilar } (\text{mm})}$$

Se realizó una *prueba de t* de variables independientes, para determinar si hay una diferencia en la producción de néctar entre morfos florales y una prueba de *Kruskal-Wallis* con una prueba *post hoc* de prueba de suma de rangos de *Wilcoxon* por pares para determinar si hay diferencias en la producción de néctar entre horarios (Zar, 1999). Ambos análisis en el programa R versión 4.2.2 y el paquete *stats* (R Core Team 2022). No se evaluó la concentración de azúcares en el néctar.

V. Longevidad y apertura máxima de las flores

Se registró la hora en la que la flor abre inicialmente y el día en el que cerraba definitivamente ($n= 30$ flores por morfo floral de individuos diferentes tomados aleatoriamente). Se midió el diámetro máximo en su vista superior de los segmentos del perianto con un vernier digital de ambos morfos florales cada hora desde la apertura hasta la senescencia de las flores. Se realizó una *prueba de t* de dos muestras de *Welch*, para determinar si hay una diferencia en la apertura del perianto entre morfos florales (Zar 1999), en el programa R versión 4.2.2 y el paquete *stats* (R Core Team 2022).

VI. Visitantes florales

En el mes de abril del 2023 se realizaron observaciones de 15 min por cada h desde las 10:00 h hasta las 18:00 h en 33 flores amarillas y 37 flores anaranjadas. Se registró el número de visitantes que llegaban a las flores y su comportamiento fue descrito y evaluado. Los comportamientos registrados fueron: toca el estigma, toma néctar y/o polen, se posa en los segmentos del perianto y se posa en las anteras sin recolectar polen. Los visitantes que no pudieron ser identificados en campo fueron fotografiados o colectados para su posterior identificación (la identificación se llevó a cabo por la plataforma Naturalista y los ejemplares colectados por el M. en B. Esteban O. Munguía). Para comparar la frecuencia de visitas entre morfos florales y horarios se realizó un *glm* con distribución *poisson* en el programa R versión 4.2.2 (R Core Team 2022) y el paquete *emmeans* (Lenth 2023).

Una red de interacción se construyó entre los distintos grupos o niveles tróficos considerados, los dos morfos florales y los visitantes florales, con el paquete *Bipartite* (Dormann *et al.* 2008, 2009) en el programa R versión 4.2.2 (R Core Team 2022); se estimaron diversos índices en la red (Dehling 2018). A nivel red se evaluó: 1) La conectividad (*connectance*), la cual describe la proporción de enlaces en la red, es decir, el número de interacciones biológicamente posibles (Jordano 1987, 2016). 2) El anidamiento (*nestedness*), para evaluar si la red se comporta como generalista o como especialista; donde valores bajos en el anidamiento hacen referencia a que la red presenta una alta generalidad, mientras, los valores altos hacen referencia a una alta especialidad (Dehling 2018). 3) La superposición de

nicho (*niche overlap*), para determinar los patrones de interacción, este índice toma valores de 0 a 1, donde cercano a 0 indica un partición del nicho elevada y cercano al 1 un superposición del nicho total (Blüthgen 2010). 4) El nivel de especialización (H_2) que indica el grado de especialización en la red; toma valores de 0 a 1, donde los valores cercanos al 0 indican una red generalista, y valores cercanos a 1 una red especialista (Dormann *et al.* 2008, 2009). 5) La modularidad (*modularity*) para determinar si hay la presencia de un subconjunto de especies en la red que tienen una mayor interacción entre sí en comparación a las demás especies en la red (Olesen *et al.* 2007; Thébault 2013); esta se calculó a través de la Q de Newman (Newman & Girvan 2004; Newman 2006), la cual toma valores de -1 a 1, donde los valores cercanos a 1 indica una modularidad fuerte en la red, los valores cercanos al -1 indica que no hay modularidad, y valores igual al 0 indican que la división de la modularidad no es mejor que el azar.

En los niveles tróficos o grupos incluidos (i.e., morfos florales [renglones de la matriz de interacción, *LL: lower trophic level*] y visitantes florales [columnas de la matriz de interacción, *HL: higher trophic level species*]) se evaluaron los índices de: 1) Dependencia (*dependence*), para determinar el número de interacciones entre grupos *LL* con relación al número interacciones totales. La dependencia toma valores de 0 a 1, donde valores más cercanos a 0 indican un menor número de interacciones, mientras que valores más cercanos a 1 corresponden a un mayor número de interacciones (Jordano 1987; Bascompte *et al.* 2006). 2) Fuerza de la especie (*species strength*), para poder identificar la importancia de cada especie para la red (grupos *HL* y *LL*), a través del número de interacciones de la especie (Bascompte *et al.* 2006; Poisot *et al.* 2012). 3) Índice de servicio de polinización (PSI), para determinar la importancia de cada visitante como potencial polinizador (grupo *HL*). PSI toma valores de 0 a 1, donde mientras más cercano a cero es un visitante irrelevante para la polinización y cercano a uno corresponde a un visitante relevante para la polinización (Dormann 2011; Aguado *et al.* 2019).

De igual manera se evaluaron las métricas de “núcleo” y “periferia” de la red en el grupo *HL*, cuando el valor resulta mayor a 1, indica especies con un número elevado de interacciones en comparación a otras especies de su mismo nivel, constituyen un núcleo generalista. Si el valor obtenido resulta menor a 1, indica especies con un número inferior de

interacciones en comparación a otras especies de su mismo nivel, constituyendo una periferia especialista (Dáttilo *et al.* 2013).

VII. Fluorescencia visible inducida por ultravioleta (FVU)

Se colectaron 25 flores embolsadas de diferentes individuos tomados aleatoriamente de cada morfo floral en su apertura máxima, sin intervención de visitantes florales, y se colocaron en una base dentro de una caja de madera en completa oscuridad. Con una cámara réflex digital Canon Rebel SL3, con un lente ef-s 35mm f2.8 macro is stm y luz UV (395 nm), se fotografiaron cada una de las flores. Las fotografías fueron almacenadas en formato JPEG en la máxima calidad, para observar la energía reflejada en la banda ultravioleta de cada morfo floral. También se fotografiaron dos controles; uno blanco y uno negro, para analizar el porcentaje de reflectancia; los controles fueron carbón negro para el control negro, y yeso para el control blanco de acuerdo con el método propuesto por Napoleone *et al.* (2022).

El análisis de las imágenes se llevó a cabo en el programa ImageJ versión 1.52 (Rueden *et al.* 2017), donde se utilizó la herramienta de selección de polígonos para resaltar la región de interés de la flor (ROI), considerando las zonas con luminancia en estigma, anteras, zona entre anteras y parte interior de los segmentos del perianto (parte adaxial basal de los tépalos internos), parte interior de los segmentos del perianto (parte adaxial media de los tépalos internos) y parte exterior de los segmentos del perianto (parte adaxial apical de los tépalos internos) (Fig. 4), también se realizó este procedimiento con los controles (Napoleone *et al.* 2022).

Para calcular la reflectancia de UV de cada zona de la flor, se siguió el método de Napoleone *et al.* (2022), comparando el nivel de reflectancia de cada flor con los controles blancos y negros.

$$\text{Reflectancia ROI} = \frac{f - [bp - c * b\%]}{c}$$

Donde c es:

$$c = \frac{wp - bp}{w\% - b\%}$$

w_p es la media de píxeles para el control blanco, $w\%$ es el porcentaje de reflectancia promedio del control blanco (95%), b_p es la media de píxeles para el control negro, $b\%$ es el porcentaje de reflectancia promedio del control negro (4%) y f es valor ROI máximo del píxel de la zona de interés (Napoleone *et al.* 2022).

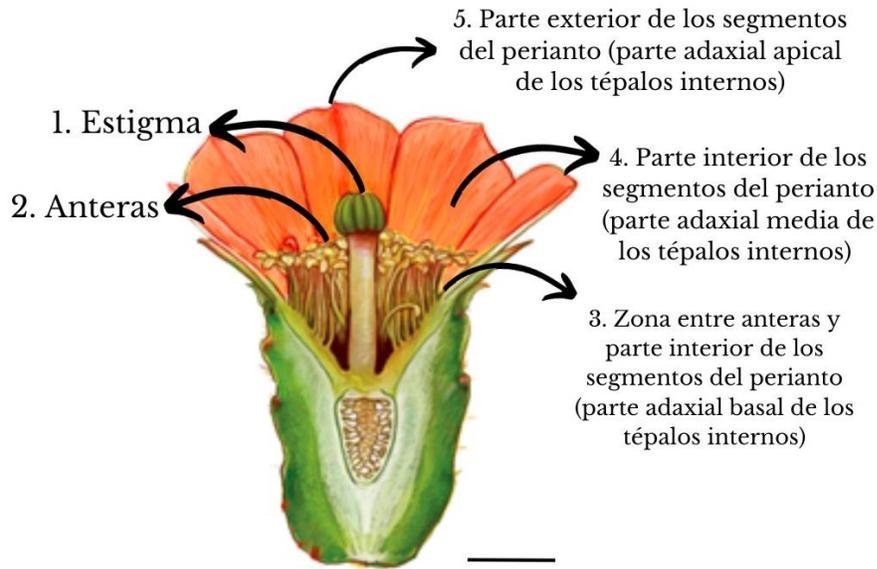


Fig. 4. Regiones de interés de la flor consideradas para medir las zonas con luminancia y los colores en las flores (1 a 5). Ilustración de elaboración propia, adaptada de comen tuna, red nopal y CONABIO (2009). Barra de escala = 5 cm.

VIII. Colores en las flores

Con las flores usadas para FUV, se tomaron fotos bajo luz natural de cada morfo floral. Con el programa Adobe Color, se obtuvo la escala de color de cada fase en ambos morfos florales. Se tomaron cinco puntos principales para obtener la paleta de colores: 1) estigma, 2) anteras, 3) zona entre anteras y parte interior de los segmentos del perianto (parte adaxial basal de los tépalos internos), 4) parte interior de los segmentos del perianto (parte adaxial media de los tépalos internos) y 5) parte exterior de los segmentos del perianto (parte adaxial apical de los tépalos internos) (Fig. 4).

Con los tonos obtenidos en cada zona, se obtuvo una paleta de tonos para cada morfo floral, y se calculó el número de tonos presentes. También se calculó si presentaban

diferencias entre morfos florales, y si había diferencia en los tonos presentes por estructura en cada morfo floral. El análisis para los tonos se realizó mediante tablas de contingencia (Crawley 2015), en el programa R versión 4.2.2 (R Core Team 2022) y el paquete *dplyr* (Wickham *et al.* 2023).

IX. Densidad poblacional y distribución espacial

La ubicación de los individuos reproductivos de ambos morfos florales de *O. streptacantha* se mapeó en el área silvestre del Jardín Botánico Regional de Cadereyta “Ing. Manuel González de Cosío”, lo que corresponde a un área total de 7.3 ha.

Para la densidad poblacional, se calculó el área silvestre del Jardín, y se estimó la densidad de los individuos por unidad de área. $D=N/A$, donde N es el número total de individuos y A es la superficie que éstos ocupan (Krebs 2014). La densidad fue calculada para cada morfo floral y para la especie.

El patrón de distribución de los morfos se determinó con base al Índice de Hopkins (Hopkins, 1954), siguiendo la siguiente fórmula:

$$h = \sum (Xi^2) / \sum (ri^2)$$

Donde Xi es la distancia de un punto aleatorio i al individuo más cercano, y ri es la distancia de un organismo aleatorio i al vecino más cercano (García-Naranjo & Mandujano 2010; Krebs 2014)

Con el índice de Hopkins se analizó la forma en la que los individuos se encuentran distribuidos en el espacio (h), presentando un patrón de distribución agregada, si el índice es cercano a 1; un patrón de distribución uniforme si es cercano al 0; o un patrón de distribución aleatorio si es cercano al 0.5 (García-Naranjo & Mandujano 2010; Krebs 2014). Se calculó la proporción de morfos florales para conocer si esta relación es 1:1 con la función *prop.test* del programa base R versión 4.2.2 (R Core Team 2022).

Resultados

I. Sistema de cruza

El ajuste del modelo lineal generalizado (*glm*) para comparar si hay diferencias en la cantidad de frutos formados (*fruit set*) entre los tratamientos y los morfos florales indica que hay diferencias significativas en los tratamientos de polinización ($\chi^2 = 14.0638, p = 0.0501$), pero no entre morfos florales ($\chi^2 = 2.5873, p = 0.1077$). El grupo del control (polinización bajo condiciones naturales) y polen suplementario 1 (polinización con una carga de polen suplementaria de plantas donadoras del mismo morfo) fueron significativamente diferentes al grupo de geitonogamia (polinización entre diferentes flores de un individuo) y autopolinización natural (flores alguna manipulación) ($p = 0.0002$). Las demás combinaciones de tratamientos no presentaron diferencias (Tabla 4).

En el morfo amarillo, el tratamiento que presentó el mayor *fruit set* fue el polen suplementario 1 (90% de los frutos formados), seguido de control y el polen suplementario 2 (polinización con una carga de polen suplementaria de plantas donadoras del morfo opuesto; 80% de los frutos formados para ambos casos). En el morfo anaranjado el tratamiento con el mayor porcentaje en *fruit set* fue el control (80% de los frutos formados), seguido de autopolinización manual (se autopolinizaron manualmente) y cruza artificial intermorfo (polinización con polen del morfo floral opuesto), 64% de los frutos formados para ambos casos. (Tabla 4).

En ambos morfos florales los tratamientos apomixis 1 (se retiraron los estambres previos a la receptividad del estigma) y 2 (se retiró el estigma previo a la dehiscencia de las anteras) fueron los que tuvieron menor porcentaje de frutos formados (morfo amarillo: Apomixis 1: 25%, Apomixis 2: 5%; morfo anaranjado: Apomixis 1: 32%, Apomixis 2: 24%). Estos pocos frutos pudieron ser producto de una contaminación al momento de realizar el tratamiento, cuestión que se aborda en la Discusión, siendo los tratamientos con el mayor porcentaje de frutos abortados para ambos morfos florales.

El ajuste de los *glm* para comparar si hay diferencias en la proporción de semillas/óvulos y en la cantidad de semillas producidas (*seed set*) entre los tratamientos y los

morfos florales, no mostró diferencias entre los tratamientos ($\chi^2 = 0.045, p = 0.831$) y entre morfos florales ($\chi^2 = 0.412, p = 0.999$) para el *seed set* en la proporción de semillas/óvulos.

En el *seed set* para la cantidad de semillas producidas se encontraron diferencias significativas en la formación de semillas entre los tratamientos ($\chi^2 = 221.59, p = 2.2e^{-16}$) y en los morfos florales ($\chi^2 = 325.65, p = 2.2e^{-16}$). Para el morfo amarillo se identificaron cinco grupos (Tabla 5) con diferencias significativas. En el morfo anaranjado también se identificaron cinco grupos (Tabla 6). Se encontraron tratamientos entre los morfos en los cuales no se observaron diferencias significativas (Tabla 7). En los casos en los que se detectaron diferencias significativas, se observó una mayor formación de semillas en el morfo anaranjado.

Los tratamientos que mostraron la mayor proporción de semillas/óvulos y cantidad de semillas producidas (*seed set*) en el morfo floral amarillo fueron, en orden, el polen suplementario 1, seguido del control y polen suplementario 2. Para el morfo floral anaranjado, los tratamientos con un mayor proporción de semillas/óvulos fueron, en orden, el polen suplementario 2, seguido de la autopolinización natural y control. En cuanto a la cantidad de semillas producidas, los tratamientos con un mayor proporción fueron, en orden, el polen suplementario 2, seguido del control y el polen suplementario 1 (Tabla 4).

Que existan semillas en ambos morfos en los tratamientos de apomixis 1 y 2, sugiere que hubo una contaminación al momento de realizar dichos tratamientos, por lo que, en los análisis de *seed set*, se omitieron los tratamientos de apomixis 1 y 2.

Tabla 4. *Fruit set* (%) y *seed set* (proporción y cantidad de semillas formadas) en *Opuntia streptacantha*. Tratamientos: AN = Autopolinización natural, AM = Autopolinización artificial, CN = Control, EN Intra = Cruza artificial intra-morfo, EN Inter = Cruza artificial inter-morfo, GT = Geitonogamia, Sup 1 = Polen suplementario 1 (carga de polen suplementaria de plantas donadoras del mismo morfo), Sup 2 = Polen suplementario 2 (carga de polen suplementaria de plantas donadoras del morfo opuesto). Los grupos con distinta letra corresponden a diferencias entre tratamientos, no hubo diferencias entre morfos florales, ni en la interacción. Datos colectados en la temporada reproductiva de junio-julio de 2022.

Tratamiento	Morfo	<i>Fruit set</i> (%)	Grupos que difieren en el <i>fruit set</i>	Proporción de semillas/óvulos (<i>seed set</i>)	Número de semillas (<i>seed set</i>) media ± error estándar
AN	Amarillo	55	B	0.38	40 ± 16.15
	Anaranjado	56		0.55	76 ± 4.27
AM	Amarillo	65	A, B	0.44	47 ± 14.46
	Anaranjado	64		0.49	72 ± 6.86
EN Intra	Amarillo	75	A, B	0.30	32 ± 9.12
	Anaranjado	60		0.43	62 ± 9.83
EN Inter	Amarillo	60	A, B	0.37	40 ± 11.53
	Anaranjado	64		0.50	73 ± 8.44
GT	Amarillo	65	B	0.34	36 ± 10.71
	Anaranjado	48		0.50	73 ± 7.20
CN	Amarillo	80	A	0.60	66 ± 7.96
	Anaranjado	80		0.55	80 ± 5.57
Sup 1	Amarillo	90	A	0.69	73 ± 9.23
	Anaranjado	72		0.49	79. ± 9.13
Sup 2	Amarillo	80	A, B	0.57	61 ± 11.99
	Anaranjado	56		0.60	87 ± 11.05

Tabla 5. Cantidad de semillas producidas (*seed set*) entre los tratamientos en el morfo floral amarillo en *Opuntia streptacantha*. Letras iguales: no hay diferencias entre tratamientos. Letras diferentes: hay diferencias entre tratamientos. Tratamientos: AN = Autopolinización natural, AM = Autopolinización artificial, CN = Control, EN Intra = Cruza artificial intra-morfo, EN Inter = Cruza artificial inter-morfo, GT = Geitonogamia, Sup 1 = Polen suplementario 1 (carga de polen suplementaria de plantas donadoras del mismo morfo), Sup 2 = Polen suplementario 2 (carga de polen suplementaria de plantas donadoras del morfo opuesto). \pm Error estándar. Datos colectados en la temporada reproductiva de junio-julio de 2022.

