



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE MORELOS

FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS

**BIOLOGÍA FLORAL Y POLINIZADORES DE *Opuntia atropes* Rose
(CACTACEAE) EN TLAQUILTENANGO, MORELOS, MÉXICO.**

TESIS PROFESIONAL

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

B I O L O G O

P R E S E N T A:

PAOLA HILEM NAVA BERNABÉ

DIRECTORA

DRA. CONCEPCIÓN MARTÍNEZ PERALTA

CUERNAVACA, MORELOS

SEPTIEMBRE, 2021

Dedicatoria

A mi madre, por su amor, apoyo y comprensión a lo largo de mi vida, y sé que podré contar con ella siempre.

A mi padre, por estar siempre pendiente de mí y ser tan cariñoso.

A mi familia, por su apoyo y comprensión en todo momento.

A mis mejores amigos, por todos los momentos que hemos compartido juntos.

A Juan Pablo por ser el mejor compañero durante esta etapa de mi vida y apoyarme en todo momento.

Agradecimientos institucionales

A la Dra. Concepción Martínez Peralta, por ser mi directora de tesis y permitirme trabajar en este maravilloso proyecto, porque gracias a ella he aprendido bastante sobre la Ecología de la Polinización, gracias por brindarme todo el apoyo para realizar este trabajo.

A los miembros de mi comité sinodal: Dra. Alejandra Vázquez Lobo Yurén, M. en C. Adriana Gabriela Trejo Loyo, Dr. Eduardo Cuevas García, Dr. Raúl Ernesto Alcalá Martínez y Dra. Concepción Martínez Peralta, por su tiempo y conocimiento para la revisión y evaluación de este proyecto, por su orientación, sus consejos, comentarios y sugerencias, los cuales fueron gran aportación a este proyecto.

Al Laboratorio de Ecología de la Polinización perteneciente a la Escuela de Estudios Superiores del Jicarero, por prestar sus instalaciones, material de campo y laboratorio utilizado para realizar este proyecto.

A la Lic. en C. A. Victoria Cazares Soriano, por su apoyo en la búsqueda de los sitios de muestreo, por su ayuda para realizar los experimentos de este proyecto