Tratamiento	Media	\pm	Grupos que difieren
AM	47	14.46	C
AN	40	16.15	C, D
CN	66	7.96	B
EN Inter	40	11.53	C, D
EN Intra	32	9.12	E
GT	36	10.71	D, E
Sup 1	74	9.23	A
Sup 2	61	11.99	B

Tabla 6. Cantidad de semillas producidas (*seed set*) entre los tratamientos en el morfo floral anaranjado en *Opuntia streptacantha*. Letras iguales: no hay diferencias entre tratamientos. Letras diferentes: hay diferencias entre tratamientos. Tratamientos: AN = Autopolinización natural, AM = Autopolinización artificial, CN = Control, EN Intra = Cruza artificial intra-morfo, EN Inter = Cruza artificial inter-morfo, GT = Geitonogamia, Sup 1 = Polen suplementario 1 (carga de polen suplementaria de plantas donadoras del mismo morfo), Sup 2 = Polen suplementario 2 (carga de polen suplementaria de plantas donadoras del morfo opuesto). \pm Error estándar. Datos colectados en la temporada reproductiva de junio-julio de 2022.

Tratamiento	Media	\pm	Grupos que difieren
AM	72	6.86	D
AN	77	4.27	B, C
CN	80	5.57	B
EN Inter	73	8.44	C, D
EN Intra	62	9.83	E
GT	73	7.20	C, D
Sup 1	79	9.13	B
Sup 2	88	11.06	A

Tabla 7. Similitudes en la cantidad de semillas producidas (*seed set*) de los tratamientos entre los morfos florales en *Opuntia streptacantha*. Tratamientos: AN = Autopolinización natural, AM = Autopolinización artificial, CN = Control, EN Intra = Cruza artificial intra-morfo, EN Inter = Cruza artificial inter-morfo, GT = Geitonogamia, Sup 1 = Polen suplementario 1 (carga de polen suplementaria de plantas donadoras del mismo morfo), Sup 2 = Polen suplementario 2 (carga de polen suplementaria de plantas donadoras del morfo opuesto). Datos colectados en la temporada reproductiva de junio-julio de 2022.

Morfo	Tratamiento	Morfo	Tratamiento	<i>p</i>
Amarillo	AM	Anaranjado	EN Intra	0.0758
	AN		EN Intra	0.1266
	CN		EN Intra	1.0000
	CN		GT	0.5000
	Sup 1		EN Inter	0.2581
	Sup 1		EN Intra	0.9960
	Sup 1		GT	0.9960
	Sup 2		EN Inter	0.1858
	Sup 2		EN Intra	0.9993
	Sup 2		GT	0.9838

II. Sistema de apareamiento

Opuntia streptacantha y sus morfos florales presentan un sistema de apareamiento de xenogamia estricta (Tabla 8). La viabilidad del polen no es significativamente diferente entre los morfos (*prueba de t* para viable: $t = -0.3049$, $p = 0.7617$; no viable: $t = 1.3219$, $p = 0.1922$). De igual forma, no resultó significativa la diferencia de número de granos de polen entre los morfos florales ($t = -1.8134$, $p = 0.0760$).

Tabla 8. Características florales evaluadas para la estimación del índice de entrecruza (OCI, Cruden, 1977). $n = 25$ flores para cada morfo. Datos colectados en la temporada reproductiva de abril-mayo de 2022.

Variable	<i>Opuntia streptacantha</i>	Morfo floral amarillo	Morfo floral anaranjado
Índice de entrecruza (OIC)	4 = xenogamia estricta	4 = xenogamia estricta	4 = xenogamia estricta
Apertura media en cm \pm error estándar	41.6 \pm 1.4	43.8 \pm 2.4	39.5 \pm 1.3
Dicogamia	Ausente	Ausente	Ausente
Hercogamia	Presente ($t = -13.168$, $p = 2.2e-16$)	Presente ($t = -10.987$, $p = 1.062e-14$)	Presente ($t = -16.119$, $p = 2.2e-16$)
Relación polen/ovulo (P/O) media \pm error estándar	583.9 (granos de polen: 73966.96 \pm 4656.5, óvulos: 126.68 \pm 6.88)	612.2 (granos de polen: 65376.17 \pm 5398.45, óvulos: 106.79 \pm 9.04)	564.6 (granos de polen: 81896.92 \pm 7193.03, óvulos: 145.03 \pm 9.01)
Viabilidad de polen	93% viable	93% viable	94% viable

III. Movimiento de polen

El flujo de polen ocurre intra- e intermorfos florales. Cuando el morfo floral amarillo fue la planta focal, hubo una distancia máxima de 35.39 m a una flor destino amarilla en la que se detectó el polvo fluorescente. La distancia mínima a la que se movió el polvo fluorescente de focal amarilla a flor destino amarilla fue de 0 m, sugiriendo que de forma natural hay geitonogamia. Para el caso de una flor focal amarilla a una flor destino anaranjada la distancia máxima en la que se encontró el polvo fluorescente fue de 24.43 m, y una distancia mínima de dispersión de 4.42 m (Tabla 9 y Fig. 7).

Siendo la planta focal flores del morfo anaranjado, se encontró que hubo una distancia máxima de 36.08 m cuando el polvo fluorescente se movió a una flor destino anaranjada, la distancia mínima de focal anaranjada a flor destino anaranjada fue de 0 m, sugiriendo que otra vez geitonogamia de forma natural. Para el caso de una focal anaranjada a una flor destino amarilla la distancia máxima en la que se detectó el polvo fluorescente fue de 39.70 m y una distancia mínima de 3.11 m (Tabla 9).

Tabla 9. Distancias de dispersión de polvos fluorescentes usados como análogos del polen para los dos morfos florales en *Opuntia streptacantha* ± Error estándar. Datos colectados en la temporada reproductiva de abril-mayo de 2022.

Morfo focal	Morfo destino	Distancia media (m)	±	Distancia mínima (m)	Distancia máxima (m)	n
Amarillo	Amarillo	15	2.24	0	35.49	17
Amarillo	Anaranjado	13	1.82	4.42	24.43	15
Anaranjado	Amarillo	16	2.86	3.11	38.70	15
Anaranjado	Anaranjado	12	3.62	0	36.08	16

Las comparaciones entre las categorías de movimiento de polen (i.e.: nada, poco, regular y mucho dependiendo de la cantidad de polvo fluorescente en el estigma) para determinar si se encontraban la misma frecuencia ambos morfos florales como donadores de polen mostraron que no había diferencias en ninguno de los morfos (morfo floral amarillo como donador de polen $\chi^2 = 7.5761$, $p = 0.05564$; morfo floral anaranjado como donador de polen $\chi^2 = 5.7763$, $p = 0.123$), es decir, que todas las categorías presentan la misma frecuencia para el movimiento de polen.

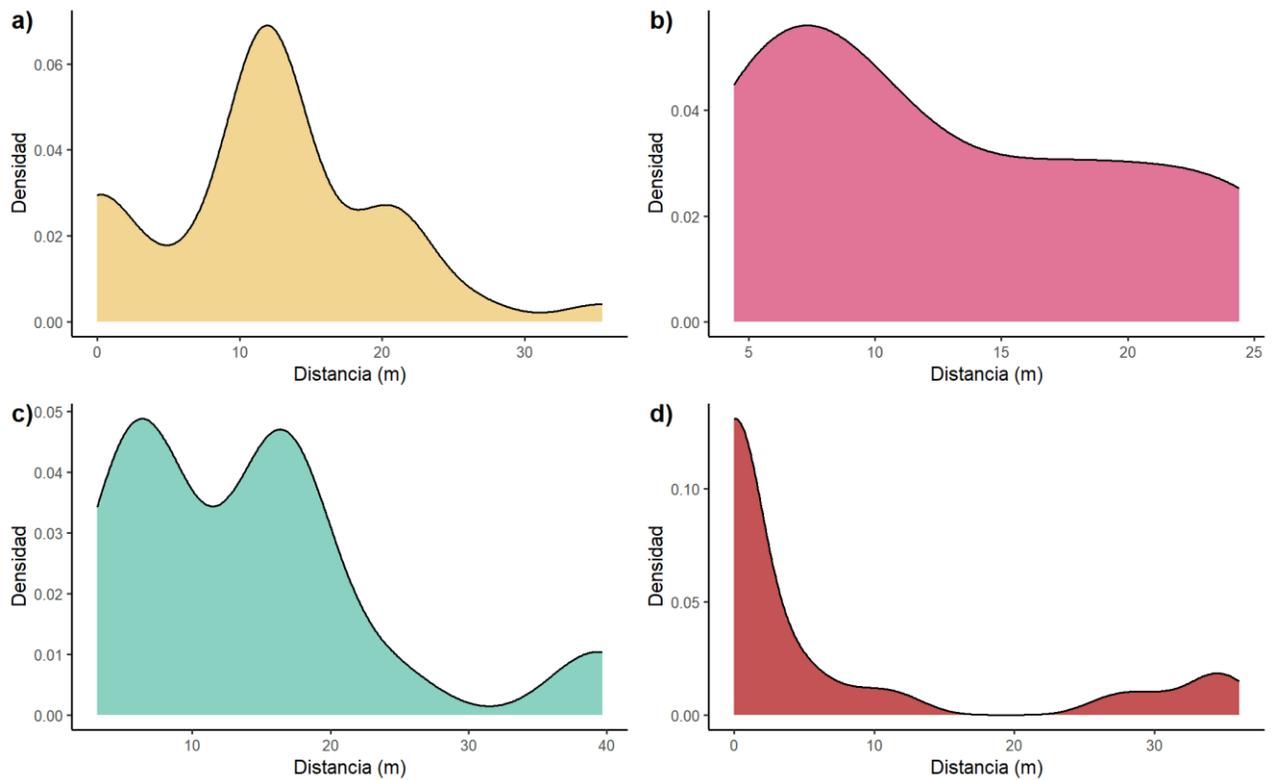


Fig. 7. Distancias de dispersión de polvos fluorescentes usados como análogos del polen para los dos morfos florales en *O. streptacantha* a) Tratamiento morfo focal amarillo a morfo destino amarillo. b) Tratamiento morfo focal amarillo a morfo destino anaranjado. c) Tratamiento morfo focal anaranjado a morfo destino amarillo. d) Tratamiento morfo focal anaranjado a morfo destino anaranjado. Datos colectados en la temporada reproductiva de abril-mayo de 2022.

El movimiento del análogo de polen usando como fuente flores del morfo floral amarillo fue predominantemente del sur este (estadística circular prueba de *Rayleigh* $r=0.5772$, $p = 4.1571e^{-08}$; Zar, 1999; Mendoza, 2020). Mientras que para las flores del morfo floral anaranjado fue predominantemente hacia el este (estadística circular prueba de *Rayleigh* $r=0.7063$, $p = 6.2595e^{-10}$) (Fig. 8). La dirección promedio del viento con base weatherspark (<https://es.weatherspark.com>), durante los días de experimentos fue hacia el este.

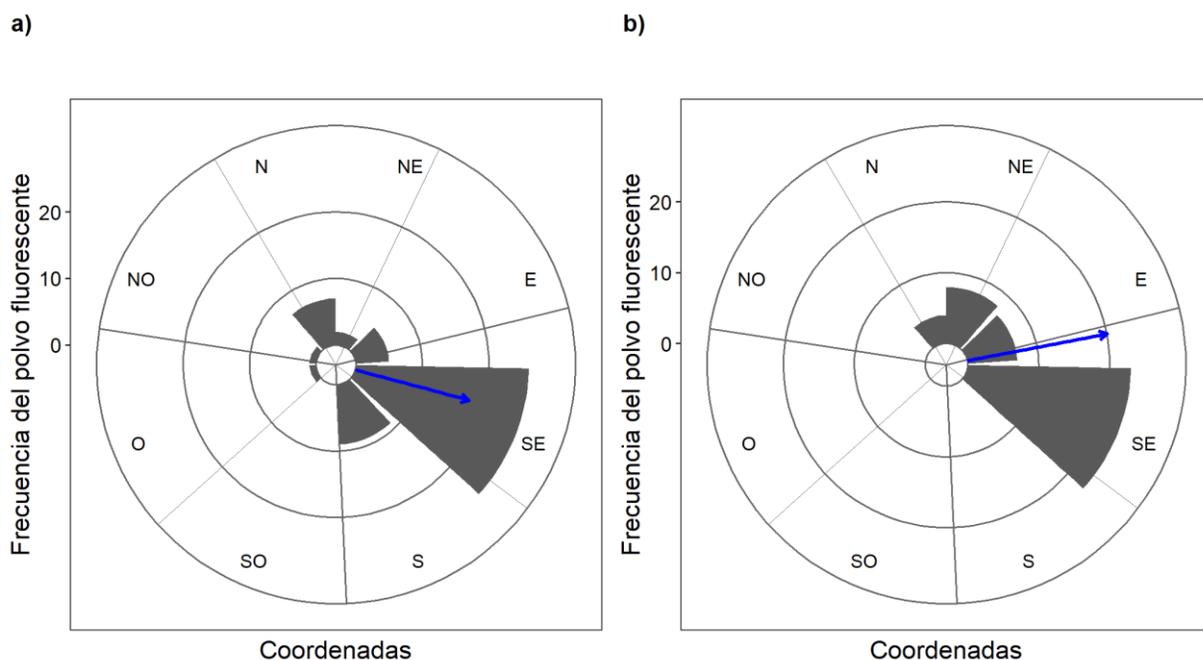


Fig. 8. Diagrama de rosa con la dirección del movimiento de los análogos de polen usando en los morfos de *O. streptacantha*. La flecha de color azul indica la dirección donde se acumula la mayor cantidad de datos (prueba de uniformidad de *Rayleigh*). a) Polen usando el morfo floral amarillo como focal. b) Polen usando el morfo floral anaranjado como focal. Datos colectados en la temporada reproductiva de abril-mayo de 2022.

IV. Producción de néctar

Se produjo néctar a lo largo de la vida de la flor de los dos morfos, con un pico de producción de néctar a las 14 h. La cantidad total producida difiere entre los morfos, siendo el morfo floral amarillo el que produce una mayor cantidad de néctar (Fig. 9). (morfo amarillo: media = $0.72 \mu\text{l} \pm \text{error estándar} = 0.07$, morfo anaranjado: $0.43 \mu\text{l} \pm 0.05$; $t = 3.1671$, $p = 0.0018$). La cantidad total producida difieren entre los horarios ($H = 38.007$, $p = 5.582e^{-09}$). Para el morfo amarillo hay diferencias en los horarios: 10:00 h – 18:00 h ($p = 0.00034$) y 14:00 h – 18:00 h ($p = 0.00033$). Para el morfo anaranjado hay diferencias en los horarios: 10:00 h – 18:00 h ($p = 0.00092$) y 14:00 h – 18:00 h ($p = 2.2e^{-05}$) (Fig. 9).

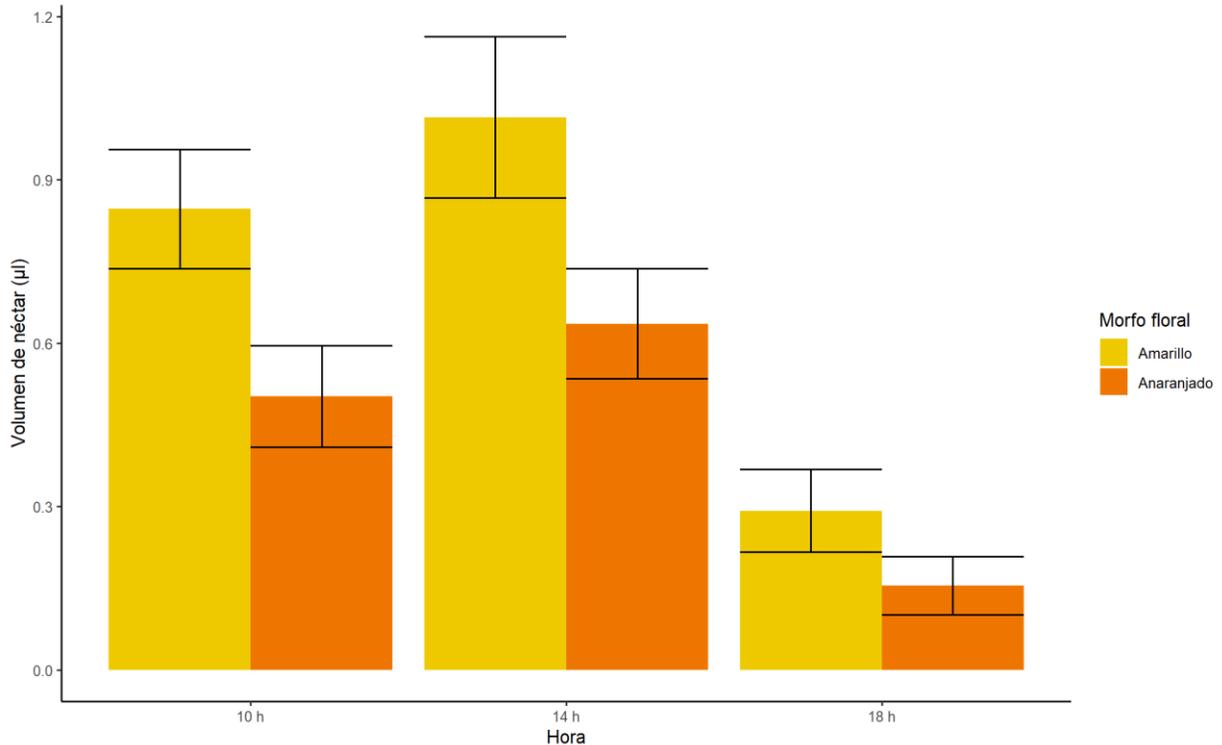


Fig. 9. Producción de néctar en los morfos florales en *Opuntia streptacantha* donde se muestra el volumen de néctar producido en los diferentes horarios muestreados. $n = 30$ flores para cada morfo. Datos colectados en la temporada reproductiva de abril-mayo de 2023.

V. Longevidad y apertura máxima de las flores

La apertura promedio para las flores de *O. streptacantha* fue de 24.2 ± 0.7 mm (media \pm error estándar). La longevidad de la flor fue desde las 9:00 h hasta las 9:00 h del día siguiente, y en este periodo las flores están cerradas de las 20:00 h hasta las 8:00 h en que volvieron a abrir.

En el morfo amarillo, la apertura máxima fue de 36.7 ± 1.6 mm a las 14:00 h, la longevidad de la flor fue de las 9:00 h hasta las 9:00 h del siguiente día, es decir, la flor puede abrir un segundo día.

En el morfo anaranjado se presentó una apertura máxima de 33.8 ± 1.3 mm a las 13:00 h, la longevidad de la flor fue de las 9:00 h hasta las 21:00 h; no se encontró que las flores siguieran abiertas el segundo día. (Fig. 10). La apertura máxima fue significativamente

diferente entre los morfos florales ($t = 2.2955$, $p = 0.0220$), siendo el morfo amarillo el que presentó una mayor apertura, sin embargo, el morfo anaranjado presenta su apertura máxima una hora antes al del morfo amarillo.

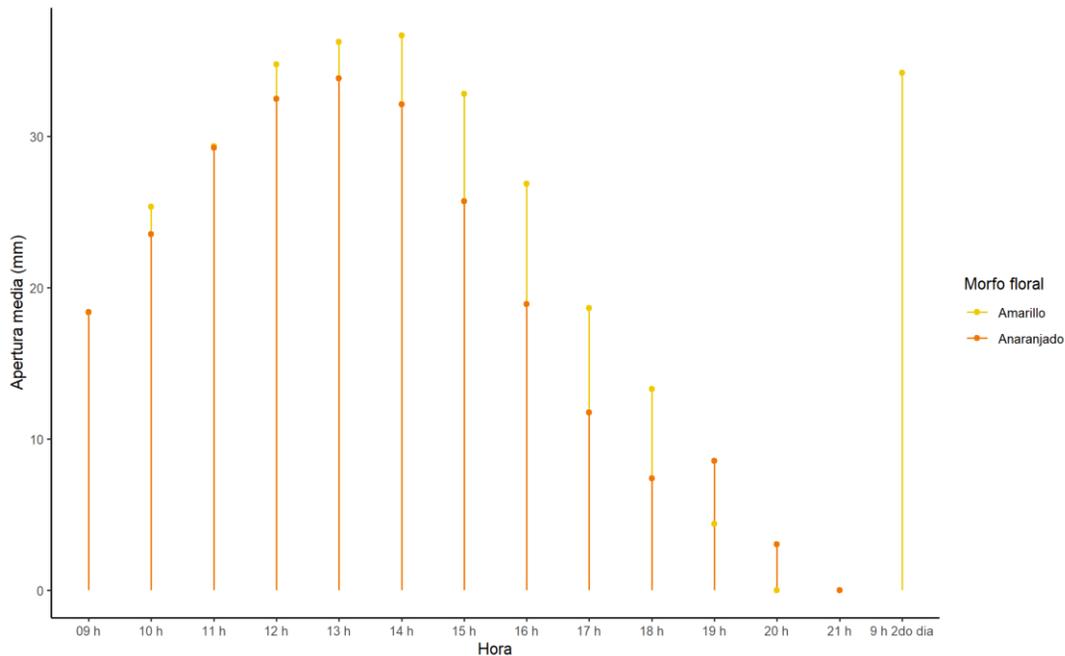


Fig. 10. Apertura media de las flores por hora en mm de los morfos florales de *Opuntia streptacantha*. $n = 30$ flores para cada morfo. Datos colectados en la temporada reproductiva de abril-mayo de 2023.

VI. Visitantes florales

Las visitas en los dos morfos iniciaron a las 10:00 h y concluyeron a las 18:00 h (Figs. 11 y 12). La frecuencia de visitas fue similar para ambos morfos florales ($\chi^2 = 0.55103$, $p = 0.4579$). Sin embargo, entre horarios hay una diferencia en las visitas ($\chi^2 = 392.04$, $p = < 2.2e^{-16}$). De las 11:00 h hasta las 14:00 h fue la mayor actividad de los visitantes florales en ambos morfos florales. El pico de actividad para el morfo amarillo fue a las 13:00 h, mientras que para el morfo anaranjado fue a las 12:00 h (Fig. 11).

Únicamente se encontraron diferencias significativas entre los morfos a las 12:00 h ($\chi^2 = 11.929$, $p = 0.0005$), 15:00 h ($\chi^2 = 7.0748$, $p = 0.0078$), 17:00 h ($\chi^2 = 8.148$, $p = 0.0043$) y 18:00 h ($\chi^2 = 3.9624$, $p = 0.0465$). A las 15:00 h, 17:00 h y 18:00 h el morfo amarillo

presentó más visitas en comparación al morfo anaranjado. A las 12:00 h el morfo floral anaranjado tuvo mayor frecuencia de visitas en comparación al morfo amarillo (Fig. 11).

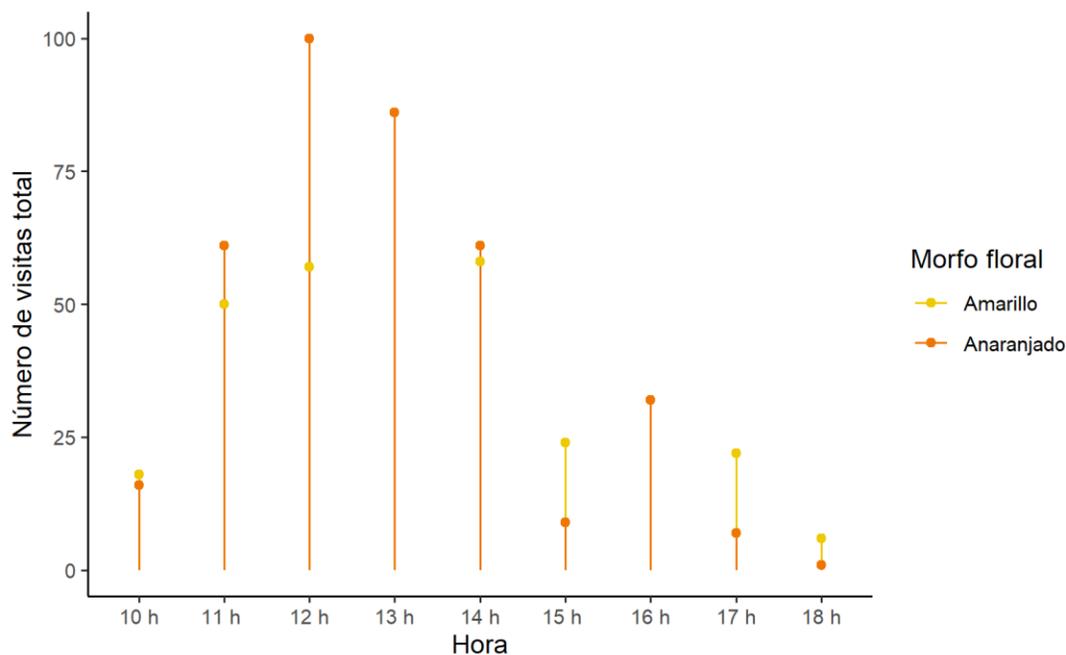


Fig. 11. Frecuencia de visitas totales en los morfos florales de *Opuntia streptacantha* en cada hora de observación. Datos colectados en la temporada reproductiva de abril-mayo de 2023 (158 horas de observación).

Los principales visitantes florales fueron abejas, pero hubo visitas de escarabajos, colibríes y avispas (Cuadro 8). El horario de actividad varía entre los morfos. *Apis mellifera* (Hymenoptera: Apidae) fue el único visitante que se registró en todo el día, en ambos morfos florales. *Lithurgus* sp. (Hymenoptera: Megachilidae), *Ceratina* sp. (Hymenoptera: Apidae), *Augochlorella* sp. (Hymenoptera: Halictidae) y *Ancistrocerus* sp. (Hymenoptera: Vespidae) fueron registrados sólo una vez en el morfo floral anaranjado, mientras que para el amarillo únicamente *Bombus sonorus* (Hymenoptera: Apidae) fue registrado una vez (Fig. 12).

En la red de interacción (Fig. 13) se encontró una conectancia de 0.923, lo que indica que hay casi un enlace por cada interacción biológica posible. El anidamiento fue de 0.026, indicando que la red se comporta en términos robustos de forma generalista, y la $H2$ de 0.032, valor que también apoya que la red es generalista. La superposición de nicho fue 0.816 para

los visitantes florales y de 0.994 para los morfos florales, indicando que; en ambos hay una superposición de nicho elevada. La modularidad Q de Newman fue de 0.042, que a pesar de ser un número positivo este es muy bajo, y sugiere que la modularidad en la red es baja.

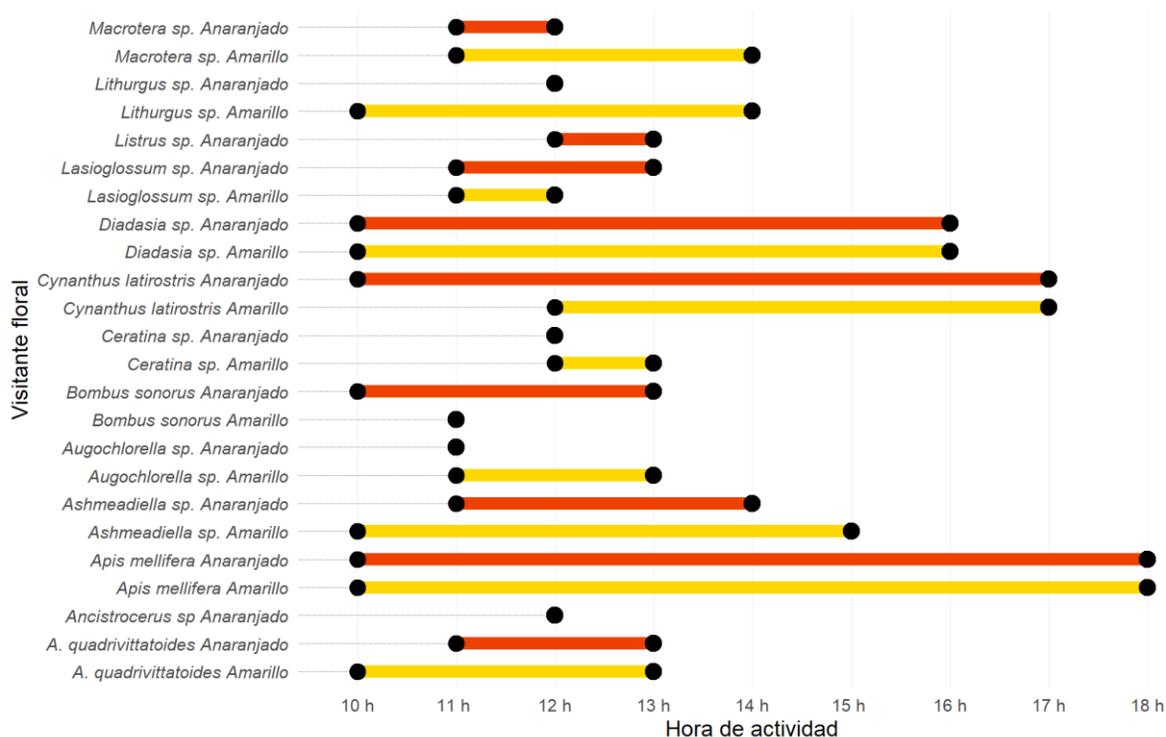


Fig. 12. Composición de visitantes florales para los morfos florales de *Opuntia streptacantha* mostrando el inicio y fin de actividad de cada uno en un horario de 10:00 h hasta las 18:00 h (158 horas de observación). En amarillo para el morfo amarillo y en anaranjado para el morfo anaranjado. Datos colectados en la temporada reproductiva de abril-mayo de 2023.

A nivel de grupos *HL* (visitantes florales), se encontraron visitantes asociados a alguno de los grupos *LL* (morfos florales): *Ashmeadiella* sp. (Hymenoptera: Megachilidae), *Augochlorella* sp., *Ceratina* sp., *Lithurgus* sp. al morfo amarillo; *Bombus sonorus*, *Listrus* sp. (Coleoptera: Melyridae) y *Ancistrocerus* sp. al anaranjado, sin embargo, ninguno de los morfos florales presenta alguna dependencia hacia algún visitante floral (Tabla 10).

Respecto a los índices de “fuerza de la especie” y el PSI (Índice de servicio de polinización), *Apis mellifera* fue el visitante con los valores más altos para ambos índices y morfos florales, seguido de *Diadasia* sp. y *Ashmeadiella* sp. para ambos índices y morfos florales (Tabla 10). Es importante resaltar que *A. mellifera* no tuvo actividad típica de un

polinizador, su única actividad fue la de tomar néctar. Por otro lado, *Diadasia* sp. y *Ashmeadiella* sp., sí colectaron polen (Tabla 10).

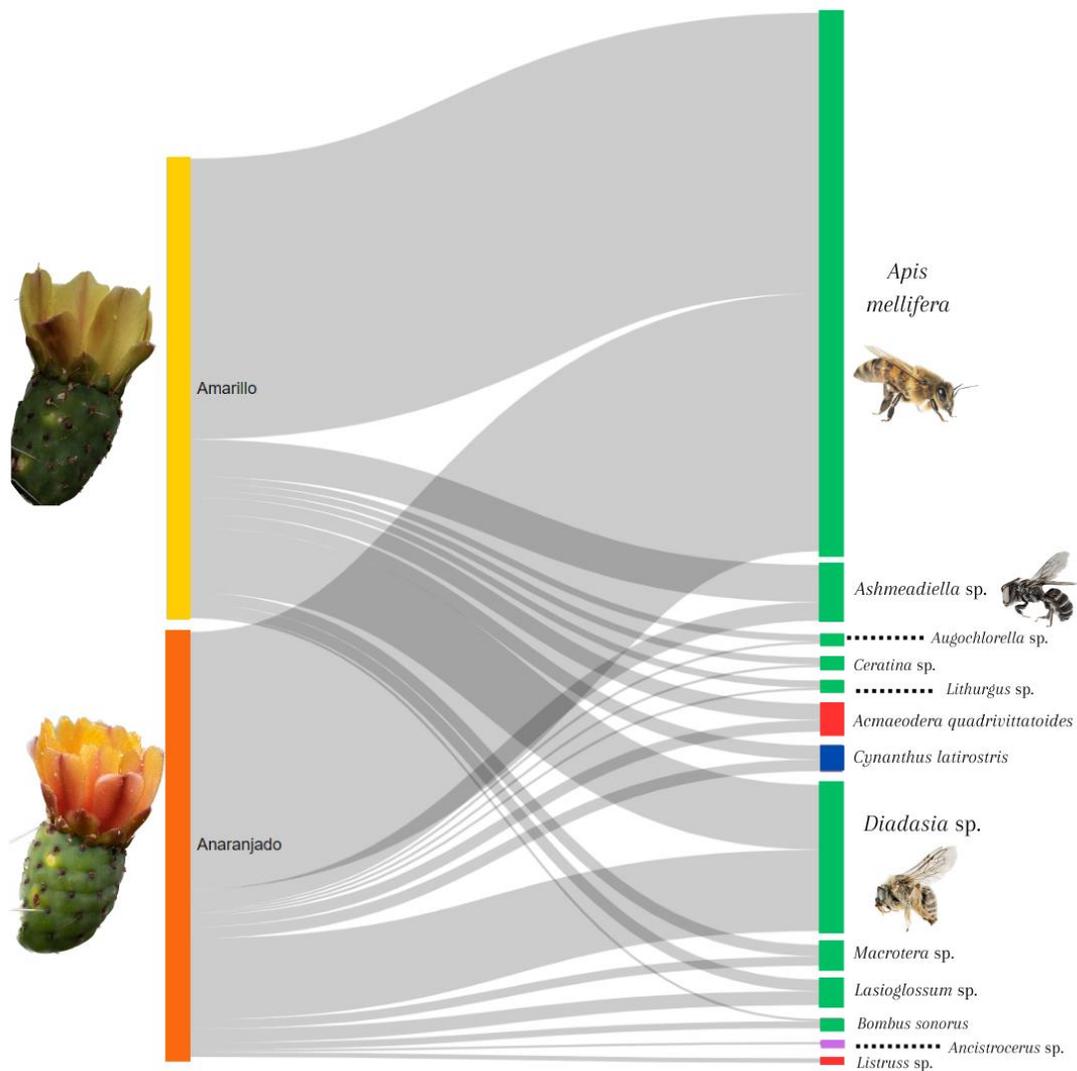


Fig. 13. Red de interacción bipartita en la que se muestra la interacción de los morfos florales presentes de *Opuntia streptacantha* (lado izquierdo) y los visitantes florales (lado derecho). El ancho de las bandas representa la fuerza de la interacción. En los visitantes, el color verde representa a las abejas, azul a los colibríes, rojo a los escarabajos y morado a las avispas. Datos colectados en la temporada reproductiva de abril-mayo de 2023 (158 horas de observación).

Tabla 10. Composición de visitantes florales para los morfos florales de *Opuntia streptacantha*, donde se muestra el índice de dependencia a nivel visitante y flor, la frecuencia absoluta de visitas y la actividad observada de cada visitante floral. El índice de dependencia toma valores de 0 a 1, donde valores más cercanos a cero indican un menor número de interacciones, mientras que valores más cercanos a uno corresponden a un mayor número de interacciones. Datos colectados en la temporada reproductiva de abril-mayo de 2023 (158 horas de observación).

Visitantes florales	Morfo floral	Dependencia de los visitantes a las flores	Dependencia de las flores a los visitantes	Número de visitas	Actividad de los visitantes florales
<i>Acmaeodera quadrivittatoides</i> (Coleoptera)	Amarillo	0.58	0.03	7	En anteras
	Anaranjado	0.42	0.03	5	En anteras
<i>Apis mellifera</i> (Hymenoptera)	Amarillo	0.52	0.61	121	Néctar
	Anaranjado	0.48	0.61	111	Néctar
<i>Ashmeadiella</i> sp. (Hymenoptera)	Amarillo	0.66	0.08	16	Néctar y polen
	Anaranjado	0.33	0.04	8	Néctar y polen
<i>Augochlorella</i> sp. (Hymenoptera)	Amarillo	0.75	0.02	3	Néctar y polen
	Anaranjado	0.25	0.005	1	Néctar y polen
<i>Bombus sonorus</i> (Hymenoptera)	Amarillo	0.25	0.005	1	Néctar
	Anaranjado	0.75	0.02	3	Néctar
<i>Ceratina</i> sp. (Hymenoptera)	Amarillo	0.75	0.02	3	Néctar y polen
	Anaranjado	0.25	0.005	1	Néctar y polen
<i>Cynanthus latirostris</i> (Trochiliformes)	Amarillo	0.55	0.03	6	Néctar
	Anaranjado	0.45	0.03	5	Néctar
<i>Diadasia</i> sp. (Hymenoptera)	Amarillo	0.44	0.14	28	Néctar y polen
	Anaranjado	0.55	0.19	35	Néctar y polen
<i>Lasioglossum</i> sp. (Hymenoptera)	Amarillo	0.45	0.03	5	Néctar y polen
	Anaranjado	0.55	0.03	6	Néctar y polen
<i>Lithurgus</i> sp. (Hymenoptera)	Amarillo	0.75	0.02	3	Néctar y polen
	Anaranjado	0.25	0.003	1	Néctar y polen
<i>Macrotera</i> sp. (Hymenoptera)	Amarillo	0.55	0.03	5	Néctar y polen
	Anaranjado	0.44	0.02	4	Néctar y polen
<i>Listrus</i> sp. (Coleoptera)	Amarillo	0	0	0	No visita
	Anaranjado	1	0.01	2	En anteras
<i>Ancistrocerus</i> sp. (Hymenoptera)	Amarillo	0	0	0	No visita
	Anaranjado	1	0.005	1	Néctar

En las métricas “núcleo” y “periferia” de los grupos *HL*, solo se identificaron a *Ancistrocerus* sp. y *Listrus* sp. como especies periferia, dando un valor inferior a uno por lo cual son consideradas especies especialistas, en específico para el morfo floral anaranjado. El resto de los visitantes se encuentran en el núcleo de la red; todos estos visitantes obtuvieron un valor mayor a uno, que indica que el núcleo de la red es altamente generalista (Tabla 11).

Si bien no hay una superposición exacta en la mayor frecuencia de visitantes con el pico de néctar y la apertura máxima de la flor por cada morfo floral, los horarios con mayor actividad de visitantes incluyen los horarios de mayor producción de néctar y la mayor apertura de la flor para cada morfo floral.

Tabla 11. Índices de “fuerza de la especie” para poder identificar la importancia de cada especie para la red y de “servicio de polinización” (PSI) para determinar la importancia de cada visitante como potencial polinizador calculados en la red de interacción a nivel especie, particularmente a el nivel de visitantes florales. PSI toma valores de 0 a 1, donde mientras más cercano a cero es un visitante más irrelevante para la polinización y cercano a uno corresponde a un visitante más relevante para la polinización. Y en especies núcleo y periferia a nivel visitante, cuando el valor resulta mayor a uno, indica especies con un número elevado de interacciones en comparación a otras especies de su mismo nivel, constituyen un núcleo generalista. Datos colectados en la temporada reproductiva de abril-mayo de 2023.

Visitantes florales	Fuerza de la especie	PSI	Valor Núcleo/Periferia	Núcleo/Periferia
<i>Acmaeodera quadrivittatoides</i> (Coleoptera)	0.06	0.03	0.41	Núcleo
<i>Apis mellifera</i> (Hymenoptera)	1.22	0.61	0.41	Núcleo
<i>Ashmeadiella</i> sp. (Hymenoptera)	0.12	0.07	0.41	Núcleo
<i>Augochlorella</i> sp. (Hymenoptera)	0.02	0.01	0.41	Núcleo
<i>Bombus sonorus</i> (Hymenoptera)	0.02	0.01	0.41	Núcleo
<i>Ceratina</i> sp. (Hymenoptera)	0.02	0.01	0.41	Núcleo
<i>Cynanthus latirostris</i> (Trochiliformes)	0.06	0.03	0.41	Núcleo
<i>Diadasia</i> sp. (Hymenoptera)	0.33	0.17	0.41	Núcleo
<i>Lasioglossum</i> sp. (Hymenoptera)	0.06	0.03	0.41	Núcleo
<i>Lithurgus</i> sp. (Hymenoptera)	0.02	0.01	0.41	Núcleo
<i>Macrotera</i> sp. (Hymenoptera)	0.05	0.02	0.41	Núcleo
<i>Listrus</i> sp. (Coleoptera)	0.01	0.01	-2.25	Periferia
<i>Ancistrocerus</i> sp. (Hymenoptera)	0.005	0.005	-2.25	Periferia

VII. Fluorescencia visible inducida por ultravioleta (FVU)

La reflectancia promedio de UV para el morfo floral amarillo, para cada estructura fue de 85% para el estigma, 95% para las anteras, 80% para la zona entre anteras y parte interior de los segmentos del perianto (parte adaxial basal de los tépalos internos), 75% para la parte interior de los segmentos del perianto (parte adaxial media de los tépalos internos) y 55% para la parte exterior de los segmentos del perianto (parte adaxial apical de los tépalos internos). Se encontró una diferencia significativa en la reflectancia entre las estructuras ($\chi^2 = 64.201$, $p = 3.791e^{-13}$). La única similitud se encuentra entre el estigma y la zona entre anteras y parte interior de los segmentos del perianto ($p = 0.484$), las demás combinaciones de estructuras son significativamente diferentes entre sí (Fig. 14 y 15).

La reflectancia promedio de UV para el morfo floral anaranjado, para cada estructura fue de 89% para el estigma, 99% para las anteras, 90% para la zona entre anteras y parte interior de los segmentos del perianto (parte adaxial basal de los tépalos internos), 67% para la parte interior de los segmentos del perianto (parte adaxial media de los tépalos internos) y 49% para la parte exterior de los segmentos del perianto (parte adaxial apical de los tépalos internos). Se encontró una diferencia significativa en la reflectancia entre las estructuras ($\chi^2 = 82.195$, $p = 2.2 e^{-16}$). La única similitud se encuentra entre el estigma y la zona entre anteras y parte interior de los segmentos del perianto ($p = 0.129$), las demás combinaciones de estructuras son diferentes entre sí (Fig. 15 y 16).

Al comparar entre los morfos por estructura sólo se encontraron diferencias significativas en las anteras ($w = 180$, $p = 0.010$) y en la zona entre anteras y parte interior de los segmentos del perianto (parte adaxial basal de los tépalos internos) ($w = 199$, $p = 0.028$). (Fig. 15).

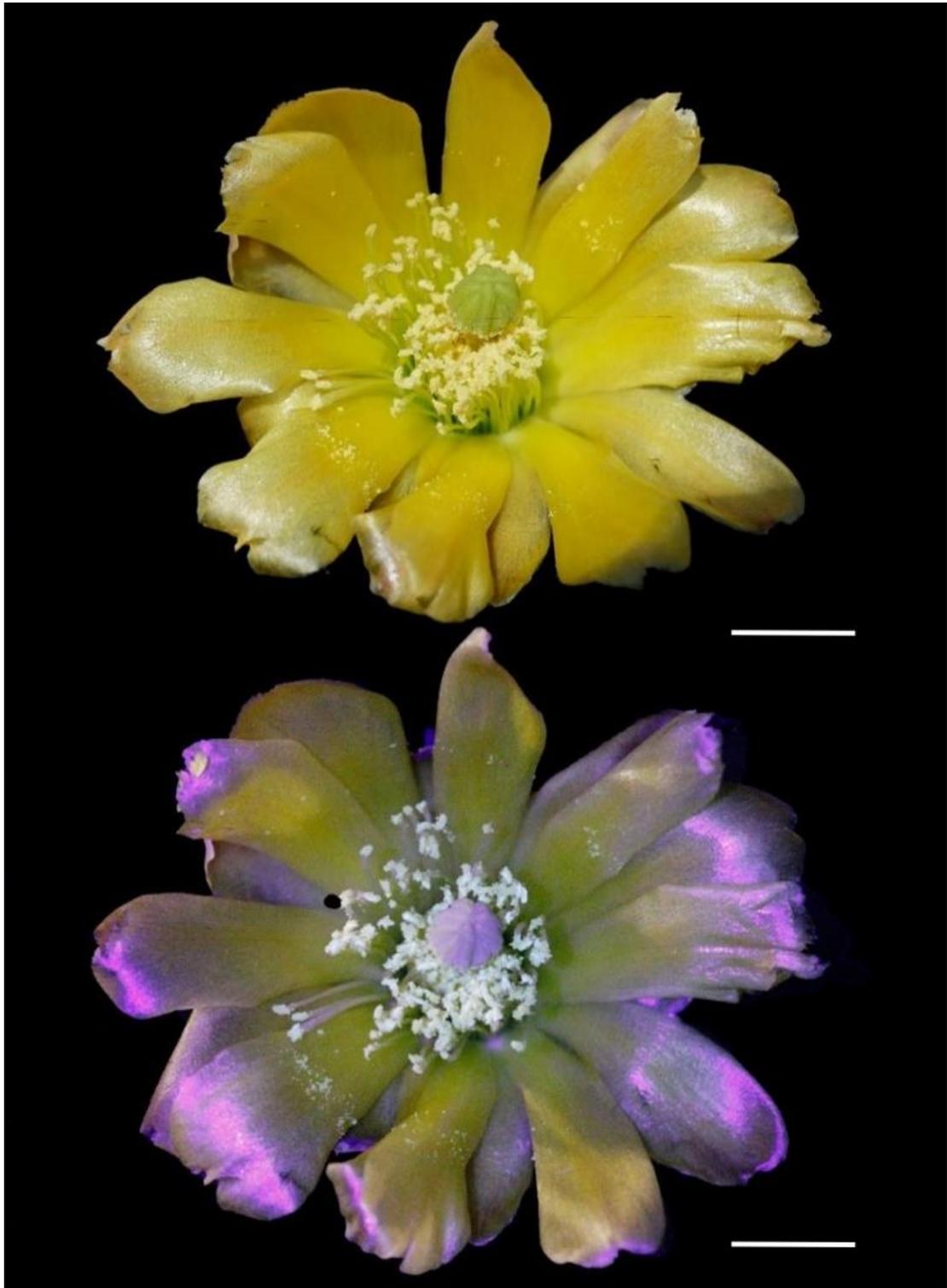


Fig. 14. Flor del morfo amarillo de *Opuntia streptacantha*. En la parte de superior esta la flor bajo luz natural, en la parte inferior la flor bajo luz ultravioleta. Barra de escala = 5 cm.

Foto: Gerardo Manzanarez-Villasana.

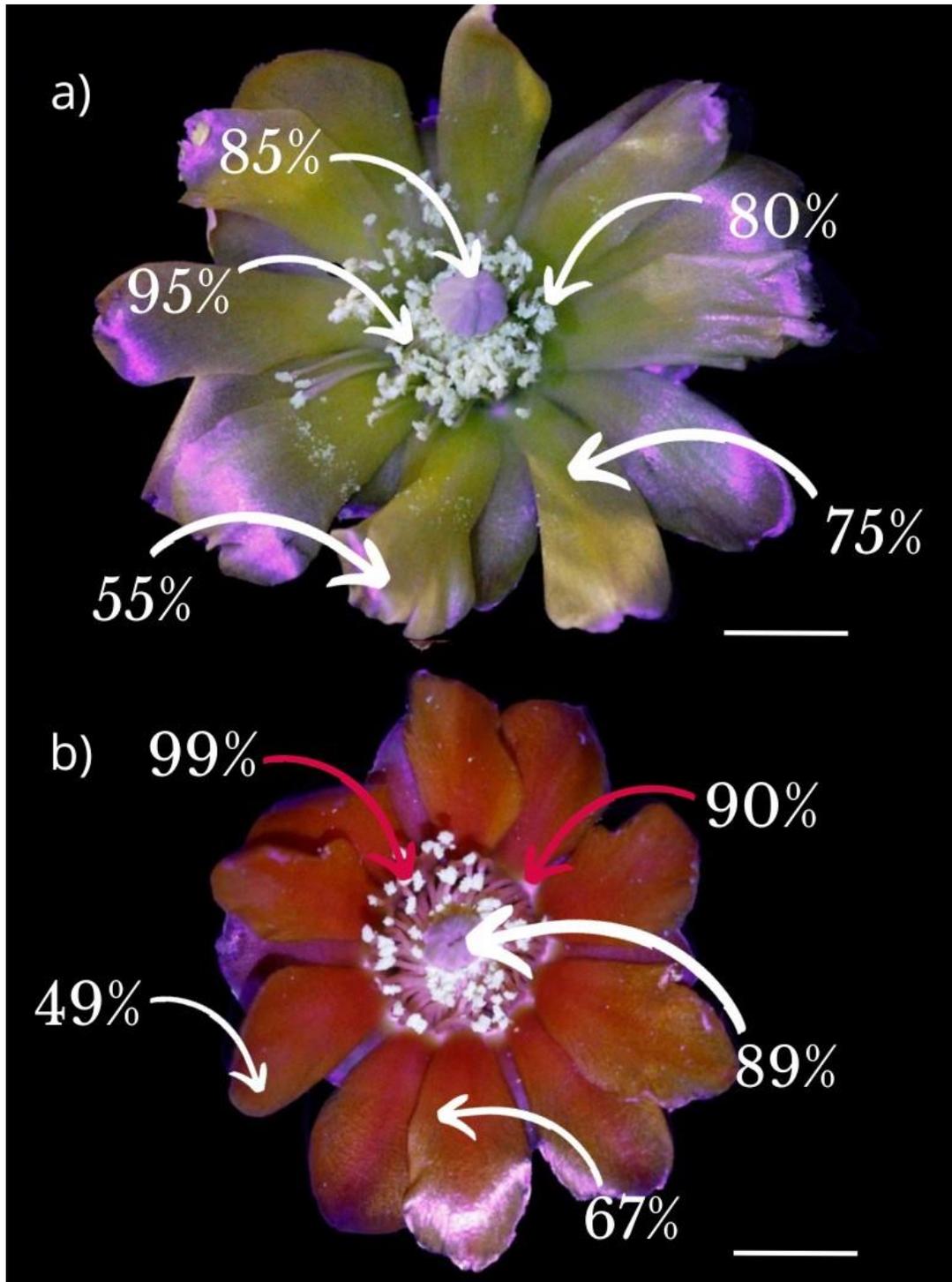


Fig. 15. Porcentaje de reflectancia en cada zona de interés (ROI) por morfo floral de *Opuntia streptacantha*. a) Morfo floral amarillo. b) Morfo floral anaranjado. La flecha roja señala las diferencias significativas. Barra de escala = 5 cm. Foto: Gerardo Manzanarez-Villasana.



Fig. 16. Flor del morfo anaranjado de *Opuntia streptacantha*. En la parte de superior esta la flor bajo luz natural, en la parte inferior la flor bajo luz ultravioleta. Barra de escala = 5 cm.
Foto: Gerardo Manzanarez-Villasana.

VIII. Colores en las flores

Se encontraron 42 tonos de colores en el morfo floral amarillo, divididos de la siguiente manera por estructura: 9 tonos en el estigma, 7 tonos en los estambres, 7 tonos en la zona entre anteras y parte interior de los segmentos del perianto (parte adaxial basal de los tépalos internos), 10 tonos en la parte interior de los segmentos del perianto (parte adaxial media de los tépalos internos) y 9 tonos en la parte exterior de los segmentos del perianto (parte adaxial apical de los tépalos internos). La paleta de tonos final del morfo floral amarillo se construyó a partir de los tonos con mayor frecuencia en cada estructura, como se muestra en la Fig. 17:

Estigma: Tono Amarillo aburrido (Código hexadecimal: #A9B35C), estambres: Amarillo grisáceo claro (#D4DA9A), zona entre anteras y parte interior de los segmentos del perianto (parte adaxial basal de los tépalos internos): Amarillo oscuro (#5B6402), parte interior de los segmentos del perianto (parte adaxial media de los tépalos internos): Amarillo aburrido (#C1B33C) y parte exterior de los segmentos del perianto (parte adaxial apical de los tépalos internos): Naranja oscuro (#835C34).

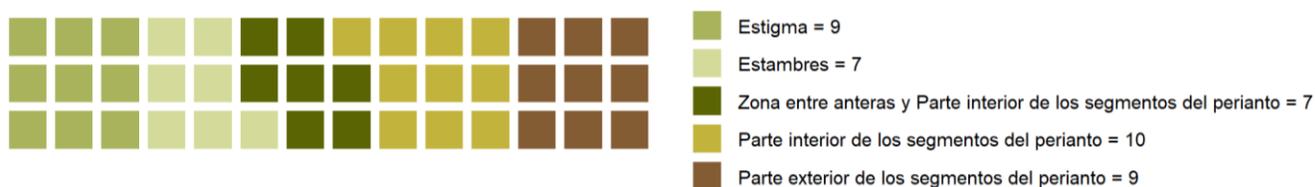


Fig. 17. Gráfico *waffle* donde se muestra el número de tonos presentes por estructuras, donde cada cuadro representa el número de tonos posibles para cada estructura y el color representa el tono con mayor frecuencia en cada estructura, en conjunto hacen la paleta resultante para el morfo floral amarillo.

En el morfo floral anaranjado se encontraron 34 tonos, divididos por estructuras de la siguiente manera: 8 tonos en el estigma, 8 tonos en los estambres, 8 tonos en la zona entre anteras y parte interior de los segmentos del perianto (parte adaxial basal de los tépalos internos), 4 tonos en la parte interior de los segmentos del perianto (parte adaxial media de los tépalos internos) y 6 tonos en la parte exterior de los segmentos del perianto (parte adaxial apical de los tépalos internos). La paleta final del morfo floral anaranjado se construyó a partir de los tonos con mayor frecuencia en cada estructura (Fig. 18):

Estigma: Amarillo suave (#C2BF5F), estambres: Amarillo grisáceo claro (#EEEFD3), zona entre anteras y parte interior de los segmentos del perianto (parte adaxial basal de los tépalos internos): Naranja profundo (#6E4A09), parte interior de los segmentos del perianto (parte adaxial media de los tépalos internos): Naranja fuerte (#C25807) y parte exterior de los segmentos del perianto (parte adaxial apical de los tépalos internos): Rojo profundo (#691213).



Fig. 18. Gráfico *waffle* donde se muestra el número de tonos presentes por estructuras, donde cada cuadro representa el número de tonos posibles para cada estructura y el color representa el tono con mayor frecuencia en cada estructura, en conjunto hacen la paleta resultante para el morfo floral anaranjado.

Se compararon los tonos existentes en la estructura de un morfo, pero no en el otro, encontrando que, de los 76 tonos en ambos morfos, 42 son compartidos (Tabla 12). A pesar de que el conteo total de colores entre ambos morfos y estructuras difiere, esta diferencia no es significativamente diferente ($\chi^2 = 2.5497$, $p = 0.6358$), las diferencias se encuentran únicamente en los tonos presentes en cada morfo y estructura.

Tabla 12. Comparación de los tonos existentes en cada estructura entre los morfos florales de *Opuntia streptacantha*. Datos colectados en la temporada reproductiva de abril-mayo de 2023.

Estructura	Morfo floral	Tonos únicos	Tonos compartidos
Estigma	Amarillo	4	10
	Anaranjado	5	
Estambres	Amarillo	2	10
	Anaranjado	3	
Zona entre anteras y parte interior de los segmentos del perianto (parte adaxial basal de los tépalos internos)	Amarillo	2	10
	Anaranjado	3	
parte interior de los segmentos del perianto (parte adaxial media de los tépalos internos)	Amarillo	7	6
	Anaranjado	1	
parte exterior de los segmentos del perianto (parte adaxial apical de los tépalos internos)	Amarillo	6	6
	Anaranjado	3	

IX. Densidad poblacional y distribución espacial

En el área de estudio (7.3 ha) se marcaron un total de 401 individuos de *Opuntia streptacantha*, de los cuales se pudieron identificar únicamente 116 plantas con flores amarillas (28.9% de los individuos con morfo amarillo) y 102 con flores de color anaranjado (25.5% con morfo anaranjado), los 183 individuos restantes (45.6%) fueron individuos no reproductivos al momento de realizar los experimentos.

La densidad de individuos a nivel de la población fue de 54.93 individuos/hectárea o 0.0053 individuos/m², en otras palabras, hay un individuo de *O. streptacantha* cada 183 m². El patrón de distribución de la especie es agregado ($h= 0.8673$). La densidad poblacional varía cuando se considera cada morfo floral individualmente.

En cuanto al morfo amarillo, la densidad encontrada fue de 16 individuos/hectárea o 0.0015 individuos/m², habiendo un individuo del morfo floral amarillo cada 630 m². El patrón de distribución para el morfo floral amarillo es agregado ($h = 0.6894$).

Para el morfo anaranjado, la densidad encontrada fue de 12.46 individuos/hectárea o 0.0012 individuos/m², habiendo un individuo del morfo floral anaranjado cada 803 m². El patrón de distribución del morfo floral anaranjado es agregado ($h = 0.7871$).

Se encontraron 1.14 individuos del morfo floral amarillo por cada individuo del morfo floral anaranjado, o 0.88 individuos del morfo floral anaranjado por cada individuo del morfo floral amarillo, pero la relación no fue significativamente diferente de 1:1 ($\chi^2 = 0.7752$, $p = 0.3786$).

Discusión

Sistemas de reproducción y flujo de polen

De acuerdo con la aproximación propuesta por Cruden (1977), *Opuntia streptacantha* y sus dos morfos florales presentan xenogamia estricta. Sin embargo, los resultados obtenidos en las cruza manuales indican que los dos morfos florales tienen un sistema mixto, ya que la autopolinización (natural y manual), tuvieron 50% o más de éxito. Esto concuerda con lo reportado en el género (Reyes-Agüero *et al.* 2006; Mandujano *et al.* 2010), como es el caso de *O. ficus-indica* (Nerd & Mizrahi 1995) y *O. quimilo* (Díaz & Cocucci 2003).

Los experimentos de flujo de polen controlado señalan diferencias entre tratamientos, pero no entre los morfos florales. Ambos morfos son autocompatibles y pueden tener polinización autónoma. En estos tratamientos de autogamia, se observa un aumento significativo en el éxito reproductivo mediante la autopolinización manual. La autopolinización ha sido reportada con frecuencia en otras especies del género *Opuntia*, como en *O. robusta* (del Castillo 1986), *O. streptacantha*, *O. cochinera* y *O. rastrera* (Trujillo & González 1991). Muchas de las especies de este género también suelen presentar depresión por endogamia, puesto que es importante la reducción en la producción de frutos y semillas en los tratamientos de autogamia en comparación a los de entrecruzamiento (Mandujano *et al.* 2010).

No se observan diferencias entre los tratamientos de entrecruzamiento, suplemento de polen y autopolinización manual. Ambos morfos florales tienen la capacidad de formar frutos y semillas en cualquier combinación de origen del polen, y es evidente que se benefician significativamente de la actividad de los polinizadores. A un nivel más detallado, es relevante destacar que los tratamientos de cruza más exitosos difieren para cada morfo floral, lo que indica que la manipulación experimental del flujo de polen tiene un impacto notable en el éxito reproductivo de la especie.

En el morfo floral amarillo, los resultados revelan una limitación de polen ($L =$ índice de limitación de polen, Larson & Barrett 2000) de 11.1% ($L = 0.11$); por lo que, la combinación de polen suplementario intramorfo tiene un impacto positivo en la formación de frutos y semillas, incrementando su éxito reproductivo. El impacto del color de las flores

en el éxito reproductivo se ha analizado centrándose en la preferencia de los visitantes florales (Strozinski 2001; Bauer *et al.* 2017), pero se ha demostrado que en especies con sistemas de cruza mixtos que son autocompatibles, la limitación de polen es mucho mayor (36%, Larson & Barrett 2000).

En el morfo floral anaranjado, no se observa un efecto positivo ni de la mezcla de polen intra e intermorfo floral ni del polen suplementario. El control (polinización bajo condiciones naturales) es el tratamiento en el que se producen más frutos y semillas, sugiriendo que el flujo de polen entre flores y entre ambos morfos es el más exitoso. En otras especies de *Opuntia*, se ha observado una disminución en la formación de frutos y semillas cuando se manipulan las flores y las cargas de polen (Mandujano *et al.* 2010; Ortiz-Martínez *et al.* 2022).

En ambos morfos florales, los tratamientos que menor porcentaje de frutos formados presentaron fueron los de apomixis 1 (se retiraron los estambres previos a la receptividad del estigma) y 2 (se retiró el estigma previo a la dehiscencia de las anteras). La apomixis es frecuente en *Opuntia* según Pimienta (1990) y se ha documentado en algunas especies (Trujillo & González 1991; García & Pimienta 1996). Se ha reportado que la apomixis es más común en las especies cultivadas con entrecruza (Mondragón 2001). No obstante, hay otras especies en las que se ha descartado este fenómeno y todas las semillas son producto de singamia (la fusión de gametos masculinos y femeninos para producir un cigoto) (Mandujano *et al.* 1996; Ortiz-Martínez *et al.* 2022). Es probable que la formación de frutos y semillas en este tratamiento de apomixis en las polinizaciones controladas sean producto de una contaminación al momento de realizarlo, y que el método usado para hacer inviable el polen no resultó efectivo. Sin embargo, para descartar la apomixis en la especie, es necesario realizar estas pruebas con otras técnicas que ayuden a evitar la contaminación, como por ejemplo usar agua oxigenada para atrofiar el estigma y evitar la formación de tubos polínicos. Adicionalmente, sería necesario corroborar que no ocurra la singamia usando métodos de crecimiento de tubo polínico de microscopía de epifluorescencia (Kearns & Inouye 1993).

Es importante resaltar que en ambos morfos florales la combinación de polen de los dos morfos incrementa el *fruit set* y el *seed set*. Que el tratamiento control haya sido uno de

los de mayor éxito en ambos morfos flores sugiere que la combinación de polen interespecífico de las otras especies de nopales que cohabitan con *O. streptacantha* puede contribuir también (Martínez-Ramos 2019). Las flores abiertas a polinizadores forman frutos que son el producto de la actividad generalista de los visitantes florales, estos visitantes, al ser generalistas, no guardan especificidad a nivel de morfos florales ni de especies, pues también visitan las demás especies de nopales con las que coexiste la especie de manera natural. Se ha probado que la presencia o ausencia de atributos florales influye en la adecuación de las plantas (Golubov & Mandujano 2009), de tal manera que un despliegue floral amplio, con flores ricas en atrayentes y recompensas, favorece el movimiento de polen entre más plantas (Thompson 2001; Grindlerland *et al.* 2005). El patrón de visitas generalista promueve este movimiento de polen entre los morfos florales con las otras especies de nopales con las que cohabita, sumado a esto, está la alta sincronía floral que presenta *O. streptacantha* con las demás especies del género en el sitio de estudio (Martínez-Ramos 2019).

Para ambos morfos florales se presentó una distancia mínima de flujo de polen de 0 m, lo cual puede indicar auto fertilización por geitonogamia de forma natural, si bien la geitonogamia no fue el tratamiento de polinización manual más exitoso en ninguno de los morfos florales. La autofecundación, tanto en una misma flor como por geitonogamia, puede tener como efecto una pérdida en la diversidad genética de la progenie (Cardoso *et al.* 2018). Es aquí donde las barreras precigóticas pueden tener un papel fundamental, como en el caso de la presencia de hercogamia (distribución espacial de sus funciones sexuales) y dicogamia (distribución temporal de sus funciones sexuales). En los nopales, la hercogamia han sido ampliamente descrita, como en *O. macrocentra* (Ortiz-Martínez *et al.* 2022) y *O. tomentosa* (Mandujano *et al.* 2014), entre otras especies. En ambos morfos florales hay hercogamia. Dado que la especie es autocompatible, es probable que la hercogamia contribuya a reducir la interferencia reproductiva y favorezca la exportación de polen distintas plantas (Matías-Palafox 2007).

El movimiento de polen entre los morfos florales es abundante, pero para ambos morfos florales se encontró que la mayor distancia del movimiento de polen se registró cuando el morfo floral focal correspondía al mismo morfo floral de destino, y se registró una

distancia menor cuando el morfo floral focal era distinto al morfo floral destino. La mayor cantidad de polvo fluorescente se registró a la menor distancia respecto a la planta focal, y conforme se incrementa la distancia a la planta focal, el polvo fluorescente fue siendo menos frecuente. Este patrón de dispersión de polen es común en la polinización que tiene como vector a los animales (Holmquist *et al.* 2012), y podría estar influido por la alta sincronía floral que presentan los morfos florales y la densidad de estos (Essenberg 2012; Manzanarez-Villasana 2020).

Se encontró que el movimiento del polen del morfo floral amarillo fue predominantemente al Sur Este, y del morfo floral anaranjado al Este. Durante los días en que se realizaron los experimentos, el viento fue en dirección al Este, lo que sugiere que el flujo de polen se debe a las condiciones climáticas. Es probable que las condiciones climáticas también ejerzan un impacto en la adecuación de los morfos. El viento afecta el comportamiento de forrajeo de las abejas, de manera negativa o positiva (Hennessy *et al.* 2021). Debido a que la mayor parte de abejas vuelan a favor del viento para reducir el gasto energético durante el forrajeo (Vicens & Bosch 2000; Hennessy *et al.* 2021). Cuando el viento aumenta, hay un decremento en el número de *A. mellifera* forrajeando (Vicens & Bosch 2000; Hennessy *et al.* 2021) y se demostró que cuando vuelan en contra del viento, las abejas Euglossini tienen un mayor gasto de energía por la resistencia que deben poner en sus patas para lograr estabilidad (Combes & Dudley 2009). Esta es seguramente la explicación del vector de dominancia de polvos fluorescentes en la dirección Este y Sureste.

Factores que influyen en los sistemas reproductivos, en los polinizadores y en el movimiento de polen

Los resultados obtenidos para la biología floral y el flujo del polen de ambos morfos florales están relacionados con los visitantes florales y la distribución espacial de las plantas. Las métricas estimadas indican que la red de interacción de los morfos florales es generalista. Los visitantes florales para ambos morfos usan las recompensas florales (polen y néctar) por igual. Los resultados obtenidos para ambos morfos florales parecen consistentes con una selección negativa dependiente de las frecuencias, lo cual es producto de floración simultánea que presentan ambos morfos florales (Manzanarez-Villasana 2020), y de que ambos morfos

florales se encuentran en la misma población, lo cual posiblemente está favoreciendo el flujo genético entre los morfos florales. Por ejemplo, en *Dactylorhiza sambucina* (Orchidaceae) se encontró que las frecuencias de los colores de las flores se mantenían por la selección negativa dependiente de la frecuencia, a través de la preferencia de los polinizadores por los morfos raros, lo cual puede causar el mantenimiento de un polimorfismo del color de las flores (Gigord *et al.* 2001). Para evaluar esta posibilidad, se necesita un estudio a largo plazo o en sitios con frecuencias diferentes de morfos florales. Además, a pesar de que la red es generalista, no podemos descartar que en otros momentos la frecuencias de morfos sea diferente o que el grupo de visitantes florales pueda cambiar.

La mayor parte de los visitantes fueron abejas. Esto coincide con lo reportado sobre el síndrome de polinización por abejas (melitofilia) que presenta el género (Mandujano *et al.* 2010). *Apis mellifera* fue el visitante más frecuente, aunque se ha propuesto que no es tan buen polinizador como las abejas nativas (Santos *et al.* 2012). De hecho, para ambos morfos florales *A. mellifera* sólo consumió néctar y no colectó polen.

Los visitantes con mayor frecuencia después de *A. mellifera* fueron abejas del género *Diadasia* sp., un grupo de abejas que tienen una estrecha relación con las cactáceas, y en específico con los nopales. Se ha hipotetizado una posible coevolución entre los géneros de abejas *Diadasia* sp. y *Lithuge* sp. con los nopales (Sipes & Tepedino 2005; Reyes-Agüero *et al.* 2006). Es posible que la alta abundancia y presencia en ambientes semiáridos de *Diadasia* sp. pueda estar correlacionada con la alta diversidad de nopales en las zonas áridas y semiáridas (Golubov *et al.* 2005; Manzanarez-Villasana *et al.* 2022). Consideramos que *Diadasia* es el polinizador principal de la especie en la zona, dado que no solo recolecta polen y néctar, sino que también entra en contacto con el estigma de las flores en ambos morfos florales. Para confirmar esto, es fundamental llevar a cabo experimentos de visitas únicas y comparar el éxito reproductivo en la formación de frutos y semillas con los otros grupos de abejas.

Si bien no hay una diferencia en la frecuencia total de polinizadores entre los morfos florales de *O. streptacantha*, sí hay diferencia en su patrón de visitas en el tiempo. Esto posiblemente se debe en parte a las diferencias en la hora de apertura de la flor, en colores, producción y características del néctar, y posiblemente otras características no mediadas,

como la producción de atrayentes químicos, aromas o temperaturas en las flores (Linsley 1978).

Los patrones de actividad de cada uno de los grupos de visitantes son diferentes, como consecuencia de su fisiología, tamaño y ecología. Por ejemplo, algunos abejorros suelen tener horarios de forrajeo matutino. Li *et al.* (2006) observaron que *Bombus lucorum* (Hymenoptera: Apidae) presentó una mayor actividad diurna, en comparación a *A. mellifera* en las visitas a las flores de las fresas. En *A. mellifera* se han documentado casos en el que se encuentra actividad durante toda la vida de la flor como en *Asphodelus fistulosus* (Xanthorrhoeaceae), donde *A. mellifera* se encontró en cada hora de observación (Guerrero-Eloisa *et al.*, 2023). Este mismo patrón de actividad continua de *A. mellifera* fue encontrado en este estudio y para ambos morfos florales. Las observaciones de actividad de abejas solitarias visitando *O. streptacantha* son consistentes con lo reportado en otros estudios, en los que se ha establecido que en este tipo de abejas existe una alta correlación de su actividad con la temperatura del aire y suelo, el viento o la intensidad de luz, entre otros (Michener & Rettenmeyer 1956). El patrón de actividad de estas abejas suele ser variado, pero en general se ha observado que la actividad va incrementando poco a poco por la mañana hasta llegar a su pico cerca del mediodía y bajando en la tarde (Özbek 1976).

En este estudio se encontró que algunas especies prefieren un morfo, como *Ashmeadiella* sp., *Augochlorella* sp., *Ceratina* sp., *Lithurgus* sp. que prefirieron el morfo amarillo, mientras que *B. sonorus*, *Listrus* sp. y *Ancistrocerus* sp. al anaranjado. También se encontró que la producción de néctar en *O. streptacantha* sucede durante toda la vida de la flor en ambos morfos, comenzando desde el momento que empiezan a abrir las flores. En ambos morfos el pico de producción máxima de néctar es a las 14:00 h, y la producción máxima de néctar coincide con la apertura floral máxima, también en ambos morfos florales. Estos resultados son consistentes con lo reportado en otras especies del género. La producción de néctar desde las primeras horas de apertura de las flores es común en algunas especies de *Opuntia* en las islas Galápagos, donde el néctar se encuentra disponible una hora después de la apertura floral (Grant & Grant 1981).

La producción de néctar difiere entre morfos florales, el morfo amarillo produce una mayor cantidad (0.72 μ L) respecto al anaranjado (0.43 μ L). Las distintas especies de nopales

acumulan diferentes cantidades de néctar en las flores. Por ejemplo, en *O. rastrea* se registró un total de 0.39 μL (Mandujano *et al.* 1996), similar a nuestro estudio. En una población dioica de *O. robusta*, se registró una producción de néctar mucho mayor que en este trabajo, 5.5 μL en las flores femeninas y 2.08 μL en las masculinas (Bravo-Correa 2021). Algunas especies de nopales aparentemente no producen néctar (Reyes-Agüero *et al.* 2006). Es probable que la diferencia de néctar sea influida por los patrones de actividad que presentan cada uno de los visitantes en cada morfo floral (López-Portillo *et al.* 1993) más que por las frecuencias de visitas.

Otra posible explicación a la variación en atributos florales, en particular sobre la producción del néctar, pero posiblemente también sobre los patrones de coloración, es el efecto que tiene la densidad de la población sobre la producción de néctar en las especies. Por ejemplo, Klinkhamer & van der Lugt (2004) demostraron en un estudio con abejorros forrajeando en *Echium vulgare* (Boraginaceae) que la densidad poblacional de las plantas tiene un efecto sobre la tasa de producción de néctar debido a: 1) El esfuerzo o habilidad de los polinizadores para reconocer y recordar las plantas puede ser mayor en poblaciones más densas, pero menor en poblaciones más dispersas, por lo que en poblaciones densas, los individuos no son seleccionados para producir una gran cantidad de néctar para asegurar la revisita por parte de los visitantes y 2) El vuelo entre plantas en una población densa será menor, por lo que el gasto energético será de menor impacto para conseguir una recompensa más rápida y en menor cantidad. Es posible que la producción de frutos en los morfos florales pueda estar relacionada con la inversión en la producción de néctar, lo cual podría aumentar la variabilidad entre flores y, consecuentemente, las visitas (Klinkhamer & van der Lugt 2004)

Se encontró un desfase de una hora en el pico de apertura de los morfos flores, siendo el morfo floral anaranjado el que llega a su pico una hora antes que el amarillo. El horario de apertura y de mayor apertura de las flores de nopales tiene una amplia variación. Algunas especies pueden abrir sus flores desde temprano, como en el caso de *O. rastrera* en el Desierto Chihuahuense donde abren las flores a las 8:00 h y presenta su mayor apertura a las 12:00 h (Mandujano *et al.* 1996). Las especies de *Opuntia* en las Galápagos suelen abrir sus flores de 9:00 h a 13:00 h y después estar activas por 24:00 h o incluso pueden abrir un

segundo día (Grant & Grant 1981), mientras que en *O. polyacantha* al sur de Colorado las flores no tienen un patrón de apertura claro, ya que pueden abrir por la mañana o por la tarde y cerrar en la noche y abrir un siguiente día (Osborn *et al.* 1988).

En los morfos florales, únicamente el morfo floral amarillo abrió sus flores un segundo día. La apertura de la flor en un segundo día es común en varias especies de *Opuntia*, como mencionamos arriba en las Galápagos, y, por ejemplo, en *O. ficus-indica*, *O. robusta* y *O. phaeacantha* (Rosas & Pimienta 1986; del Castillo & González 1988; Osborn *et al.* 1988). Es posible que estas diferencias en la apertura se deban a la cantidad de luz que necesitan como estímulo para empezar la apertura de las flores y a las necesidades bióticas como una buena polinización por parte de los visitantes florales. Es probable que una nula o mala polinización estimule a las flores de los nopales para abrir en una segunda ocasión.

Es importante resaltar que el morfo floral amarillo presenta una apertura floral mayor que el morfo anaranjado. Esto puede deberse a la morfología de ambos, ya que el morfo amarillo presenta flores de mayor tamaño, en específico en los segmentos del perianto (Manzanarez-Villasana 2020), lo cual puede estar relacionado con esta diferencia.

A pesar de que no son idénticos los visitantes, ni la apertura floral o la producción de néctar, durante las horas de mayor actividad de visitantes, se da la mayor producción de néctar y la mayor apertura de la flor para cada morfo floral, reforzando la idea de que la apertura de las flores, así como la producción del néctar funcionan como atrayentes y recompensas florales, respectivamente (Fenster *et al.* 2004; Brandenburg *et al.* 2009; Golubov & Mandujano 2009).

Reflectancia de luz UV

La reflectancia de luz UV, ha sido estudiada en algunas cactáceas, como *Echinocereus viridiflorus*, donde se detectó reflectancia de luz UV en las flores que eran verde amarillosas y rojas (Leuck & Miller 1982), y en *Peniocereus greggii*, con flores blancas, donde la reflectancia de UV fue baja (Raguso 2003). En general, las flores amarillas y blancas son las que generalmente presentan un contraste mayor en la reflectancia de luz UV (Utech & Kawano 1975) y se ha reportado reflectancia en flores en muchas monocotiledóneas y

dicotiledóneas, encontrando usualmente reflectancia en toda la flor o reflectancia en estructuras específicas en la base de la corola y en estructuras reproductivas, en particular en los estambres se ha reportado patrones con mayor reflectancia UV, el cual podría funcionar para atraer insectos.

Ambos morfos florales presentaron una alta reflectancia de luz UV. Esta se puede detectar en toda la flor, pero es más notoria en las anteras y en la zona entre anteras y en la parte interior de los segmentos del perianto (parte adaxial basal de los tépalos internos). Este es el primer registro de reflectancia de luz UV para el género *Opuntia* y es probable que otras especies del género también la presenten, ya suelen presentar cantidades relativamente grandes de glucósidos de flavonol en las flores del género (Clark & Parfitt 1980; Clark *et al.* 1980). Estos compuestos pueden concentrarse en la superficie en células epidérmicas papiladas, las cuales funcionan para la absorción de luz UV en la superficie de los pétalos de la flores (Brehm & Krell 1975).

La luz UV se ha asociado con la detección y discriminación de las flores por diferentes grupos de polinizadores. Gracias a esta reflectancia, los polinizadores pueden identificar patrones de UV de las flores y/o contrastar la reflectancia de otras zonas como la de hojas o el mismo suelo (Chittka *et al.* 1994; Buckovac *et al.* 2017; Koski & Ashman 2014; Napoleone *et al.* 2022). Se ha encontrado que hay una correlación positiva entre la frecuencia de visitas por insectos y la reflectancia UV (Rae & Vamosi 2013; Fornoff *et al.* 2017). En paisajes relativamente homogéneos en color, como lo son las zonas desérticas y semiáridas, la reflectancia de luz UV podría jugar un papel fundamental para la atracción de visitantes y el flujo genético entre especies vegetales (Fornoff *et al.* 2017).

El morfo anaranjado presenta mayor reflectancia en las anteras, en la zona entre anteras, y en la parte interior de los segmentos del perianto (parte adaxial basal de los tépalos internos), lo cual puede ser producto del arreglo de los segmentos florales. Ambos morfos florales presentan flores actinomorfas, pero el arreglo espacial de las anteras parece ser diferente entre los morfos, lo cual podría provocar que la reflectancia sea mayor en el morfo anaranjado. Está documentado que estructuras complejas pueden alterar el color final de las flores y tener un efecto en la atracción de ciertos visitantes (Glover 2014).

El morfo amarillo presentó mayor reflectancia en la parte interior de los segmentos del perianto (parte adaxial media de los tépalos internos) en comparación al morfo anaranjado, una explicación plausible podría estar vinculada a la composición de las células cónico-papiliformes, estas células son exclusivas de los pétalos de las flores (Glover 2014) y por ejemplo Kay *et al.* (1981) encontraron que 79% de la superficie de las flores estudiadas presentaban dichas células. Estas células juegan un papel importante en muchos ámbitos, pero principalmente en la reflectancia de luz UV en los pétalos de las flores (Glover 2014), ya que, dependiendo el arreglo y la posición de ésta, la reflectancia de UV se verá afectada. Otro papel que juega estas células es en la textura de las flores, misma que puede beneficiar a los visitantes, por ejemplo, al incrementar su agarre a las flores (Glover 2014). Se ha demostrado que las abejas pueden asociar la textura de las flores con la presencia de recompensas florales, y que las abejas preferirán visitar aquellas flores que tienen esta textura (Kevan & Lane 1985). Que el morfo floral amarillo presente más reflectancia de luz UV en los segmentos del perianto en comparación al morfo floral anaranjado podría ser una estrategia para atraer una mayor cantidad de polinizadores.

El color de las flores

El color de la flor se considera un atrayente de polinizadores, pero también puede indicar la toxicidad de ciertas estructuras (Glover 2014). El color de la flor ayuda a los polinizadores a discriminar de manera más sencilla la flor en el entorno verde y apagado del paisaje (Kevan *et al.* 1996; Glover 2014). Pero el color de las flores no es estático y puede cambiar, por ejemplo, como respuesta a la actividad de polinizadores y a cambios en la disponibilidad de néctar (Glover 2014). *Viola cornuta* cambia de blanco a purpura, como señal de una baja en la disponibilidad de néctar y/o la receptividad de la flor (Farzad *et al.* 2002). En *Opuntia streptacantha* se observó una variación en el color a lo largo de la vida de la flor, en donde el tono que tiene va volviéndose menos vibrante e intenso (observación personal), como ha sido reportado en *Desmodium setigerum* (Fabaceae), que presenta cambios de tonos lilas a turquesas en 24 h (Willmer *et al.* 2009). Es probable que en los nopales exista un cambio de coloración de las flores como señal de disponibilidad de recursos para los visitantes, pero no ha sido corroborado.

El morfo floral amarillo presentó un mayor número de tonos de colores, en comparación al morfo floral anaranjado. Esto puede deberse al tipo de pigmento que esté produciendo cada morfo floral para el tono de la flor. En las flores, el color se debe a pigmentos que absorben parte del espectro visible de luz, y únicamente reflejan el que no es absorbido, provocando así el color (Glover 2014). Estos pigmentos son principalmente flavonoides, carotenoides y betalainas (Glover 2014). De los 76 tonos encontrados en ambos morfos, 42 tonos son compartidos. El morfo floral amarillo presenta más tonos que el anaranjado. Es posible que la diversidad de tonos presentes en el morfo amarillo se deba a un número mayor de pigmentos, pero habría que realizar estudios encaminados a caracterizar los pigmentos florales de ambos morfos, ya sea con aproximaciones de cromatografía o HPLC (cromatografía líquida de alta eficacia). Esto permitiría evaluar si el morfo anaranjado debe su coloración a mayores cantidades de licopeno, como se ha observado en otros sistemas (Glover 2014). O si el morfo amarillo debe su coloración a mayores cantidades de xantofila oxidada (Glover 2014). La variación de colores amarillos en *Tagetes erecta* (Asteraceae) está correlacionada con la cantidad de xantofila y carotenoides (Moehs *et al.* 2001).

Ambos morfos florales presentaron una gran diversidad de tonos en cada una de las estructuras florales, destacando el interior de los segmentos del perianto del morfo floral amarillo, tal vez mediada por la cantidad de flavonoides. Se ha documentado que, variaciones en el grado de hidroxilación de los flavonoides puede generar una paleta más amplia de tonos amarillo (Glover 2014). Además de un estudio de los compuestos de pigmentos de cada morfo floral, para explorar las posibles razones evolutivas de este polimorfismo, es necesario tomar en cuenta el papel que juega el constante movimiento de polen entre morfos y posiblemente entre especies de nopales que cohabitan como un posible detonante evolutiva de esta variación. La elección de los polinizadores entre las flores puede tener repercusiones en la evolución de las plantas (Chittka & Raine 2006), por ejemplo, en *Caladenia fulva* (Orchidaceae), se ha sugerido que su diversidad en coloración es resultado de hibridación con *C. reticulata* (Orchidaceae) (Basist *et al.* 2021), una única modificación genética puede ser suficiente para influir en los polinizadores (Miller *et al.* 2011) y, por consiguiente, la dispersión del polen.

Patrones de distribución espacial y propagación clonal

El patrón de distribución espacial en *Opuntia streptacantha* fue agregado. En cactáceas, como en la mayor parte de las plantas, este patrón es el más común (Hopkins 1954, Godínez-Álvarez *et al.* 2003), y en esta familia se ha reportado en *Ferocactus histrix* (Huerta & Escobar 1998; Meza-Rangel *et al.* 2014), *Ariocarpus trigonus* (Martínez *et al.* 1993) y *Astrophytum ornatum* (Zepeda *et al.* 2017). En particular en *Opuntia*, se han descrito patrones de distribución agregados o aleatorios en *O. robusta* (Varela-Trujillo 2023) y en *O. echinos* var. *gigantea* (Hicks & Mauchamp 1999), respectivamente. En una población dioica de *O. robusta* se presentó un patrón de distribución agregado para cada sexo (Varela-Trujillo 2023). La presencia de estos patrones de distribución es reflejo tanto de la distribución heterogénea de los recursos (Godínez-Álvarez *et al.* 2003) como de la dispersión de semillas, o en el caso específico de los nopales, de su propagación clonal.

La densidad poblacional de *O. streptacantha* fue de 54.93 individuos/hectárea (un individuo cada 183 m²); para el morfo amarillo fue 16 individuos/hectárea (un individuo cada 630 m²) y para el morfo anaranjado fue más baja, de 12.46 individuos/hectárea (un individuo cada 802 m²). Los nopales suelen tener densidades poblacionales mucho más elevadas, por ejemplo, *O. streptacantha* con 596 individuos/hectárea, *O. leucotricha*, 112 individuos/hectárea y *O. cantabrigiensis*, 23 individuos/hectárea. (Muñoz-Urías *et al.* 2008).

La densidad poblacional es producto tanto de las tasas de fecundidad y natalidad, como del establecimiento y sobrevivencia de semillas y plántulas, juveniles y adultos, los cuales son afectados por factores bióticos y abióticos (Godínez-Álvarez *et al.* 2003; Krebs 2014). También debe considerarse la propagación clonal, la cual es común en *Opuntia*, como se ha descrito en *O. rastrera* (Mandujano *et al.* 2001), en *O. microdasys* (Piña *et al.* 2007) y en *O. echinos* (Hicks & Mauchamp 1999). La propagación clonal tiene un efecto sobre la ecología de poblaciones, la genética y los sistemas de apareamiento y de cruce (Mandujano *et al.* 2010). En el caso específico de la densidad, la clonalidad puede influir en el patrón espacial que vemos en las poblaciones silvestres de nopales. Keeler & Tenhumberg (2011) reportaron que en *O. macrorhiza* el reclutamiento de nuevos individuos de forma vegetativa fue más común que el reclutamiento de nuevos individuos por semillas, teniendo una

distancia promedio de 14.08 cm respecto a la planta madre, lo cual favorece el agrupamiento de la población.

Flujo de polen e hibridación

Los morfos florales se encontraron estadísticamente en una proporción 1:1, lo cual puede influir en el flujo de polen entre los morfos florales. Se registró movimiento de polen entre los morfos florales, que también es influido por la densidad de plantas y la fenología, que, aunque presenta un desfase en el pico de floración de un mes, es posible observar flores de un morfo cuando el otro está floreciendo (Manzanarez-Villasana 2020).

La sincronía y fenología floral no sólo son similares entre morfos florales, también están altamente sincronizadas con otras especies de nopales en el sitio de estudio, como es el caso de *O. tomentosa* (Martínez-Ramos 2019), lo cual convierte la red de flujo de polen aún más compleja y da paso a la posible hibridación entre las especies. Considerando las diferencias morfológicas y fenológicas descritas para ambos morfos florales (Manzanarez-Villasana 2020), es posible que uno de los morfos florales sea producto de una hibridación. La hibridación en *Opuntia* es muy común y se han descrito gran cantidad de híbridos a partir de la morfología y/o de polinizaciones manuales, por ejemplo, *O. cochineria* x *O. robusta*, o *O. robusta* x *O. streptacantha* (Orea 1986; Trujillo & González 1991, Datos citogenéticos modernos, usando técnicas moleculares sofisticadas, junto con datos genómicos finos y análisis de genómica de poblaciones detallados son pasos fundamentales para determinar el posible origen híbrido de algunas especies. Por ejemplo, Parfitt (1980) demostró con métodos citogenéticos, que *O. curvospina* ($n = 22$) era de origen híbrido debido a los niveles de ploidía intermedios que presenta respecto a *O. chlorotica* ($n = 11$) y *O. phaeacantha* ($n = 33$).

Perspectivas del estudio de *Opuntia streptacantha*

Futuros trabajos con *Opuntia streptacantha* y sus morfos florales podrían estar enfocados en el estudio de su genómica de poblaciones, considerando individuos de los diferentes morfos florales de distintas poblaciones, lo cual será un paso central para determinar el origen de los morfos florales, junto con estudios de distribución y modelación de nicho de ambos morfos,

y evaluar si las diferencias morfológicas y ecológicas se encuentran en más poblaciones que la estudiada. Además de llevar a cabo estos análisis con especies geográficamente cercanas, con el propósito de identificar posibles orígenes híbridos de alguno de los morfos florales.

Examinar el flujo génico tanto dentro como entre morfos florales y correlacionarlo con la variación en atributos florales, utilizando análisis de paternidad y marcadores genéticos precisos. Otros aspectos interesantes por evaluar serían: la relación que existe entre la reflectancia de luz ultravioleta y la frecuencia de visitas en el tiempo; evaluar si los rasgos fenotípicos y ecológicos de las especies de nopales que cohabitan con *O. streptacantha* tienen un efecto sobre el tipo de interacción que presentan; determinar si existe una variación intraindividual de néctar y colores en las flores en los morfos florales la cual se vea reflejada en la red generalista que estos presentan; analizar la concentración del néctar y los tipos de azúcares presentes en cada morfo floral; verificar la ausencia de apomixis en la especie mediante la confirmación de la no ocurrencia de singamia, empleando métodos de crecimiento de tubo polínico y mediante experimentos de visitas únicas, analizar si las abejas del género *Diadasia* son los principales polinizadores de la especie en la zona y explorar la posible coevolución con el género *Opuntia*.

Conclusiones

- *Opuntia streptacantha* y sus morfos de colores florales presentan un sistema de cruce mixto, son autocompatibles y polinizadas por abejas, siendo similar a lo reportado en la literatura para el género.
- Los experimentos de polinización controlada muestran que no hay un efecto marcado del tipo de polen (i.e., flujo de polen experimental) que reciben las flores de los distintos morfos florales y pueden formar frutos y semillas al recibir polen intra o intermorfotipo.
- El movimiento de polen intermorfotipo es abundante, mostrando una distancia media de 15 m entre y dentro de los dos morfos florales, aunque también hay geitonogamia (polinización entre diferentes flores de un mismo individuo) de forma natural.
- Ambos morfos florales tienen una alta reflectancia de luz UV, especialmente en sus anteras y en la zona entre anteras y parte interior de los segmentos del perianto (parte adaxial basal de los tépalos internos), lo cual podría ser una señal para que los polinizadores identifiquen que flores presentan aún recompensas.
- Aparentemente las principales recompensas y atrayentes para el morfo floral amarillo son el néctar y la apertura floral, respectivamente, mientras que para el morfo floral anaranjado, son el polen y la reflectancia a la luz UV, respectivamente.
- La composición de la red de visitantes florales para ambos morfos florales es generalista, siendo los principales visitantes las abejas, similar a lo reportado para otras especies del *Opuntia*.
- Las horas de mayor actividad de visitantes florales corresponde con los momentos de mayor producción de néctar y de mayor apertura de la flor para cada morfo floral, sugiriendo que estas características son importantes para los visitantes.
- El morfo floral amarillo presentó un mayor número de tonos de colores, posiblemente debido a diferencias químicas en los pigmentos de cada tipo de flor.
- *Opuntia streptacantha* y sus morfos florales tienen en la localidad estudiada una densidad poblacional alta y un patrón de distribución agregado, patrón común para las opuntias.

Referencias

- Agostinelli, C. & U. Lund. (2022). R package “circular”: Circular Statistics (version 0.4-95). URL: <https://r-forge.r-project.org/projects/circular/>
- Agresti, A. (2007). *An Introduction to Categorical Data Analysis*, 2nd ed. New York: John Wiley & Sons. Page 38.
- Aguado, D., C. Gutiérrez-Chacón & M.C. Muñoz. (2019). Estructura funcional y patrones de especialización en las relaciones planta-polinizador de un agroecosistema en el valle del cauca, Colombia. *Acta biológica colombiana* 24(2): 331-342.
- Anderson, E.F. (2001). *The Cactus Family* Timber Press. Portland, Oregon. Usa. Pp. 776.
- Arias, S., H. Arreola., M. Cházaro., C. Gómez-Hinostrosa., H.M. Hernández & T. Terrazas. (2017). *Opuntia streptacantha* (amended version of 2013 assessment). The IUCN Red List of Threatened Species 2017.
- Arias, S., S. Gama-López., L.U. Guzmán-Cruz & B. Vázquez-Benítez. (2012). *Cactaceae* Juss. En: *Flora del valle de Tehuacán-Cuicatlán fascículo 95* R. Medina-Lemos (ed.). Instituto de Biología. Universidad Nacional Autónoma de México. Pp. 213-216.
- Arizmendi, M. de C. & J.F. Ornelas. (1990). Hummingbirds and Their Floral Resources in a Tropical Dry Forest in Mexico. *Biotropica*. 22(2): 172 -180.
- Armbruster, W.S., C.B. Fenster. & M.R. Dudash. (2000). Pollination “principles” revisited: specialization, pollination syndromes, and the evolution of flowers. *Det Norske Videnskaps-Akademi. I. Matematisk Naturvidenskapelige Klasse, Skrifter, Ny Serie*. 39:179-200.
- Barrales-Alcalá, D, I.G. Carrillo-Angeles. & J. Golubov. (2012). Nota sobre *Cotinis mutabilis* (Coleóptera: Scarabaeidae) alimentándose de frutos de *Opuntia robusta* (Cactaceae) en Cadereyta, Querétaro, México. *Cactáceas y Suculentas Mexicanas* 57(3): 86-91
- Barrett, S.C.H. & J. Hough. (2013). Sexual dimorphism in flowering plants. *Journal of Experimental Botany* 64:67-82.
- Barrett, S.C.H. (2002). The evolution of plant sexual diversity. *Nature Reviews Genetics* 3:274-284.
- Barrett, S.C.H. (2003). Mating strategies in flowering plants: the outcrossing-selfing paradigm and beyond. *Philosophical transactions of the Royal Society* 358: 991-1004.
- Bascompte, J., P. Jordano. & J.M. Olesen. (2006). Asymmetric coevolutionary networks facilitate biodiversity maintenance. *Science* 312:431-433.
- Basist, G., A.G. Dyer., J.E. Garcia., R.E. Raleigh. & A.C. Lawrie. (2021) Why Variation in Flower Color May Help Reproductive Success in the Endangered Australian Orchid *Caladenia fulva*. *Frontiers in Plant Science* 12: 599874. doi: 10.3389/fpls.2021.599874.

- Bauer, A.A., M.K. Calyton & J. Brunet. (2017). Floral traits influencing plant attractiveness to three bee species: Consequences for plant reproductive success. *American Journal of Botany* 104:772-781.
- Blüthgen, N. (2010). Why network analysis is often disconnected from community ecology: A critique and an ecologist's guide. *Basic and Applied Ecology* 11(3): 185-195.
- Bolker, B.M. (2008). *Ecological Models and Data in R*. Princeton University Press.
- Brandenburg, A., A. D. Olivo, R. Bshary. & C. Kuhlemeier (2009). The Sweetest Thing. Advances in Nectar Research. *Current Opinion in Plant Biology* 12:486-490.
- Bravo-Correa, M.P. (2021). Efecto del dioicismo en la fenología y la biología reproductiva de *Opuntia robusta* J.C. Wendl (Cactaceae), en Cadereyta de Montes, Querétaro, México. Tesis de licenciatura. Facultad de Ciencias-UNAM, Ciudad de México, México.
- Bravo-Hollis, H. & H. Sánchez-Mejorada (1978). *Las cactáceas de México vol. 1* Universidad Nacional Autónoma de México, México D.F.
- Brehm, B.G. & D. Krell. (1975). Flavonoid localization in epidermal papillae of flower petals: A specialized adaptation for ultraviolet absorption. *Science* 190(4220):1221-1223.
- Buckovac, Z., M. Shrestha, J.E. Garcia., M. Burd., A. Dorin. & A.G. Dyer. (2017) Why background color matters to bees and flowers. *Journal of Comparative Physiology A* 203(5): 369–380
- Burd, M. (1994). Bateman's principle and plant reproduction: The role of pollen limitation in fruit and seed set. *The Botanical Review* 60: 83-139.
- Campbell, D.R., M. Bischoff., J.M. Lord. & A.W. Robertson. (2010). Flower color influences insect visitation in alpine New Zealand. *Ecology* 91: 2638-2649.
- Canuto, J.Z., A. Alves-Pereira & M.C. Cortes. (2014). Genética nos estudos com polinização. En: Rech AR, Agostini K, Oliveira PE, Machado IC. (eds.) *Biologia da polinização. Rio de Janeiro, Projeto cultural* p. 439-460.
- Cardoso, J.C.F., M.L. Viana, R. Matias., M.T. Furtado., A.P.S. Caetano., H. Consolaro. & V.L.G. Brito. (2018). Towards a unified terminology for angiosperm reproductive systems. *Acta Botanica Brasilica* 32(3): 329–348.
- Carrillo-Ángeles, I.G. & M.C. Mandujano. (2011). Patrones de distribución espacial en plantas clonales. *Boletín de la Sociedad Botánica de México* 89:1-18.
- Charlesworth, D. (2006). Evolution of plant breeding systems. *Current Biology* 16:726-735.
- Chittka, L. (1997). Bee colour vision is optimal for coding flower colours, but flower colours are not optimal for being coded why? *Israel Journal of Plant Sciences* 45:115-127
- Chittka, L., & N.E. Raine. (2006). Recognition of flowers by pollinators. *Current Opinion in Plant Biology* 9: 428-435.
- Chittka, L., A. Shimada., N. Troje. & R. Menzel. (1994). Ultraviolet as a component of flower reflections, and the color perception of hymenopter. *Vision Research* 34(11): 1489-1508.

- Chittka, L., A.G. Dyer., F. Bock & A. Dornhaus. (2003). Bees trade off foraging speed for accuracy. *Nature* 424:388.
- Chittka, L., N.M. Waser. & J.D. Thomson. (1999). Flower constancy insect psychology, and plant evolution. *Naturwissenschaften* 86:313-339.
- Clark, W.D. & B.D. Parfitt. (1980). The flower flavonoids of *Opuntia* series *Opuntia*. *Phytochemistry* 19:1856-1857.
- Clark, W.D., G.K. Brown. & R.L. Mays. (1980). Flower flavonoids of *Opuntia* series *Cylindropuntia*. *Phytochemistry* 19:2042-2043.
- Combes, S.A. & R. Dudley. (2009). Turbulence-driven instabilities limit insect flight performance. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 106(22):9105-9108.
- Crane, P.R., E.M. Friis & K. R. Pedersen. (1995). The origin and early diversification of angiosperms. *Nature* 37:27-33.
- Crawley, M.J. (2015) *Statistics : an Introduction Using R* / Michael J. Crawley (Imperial College of London, UK), Second edition, John Wiley & Sons, Ltd, Chichester, West Sussex, Print
- Cruden, R.W. & R.M. Lloyd. (1995). Embryophytes have equivalent sexual phenotypes and breeding systems: why not a common terminology to describe them? *American Journal of Botany* 82:816-825.
- Cruden, R.W. (1977). Polen/ovule ratios: a conservative indicator of breeding systems in flowering plants. *Evolution* 31:32-46.
- Dafni, A. (1992). *Pollination ecology: A practical approach*. Oxford. Oxford University Press.
- Dáttilo, W., P.R. Guimaraes & T.J. e Izzo. (2013). Spatial structure of ant-plant mutualistic networks. *Oikos* 122(11): 1643-1648.
- Dehling, D.M. (2018). The Structure of Ecological Networks. En: Dáttilo, W., Rico-Gray, V. (eds) *Ecological Networks in the Tropics*. Springer, Cham. https://doi.org/10.1007/978-3-319-68228-0_3
- del Castillo, R.F. & E.M. González. (1988). Una interpretación evolutiva del polimorfismo sexual de *Opuntia robusta* (Cactaceae). *Agrociencia* 71:185-196.
- del Castillo, R.F. (1986). La selección natural de los sistemas de cruzamiento en *Opuntia robusta*. Tesis de Maestría. Colegio de Postgraduados, Montecillo. 133pp.
- del Castillo, R.F. (1999). Exploración preliminar sobre los sistemas de cruzamiento en *Opuntia*. En: Aguirre. R.J.R., Reyes-Agüero, J.A. (Eds). *Memoria del VIII Congreso Nacional y III Internacional sobre el Conocimiento y Aprovechamiento del Nopal*. Universidad Autónoma de San Luis Potosí, San Luis Potosí, pp. 360-389.
- Díaz, L. & A.A. Cocucci. (2003). Functional gynodioecious in *Opuntia quimilo* (Cactaceae), a tree cactus pollinated by bees and hummingbirds. *Plant Biology* 5: 531-539.

- Díaz-Infante, S., C. Lara. & M. de C. Arizmendi. (2020). Temporal dynamics of the hummingbird-plant interaction network of a dry forest in Chamela, Mexico: a 30-year follow-up after two hurricanes. *PeerJ* 8: e8338
- Dormann, C. (2011). How to be a specialist? Quantifying specialization in pollination networks. *Network Biology* 1: 1-20.
- Dormann, C.F., B. Gruber & J. Fruend (2008). Introducing the bipartite Package: Analyzing Ecological Networks. *R news* Vol 8/2, 8 - 11.
- Dormann, C.F., J. Fruend, N. Bluethgen & B. Gruber. (2009). Indices, graphs, and null models: analyzing bipartite ecological networks. *The Open Ecology Journal* 2: 7-24.
- Dyer, A.G., H.M. Whitney, S. Arnold, B.J. Glover & L. Chittka. (2006). Bees associate warmth with floral colour. *Nature* 442:525.
- Essenberg, C.J. (2012). Explaining variation in the effect of floral density on pollinator visitation. *The American Naturalist* 180:153-166.
- Farzad, M., R. Griesbach & M.R. Weiss. (2002). Floral colour change in *Viola cornuta* L. (Violaceae): a model system to study regulation of anthocyanin production. *Plant Science* 162:225-231.
- Fenster, C.B., W.S. Armbruster, P. Wilson, M.R. Dudash & J.D. Thomson. (2004). Pollination syndromes and floral specialization. *Annual Review of Ecology and Systematics* 35:375-403.
- Ferrer, M.M. & S.V. Good. (2012). Self-sterility in flowering plants: preventing self-fertilization increases Family diversification rates. *Annals of Botany* 110:535-553.
- Fornoff, F., A.M. Klein, F. Hartig, G Benadi., C. Venjakob, H.M. Schaefer & A. Ebeling (2017) Functional flower traits and their diversity drive pollinator visitation. *Oikos* 126(7): 1020–1030.
- Friedman, J. & S.C.H. Barrett. (2009). Wind of change: new insights on the ecology and evolution of pollination and mating in wind-pollinated plants. *Annals of Botany* 103: 1515-1527
- Galicia-Pérez, A. (2013). Estudios sobre los sistemas de autoincompatibilidad presentes en *Opuntia tomentosa* Salm-Dick Cactaceae. Tesis de maestría. Universidad Autónoma Metropolitana Ciudad de México. México.
- García, A.M. & B.E. Pimienta. (1996). Cytological evidence of agamospermy in *Opuntia* (Cactaceae). *Haseltonia (Iowa)*. 4:39-42
- García, E. (2004). Modificaciones al sistema de clasificación climática de köppen. 5th ed. Instituto de Geografía, UNAM, México.
- García-Naranjo, A. & M.C. Mandujano. (2010). Patrón de distribución espacial y nodricismo del peyote (*Lophophora williamsii*) en Cuatro ciénegas, México. *Cactáceas y Suculentas Mexicanas*. 55:36-55.

- Gigord, L.D.B., M.R. Macnair & A. Smithson. (2001). Negative frequency-dependent selection maintains a dramatic flower color polymorphism in the rewardless orchid *Dactylorhiza sambuchina* (L.). *Proceedings of the National Academy of Science* 98: 6253-6255.
- Giurfa, M. (2004). Conditioning procedure and color discrimination in the honeybee *Apis mellifera*. *Naturwissenschaften* 91(5):228-231
- Glover, B.J. (2014). *Understanding flowers and flowering: an integrated approach*. Oxford University Press, Second edition.
- Godin, V.N & E.I. Demyanova. (2013). About extent of gynodioecy in Angiosperms. *Botanicheskii Zhurnal* 98:1465-1487.
- Godínez-Álvarez, H., T. Valverde & P. Ortega-Baes. (2003). Demographic trends in the Cactaceae. *The Botanical Review* 69:173-201.
- Golubov, J. & M.C. Mandujano (2009). ¿Por qué los polinizadores visitan a las flores? *Casa del tiempo* 21: 39-41.
- Golubov, J., M.C. Mandujano & F. Mandujano (2005) Diversidad alfa y beta en *Opuntia* y *Agave*. En: *Sobre Diversidad Biológica: El significado de las Diversidades Alfa, Beta y Gamma* Halffter G., Soberón J., Koleff P. and Melic A. (eds.). CONABIO. México. 221-230.
- Gómez-Otamendi, E., Y. Ortiz-Arteaga, E.S. Ávila-Gómez, G. Pérez-Toledo, J. Valenzuela & C.E. Moreno. (2018). Diversidad de hormigas epigeas en cultivos de nopal tunero (*Opuntia albicarpa*) y matorrales de *Opuntia* spp. del estado de Hidalgo, México. *Revista Mexicana de Biodiversidad* 89: 454- 465.
- Goodwillie, C. & J.J. Weber. (2018). The best of both worlds? A review of delayed selfing in flowering plants. *American Journal of Botany* 105: 641-655.
- Grant, B.R., & P.R. Grant, (1981). Exploitation of *Opuntia* cactus by birds on The Galapagos. *Oecologia* 49:179-187.
- Grant, V. (1949). Pollination systems as isolating mechanisms in angiosperms. *Evolution* 3:82-97
- Grant, V., K.A. Grant & P.D. Hurd Jr. (1979). Pollination of *Opuntia lindheimeri* and related species. *Plant Systematics and Evolution* 132: 313-320.
- Grindeland, J.M., N. Sletvold & R.A. Ims. (2005). Effects of floral display size and plant density on pollinator visitation rate in a natural population of *Digitalis purpurea*. *Functional Ecology* 19(3): 383-390.
- Guerrero-Eloisa, O.S., J. Golubov., M.C. Mandujano & P.L. Valverde. (2023). The reproductive traits that contribute to the invasive success of Mediterranean onionweed (*Asphodelus fistulosus*). *Plant Ecology and Evolution* 156(2): 201-214.
- Gumbert, A. J. Kunze & L. Chittka. (1999). Floral colour diversity in plant communities, bee colour space and a null model. *Biological Sciences* 266(1429): 1711-1726.

- Harden, L.D. & S.C.H. Barrett. (1993). Pollen removal from tristylous *Pontederia cordata* effects of anther position and pollinator specialization. *Ecology* 74:1059-1072
- Harden, L.D. & S.C.H. Barrett. (1996). Pollen dispersal and mating patterns in animal-pollinated plants. En; D.G. Lloyd & S.C.H. Barrett (Eds.). *Floral biology: studies on floral evolution in animal-pollinated plants*. Chapman and Hall. New York, New York, USA.
- Heilbut, J. (2000). Lower species richness in dioecious clades. *The American Naturalist* 156:221-241.
- Heinrich, B. (1979). *Bumblebee economics*. Cambridge, MA. Harvard University Press.
- Hennessy, G, C. Harris, L. Pirot, A. Lefter, D. Goulson, & F.L.W. Ratnieks. (2021). Wind slows play: increasing wind speed reduces flower visiting rate in honeybees. *Animal Behaviour* 178: 87–93.
- Hicks, D. & A. Mauchamp. (1999). Population structure and growth patterns of *Opuntia echios* var. *gigantea* along an elevation gradient in the Galápagos Islands. *Biotropica* 32:235-243.
- Holmquist, K.G., R.J. Mitchells & J.D. Karron. (2012). Influence of pollinator grooming on pollen-mediated gene dispersal in *Mimulus ringens* (Phrymaceae). *Plant Species Biology* 27:77-85.
- Hopkins, B. (1954). A new method of determining the type of distribution of plant individuals. *Annals of Botany* 18: 213-227.
- Huerta, F. M. & V. E. Escobar. (1998). Estatus ecológico actual de *Ferocactus hystrix* (DC) Lindsay en los Llanos de Ojuelos, Jalisco-Zacatecas. *Cactáceas y Suculentas Mexicanas* 43: 57-64.
- Hunt, D.R., N. Taylor. & G. Charles (2006). *The New Cactus Lexicon. 2 vols.* DH Press. Milborne Port.
- INAFED. H. Ayuntamiento de Cadereyta de Montes. Enciclopedia de los municipios y delegaciones de México: Estado de Querétaro de Arteaga. Cadereyta de Montes. <http://siglo.inafed.gob.mx/enciclopedia/EMM22queretaro/municipios/22004a.html>
- Jong, T.J. & P.G.L. Klinkhamer (2005). *Evolutionary ecology of plant reproductive strategies*. New York, Cambridge University Press.
- Jong, T.J., A. Shmida & F. Thuijsman. (2008). Sex allocation in plants and the evolution of monoecy. *Evolutionary Ecology Research* 10:1087-1109.
- Jordano, P. (1987). Patterns of mutualistic interactions in pollination and seed dispersal: conectance, dependece asymmetries and coevolution. *American Naturalist* 129: 657-677.
- Jordano, P. (2016). Sampling networks of ecological interactions. *Functional Ecology* 30:1883-1893.
- Junker, R.R., N. Bluthgen, T. Brehm. J. Binkenstein, J. Paulus., H.M. Schaefer. & M. Stang. (2013). Specialization on traits as basis for the niche-breadth of flower visitors and as structuring mechanism of ecological networks. *Functional Ecology* 27:329-341
- Kaczorowski, R.L. G. Blumenfeld. A. Koplovich. & S. Markman. (2014). Color and side preferences in Palestine sunbirds (*Nectarinia osea*) *Israel Journal of Ecology & Evolution* 60:35-40.

- Käfer, H., G.A. Marais. & J.R. Pannell. (2017). On the rarity of dioecy in flowering plants. *Molecular Ecology* 26:1225-1241
- Kay, Q.O.N., H.S. Daoud, & C.H. Stirton. (1981). Pigment distribution, light reflection, and cell structure in petals. *Botanical Journal of the Linnean Society* 83: 57–84.
- Kearns, C.A. & D.W. Inouye. (1993). *Techniques for Pollination Biologist*. University Press of Colorado. EUA.
- Keeler, K.H. & B. Tenhumberg. (2011). Population Dynamics of the Western Prickly Pear, *Opuntia macrorhiza* (Cactaceae). *The Southwestern Naturalist* 56(2):147-153.
- Kevan, P. G., & M.A. Lane. (1985). Flower petal microtexture is a tactile cue for bees. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA* 82:4750–4752.
- Kevan, P., M. Giurfa & L. Chittka. (1996). Why are there so many and so few white flowers? *Trends in Plant Science* 1:280-284.
- Klinkhamer, P.G. & van der Lugt. P.P. (2004). Pollinator service only depends on nectar production rates in sparse populations. *Oecologia* 140: 491-494.
- Koski, M.H. & T.L. Ashman. (2013) Quantitative variation, heritability, and trait correlations for ultraviolet floral traits in *Argentina anserina* (Rosaceae): Implications for floral evolution. *International Journal of Plant Sciences* 174: 1109–1120
- Krebs, C.J. (2014). *Ecology: The Experimental Analysis of Distribution and Abundance*. San Francisco, CA: Pearson Benjamin Cummings.
- Lachenaud, P., D. Paulin, M. Ducamp & J.M. Thevenin. (2007). Twenty years of agronomic evaluation of wild cocoa trees (*Theobroma cacao* L.) from French Guiana. *Scientia Horticulturae* 113: 313-321.
- Larson, B.M.H. & S.C.H. Barrett. (2000). A comparative analysis of pollen limitation in flowering plants. *Biological Journal of the Linnean Society* 69(4): 503-520
- Lehmann, C.H. (1993). *Geometria analítica* (1ª. Ed., 1ª. Reimp.). México: Limusa/Noriega editores.
- Lemaire, C. (1839) *Cactearum Genera Nova Speciesque Novae* 62.
- Lenth, R. (2023). `_emmeans: Estimated Marginal Means, aka Least-Squares Means_`. R package version 1.8.6. <<https://CRAN.R-project.org/package=emmeans>>.
- Leuck, E.E. & J.M. Miller. (1982). Pollination biology and chemotaxonomy of the *Echinocereus viridiflorus* complex (Cactaceae). *American Journal of Botany* 69(10):1669-1672.
- Levin, D.A. & H.W. Kerster. (1969). The dependence of bee-mediated pollen and gene dispersal upon plant density. *Evolution* 23(4): 560-571
- Lewis, D. (1942). The evolution of sex in flowering plants. *Biological Reviews* 17:46-67.

- Li, J.L., W.J. Peng, J. Wu, J.D. An, Z.B. Guo., Y.M. Tong., & J.X. Huang. (2006). Strawberry pollination by *Bombus lucorum* and *Apis mellifera* in greenhouses. *Acta Entomologica Sinica* 49(2):342-348.
- Linsley, E.G. (1978). Temporal Patterns of Flower Visitation by Solitary Bees, with Particular Reference to the Southwestern United States. *Journal of the Kansas Entomological Society* 51(4): 531-546.
- Liu, W., Y. Wang, Q. Chen & S. Yu. (2013). Pollination of invasive *Eichhornia crassipes* (Pontederiaceae) by the introduced honeybee (*Apis mellifera* L.) in South China. *Plant Systematics and Evolution* 299:817-825.
- Lloyd, D.G. (1992). Self- and Cross-Fertilization in Plants II. The Selection of Self- Fertilization. *International Journal of Plant Sciences* 153:370-380
- López, L. J. Márquez-Guzmán, & G. Munguia. (2005) Técnicas para el estudio del desarrollo en angiospermas. Facultad de Ciencias. UNAM. México.
- López-González, J. L., J. M. Fuentes-Rodríguez. & A. Rodríguez-Gómez (1997). Industrialización de la tuna cardona (*Opuntia streptacantha*) Journal of the Professional Association for Cactus Development 2: 169-175.
- López-Portillo, J., L.E. Eguiarte., & C. Montaña. (1993). Nectar les honey mesquites. *Functional Ecology* 7:452-461.
- Maldonado, M., J. Fornoni., K. Boege., R. Pérez-Ishiwara., R. Santos-Gally & C.A. Domínguez. (2023). The role of within-plant variation in nectar production: an experimental approach. *Annals of Botany* 132: 95-105.
- Mandujano, M.C, I. Carrillo-Ángeles, C. Martínez-Peralta & J. Golubov (2010). Reproductive Biology of Cactaceae. En: *Desert Plants: Biology and biotechnology* K.G. Ramawat (ed.). Springer-Verlag. Berlin, Heidelberg.
- Mandujano, M.C. L. Plasencia-López, G. Aguilar-Morales., G Jiménez-Guzmán, A. Galicia-Pérez, M. Rojas-Aréchiga & C. Martínez-Peralta. (2014). Sistema sexual de *Opuntia tomentosa* Salm-Dyck (Cactaceae, Opuntioideae) en un pedregal de origen volcánico. *Cactáceas y Suculentas Mexicanas* 59(4):100-120.
- Mandujano, M.C., C. Montaña & L. Eguiarte (1996). Reproductive Ecology and inbreeding depression in *Opuntia rastrera* (Cactaceae) in the Chihuahuan desert: why are sexually derived recruitments so rare. *American Journal of Botany* 83:63-70.
- Mandujano, M.C., C. Montaña, M. Franco. J. Golubov. & A. Flores-Martínez. (2001). Integration of demographic annual variability in a clonal desert cactus. *Ecology* 82:344-359.
- Manzanarez-Villasana G., Morales-Martínez G. and Mandujano M.C. (2022). Superposición de la mancha urbana en la distribución de *Opuntia* s.s de México. *Cactáceas y suculentas de México* 67(2):36-54.

- Manzanarez-Villasana, G. (2020). Variación morfológica y algunos aspectos de la ecología de la polinización en los morfos florales en *Opuntia streptacantha* Lem. (Cactaceae). Tesis de licenciatura. Facultad de Ciencias-unam, Ciudad de México, México.
- Martínez, J. G, H. Suzán & C. A. Salazar. (1993). Aspectos ecológicos y demográficos de *Ariocarpus trigonus* (Weber) Schumann. *Cactáceas y Suculentas Mexicanas* 38: 30-38.
- Martínez-Ramos, L.M. (2016). Flujo de polen de *Opuntia tomentosa* Salm-Dick en Cadereyta de Montes, Querétaro, México Tesis de licenciatura. Facultad de Ciencias-unam, Ciudad de México, México.
- Martínez-Ramos, L.M. (2019). Flujo polínico y su efecto en el éxito reproductivo de *Opuntia tomentosa* Tesis de maestría. Instituto de ecología-UNAM, Ciudad de México, México.
- Matias-Palafox, Ma. L. (2007). Estructura poblacional y biología reproductiva de *Turbinicarpus horripilus* (Lem.) Vác. John & Riha (Cactaceae). Tesis de maestría. Universidad Autónoma Metropolitana. México, D.F.
- Melendez-Ackerman, E. & D.R. Campbell. (1998). Adaptive significance of flower color and inter-trait correlations in an ipomopsis hybrid zone. *Evolution* 52:1293-1303.
- Mena-Montoya, M., L.C. García-Cruzatty, E. Cuenca-Cuenca, L.D Vera-Pinargote, R. Villamar-Torres & S. M. Jazeyeri. (2020). Pollen Flow of *Theobroma cacao* and its relationship with climatic factors in the central zone of the Ecuadorian littoral. *Bioagro* 32(1): 39-48.
- Mendoza, I. 2020. Estadística circular aplicada a la Ecología. *Ecosistemas* 29(2):1995. <https://doi.org/10.7818/ECOS.1995>
- Menzel, R & A. Shmida. (1993). The ecology of flower colour and the natural colour vision of insect pollinators: the Israeli flora as a study case. *Biological Reviews* 68:81-120
- Menzel, R. U. Greggers & M. Gammer. (1993). Functional organization of appetitive learning and memory in a generalist pollinator, the honeybee. En: *Insect learning*. D.R. Papaj & A.C. Lewis. (Eds), New York. Chapman & Hall.
- Meza-Rangel, E., F. Tafoya, R. Lindig-Cisneros, J.J. Sigala-Rodríguez & E. Pérez-Molphe-Balch. (2014). Distribución actual y potencial de las cactáceas *Ferocactus histrix*, *Mammillaria bombycina* y *M. perezdelarosae* en el estado de Aguascalientes, México. *Acta botánica Mexicana* 108:67-80.
- Michener, C.D. & C.W. Rettenmeyer. (1956). The ethology of *Andrena erythronii* with comparative data on other species (Hymenoptera, Andrenidae). *University of Kansas Science Bulletin* 37:645-684.
- Miller, R., S.J. Owens & B. Rørslett. (2011). Plants and colour: Flowers and pollination. *Optics & Laser Technology* 43:282-294
- Mitchell, C.H. & P.K. Diggle. (2005). The evolution of unisexual flowers: morphological and functional convergence results from diverse developmental transitions. *American Journal of Botany* 92:1068- 1076.

- Moehs, C.P., L. Tian, K.W. Osteryoung & D. DellaPenna. (2001). Analysis of carotenoid biosynthetic gene expression during marigold petal development. *Plant Molecular Biology* 45:281-293.
- Mondragón, J.C. (2001). Verification of the apomictic origin of cactus pear (*Opuntia* spp. Cactaceae) seedling of open pollinated and cross from Central Mexico. *Journal of the Professional Association for Cactus Development* 4: 49-56.
- Munguía-Soto, E.O. (2016). Facilitación en la polinización por abejas especialistas y generalistas del semidesierto queretano Tesis de Maestría. Universidad Autónoma de México, Unidad Iztapalapa, Ciudad de México, México.
- Muñoz-Urias, A., G. Palomino-Hasbach., T. Terrazas., A. García-Velázquez & E. Pimienta-Barrios (2008). Variación anatómica y morfológica en especies y entre poblaciones de *Opuntia* en la porción sur del Desierto Chihuahuense. *Boletín de la Sociedad Botánica de México* 83: 1-11.
- Napoleone, F., D. Manzini. & S. Burrascano. (2022). How to measure flower ultraviolet reflectance using digital photography. *Applied Vegetation Science* e12648.
- Nerd, A. & Y. Mizrahi (1995). Reproductive biology En: *Cultivation and Uses of Cactus Pear* G. Barbera., P. Inglese. & E. Primienta-Barrios. (eds.). FAO, Roma. Pp. 79-58.
- Newman, M.E. & M. Girvan (2004). Finding and evaluating community structure in networks. *Physical review E* 69(2), 026113.
- Newman, M.E. (2006). Modularity and community structure in networks. *Proceedings of The National Academy of Sciences of The United States of America* 103: 8577—8582.
- Olesen, J.M., J. Bascompte, Y.L. Dupont & P. Jordano (2007). The modularity of pollination networks. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA* 104:19891-19896.
- Oliveira, P.S., V. Rico-Gray, C. Díaz-Castelazo & C. Castillo-Guevara. (1999). Interaction between ants, extrafloral nectaries and insect herbivores in Neotropical coastal sand dunes: herbivore deterrence by visiting ants increases fruit set in *Opuntia stricta* (Cactaceae). *Functional Ecology* 13:623-631.
- Orea, R.T. (1986). Variación morfológica de *Opuntia* spp. en nopaleras silvestres del suroeste del Desierto Chihuahuense. Tesis de licenciatura. Universidad Autónoma de San Luis Potosí, San Luis Potosí. 90pp.
- Ortiz-Martínez, L.E., R. del Castillo & M.C. Mandujano. (2022). Variability in mating strategies in a widespread cactus in the Chihuahuan Desert. *Nordic Journal of Botany* E03806.
- Osborn, M.M., P.G. Kevan & M.A. Lane. (1988). Pollination biology in *Opuntia polycantha* and *Opuntia phaeacantha* (Cactaceae) in southern Colorado. *Plant Systematics and Evolution* 159: 85-94.
- Özbek, H. (1976). Pollinator bees on alfalfa in the Erzurum Region of Turkey. *Journal of Apicultural Research* 15:145-148.

- Papiorek, S., R.R. Junker, I. Alves-dos-Santos, G.A.R. Melo, L.P.Amaral-Neto, M. Sazima, M. Wolowski, L. Freitas & K. Lunau (2016), Bees, birds, and yellow flowers: pollinator-dependent convergent evolution of UV patterns. *Plant Biology* 18: 46-55.
- Parfitt, B.C. (1980). Origin of *Opuntia curvospina* (Cactaceae). *Systematic Botany* 5: 408-418.
- Pérez-Tejada C.D. & J.R. Pérez (2013). La biología de la polinización En: Biología de Angiospermas J. Márquez, M. Collazo, M. Martínez, A. Orozco & S. Vázquez (eds.). UNAM. CDMX. Pp. 101-105.
- Pimienta, B.E. (1990). El Nopal Tunero. Universidad de Guadalajara, Guadalajara. 246 pp.
- Piña, H., C. Montaña. & M.C. Mandujano. (2007). Fruit abortion in the Chihuahuan-Desert endemic cactus *Opuntia microdasys*. *Plant Ecology* 193:305–313.
- Poisot, T., E. Canard, N. Mouquet & M.E. Hochberg (2012). A comparative study of ecological specialization estimators. *Methods in Ecology and Evolution* 3(3): 537-544.
- Primack, R.B. (1982). Ultraviolet Patterns in Flowers, or Flowers as Viewed by Insects. *Arnoldia* 42(3): 139-146.
- Proctor, M., P. Yeo & A. Lack (1996). The Natural History of Pollination. Timber Press, Portland, OR.
- R Core Team. (2022). R: A Language and Environment for Statistical Computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria, URL <http://www.r-project.org>.
- Rae, J.M. & J.C. Vamosi. (2013) Ultraviolet reflectance mediates pollinator visitation in *Mimulus guttatus*. *Plant Species Biology* 28(3): 177–184.
- Raguso, R. A. (2004). Flowers as sensory billboards: progress towards an integrated understanding of floral advertisement. *Current Opinion in Plant Biology* 7:434-440.
- Raguso, R.A. (2003). Trumpet flowers of the Sonoran Desert: Floral biology of *Peniocereus* cacti and sacred Datura. *International Journal of Plant Sciences* 164(6):877-892.
- Ramírez, N. & Y. Brito. (1990). Reproductive biology of a tropical palm swamp community in the Venezuelan Llanos. *American Journal of Botany* 77:1260-1271.
- Ramírez-Barahona, S., S. Hervé. & S. Magallón. (2020). The delayed and geographically heterogeneous diversification of flowering plant families. *Nature ecology & evolution* 4: 1232-1238.
- Renner, S.S. & R.E. Ricklefs. (1995). Dioecy and its correlates in the flowering plants. *American Journal of Botany* 82: 596-606.
- Reyes-Aguero, J.A., J. Aguirre. & A. Valiente-Banuet (2006). Reproductive biology of *Opuntia*: a review. *Arid Environmental* 64: 549-585.

- Reyes-Agüero, J.A., J.R. Aguirre., J. Rogelio. & J.L. Flores (2005). Variación morfológica de *Opuntia* (Cactaceae) en relación con su domesticación en la altiplanicie meridional de México. *Interciencia* 30: 476-484
- Reyes-Tovar. J.M. (2019). Efecto de la biología reproductiva sobre la dinámica poblacional de *Echinocereus pentalophus* en el estado de Querétaro, México. Tesis de maestría. Instituto de ecología-UNAM, Ciudad de México, México.
- Richards, A.J. (1997). *Plant breeding systems*. 2nd. edn. London, Chapman & Hall.
- Rosas, C. & E. Pimienta (1986). Polinización y fase progámica en nopal (*Opuntia ficus-indica* (L.) Miller) *Tunero fitotecnia* 8: 164-176.
- Santos, G.M.D.M., C.M. Aguiar. J. Genini., C.F. Martins, F.C. Zanella & M.A. Mello (2012). Invasive africanized honeybees change the structure of native pollination networks in Brazil. *Biological Invasions* 14(11): 2369-2378.
- Sauquet, H., M. von Balthazar, S. Magallón, J.A. Doyle, P.K. Endress, E.J. Bailes, E. Barroso de Morais, K. Bull-Hereñu, L. Carrive, M. Chartier, G. Chomicki, M. Coiro, R. Cornette, J.H.L. El Ottra, C. Epicoco, C.S.P. Foster, F. Jabbour, A. Haevermans, T. Haevermans, R. Hernández, S.A. Little, S. Löfstrand, J.A. Luna, J. Massoni, S. Nadot, S. Pamperl, C. Prieu, E. Reyes, P. dos Santos, K.M. Schoonderwoerd, S. Sontag, A. Soulebeau, Y. Staedler, G.F. Tschan, A. Wing-Sze Leung & J. Schönenberger. (2017). The ancestral flower of angiosperms and its early diversification. *Nature Communications* 8:16047.
- Schemske, D.W. & R. Lande. (1985). The evolution of self-fertilization and inbreeding depression in plants. II. Empirical observations. *Evolution*, 39(1):41-52.
- Schumann, K. (1899). *Gesamtbeschreibung der Kakteen (Monographia Cactacearum)*. — Neudamm: J. Neumann.
- Silvertown, J. & D. Charlesworth. (2001). *Introduction to plant population biology*. Oxford/ Malden, Blackwell Science.
- Simpson, M.G. (2006). *Plant systematics*. Butlington, Elsevier Academic Press.
- Sipes, S.D. & V.J. Tepedino. (2005). Pollen-host specificity and evolutionary patterns of host switching in a clade of specialist bees (Apoidea: *Diadasia*). *Biological Journal of the Linnean Society* 86(4): 487-505.
- Soltis, D., P. Soltis, P. Endress, M. Chase, S. Manchester, W. Judd, L. Majure & E. Mavrodiev. (2018). *Phylogeny and evolution of the angiosperms: revised and updated edition*. Chicago, University of Chicago Press
- Soltis, P. S., & D. E. Soltis. (2004). The Origin and Diversification of Angiosperms. *American Journal of Botany* 91: 1614–1626.
- Stebbins, G.L. (1970). Adaptive radiation of reproductive characteristics in angiosperms. I: Pollination mechanisms. *Annual Review of Ecology and Systematics* 1:307-326.

- Stephens, R.E., R.V. Gallagher., L. Dun. W. Cornwell & H. Sauquet. (2023). Insect pollination for most of angiosperm evolutionary history. *New Phytologist* 240:880-891.
- Stiles, F.G. (1976). Taste preferences, color preference and flower choice in hummingbirds. *Condor* 78:10-26.
- Strozinski, Sarah. (2001). Effects of plant size and flower color on the reproductive success of *Pleurothallis sanchoi* (Orchidaceae). *Tropical Ecology and Conservation*. 482.
- Thébault, E (2013). Identifying compartments in presence–absence matrices and bipartite networks: insights into modularity measures. *Journal of Biogeography* 40:759–768.
- Thompson, J.D. (2001). How do visitation patterns vary among pollinators in relation to floral display and floral design in generalist pollination system? *Oecologia* 126:386-394
- Tonsor, S.J. (1985). Intrapopulation variation in pollen-mediated gene flow in *Plantago lanceolata* L. *Evolution* 39(4): 775-782.
- Torres-Ponce, R.L., D. Morales-Corral., M.D.L. Ballinas-Casarrubias. & G.V. Nevárez-Moorillón (2015). El nopal: planta del semi-desierto con aplicaciones en farmacia, alimentos y nutrición animal. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas* 6(5): 1129-1142.
- Trujillo, A.S. & E.M. González. (1991). Hibridación, aislamiento y formas de reproducción en *Opuntia* spp. *Agrociencia* 1: 39-58.
- Utech, F.H. & S. Kawano. (1975). Spectral Polymorphisms in Angiosperms Flowers Determined by Differential Ultraviolet Reflectance. *Botanical Magazine, Tokyo*. 88: 9-30.
- van der Niet, T., R. Peakall. & S.D. Johnson. (2014). Pollinator-driven ecological speciation in plants: new evidence and future perspectives. *Annals of Botany* 113: 199-212.
- Varela-Trujillo, Y.Y. (2023). Efecto del vecindario reproductivo y proporción sexual en la adecuación de *Opuntia robusta* J.C. Wendl (Cactaceae), en Cadereyta de Montes, Querétaro, México. Tesis de licenciatura. Facultad de Ciencias-unam, Ciudad de México, México.
- Vicens, N. & J. Bosch. (2000). Weather-dependent pollinator activity in an apple orchard, with special reference to *Osmia cornuta* and *Apis mellifera* (Hymenoptera: Megachillidae and Apidae). *Environmental Entomology*. 29(3): 413-420.
- Villaseñor, J. L., & E. Ortiz (2014). Biodiversidad de las plantas con flores (División Magnoliophyta) en México. *Revista Mexicana de Biodiversidad* 85: 134–142.
- Waser, N.M. (1983). The adaptive nature of floral traits: ideas and evidence. En: *Pollination biology* L.A. Real (ed). New York, Academic Press.
- Webb, C.J. & D.G. Loyd (1986). The avoidance of interference between the presentation of pollen and stigmas in angiosperms II. Herkogamy. *New Zealand Journal of Botany*. 24:163-178.
- Wickham H, R. François., L. Henry., K. Müller & D. Vaughan. (2023). `_dplyr: A Grammar of Data Manipulation_`. R package version 1.1.2, <<https://CRAN.R-project.org/package=dplyr>>.

- Williamson, M.H. & A. Fitter. (1996). The characters of successful invaders. *Biological Conservation* 78:163-170.
- Willmer, P., D. Stanley., K. Steijven, I. Matthews & C. Nuttman. (2009). Bidirectional flower color and shape changes allow a second opportunity for pollination. *Current Biology* 19:919-923.
- Wilson, P. & M. Stine. (1996). Floral constancy in bumble bees: handling efficiency or perceptual conditioning? *Oecologia* 106:493-499.
- Wolfe, L.M. & J.L. Krstolic. (1999). Floral symmetry and its influence on variance in flower size. *American Naturalist* 154:484-488.
- Wyatt, R. (1983). Pollination and Breeding System. En: *Pollination biology* L. Real (ed.). Academic Press, Orlando Florida, USA.
- Yang, L & H. Shuangquan. (2006). Adaptive advantages of gynomonocious species. *Acta Phytotaxonomica Sinica* 44: 231-239.
- Zar, J.H. (1999). *Biostatistical Analysis*. 4.^a ed. Prentice Hall, Upper Saddle River, NJ, Estados Unidos.
- Zepeda, V., J. Golubov. & M.C. Mandujano. (2017). Distribución espacial, estructura de tamaños y reproducción de *Astrophytum ornatum* (Cactaceae). *Acta Botánica Mexicana* 119: 35-49.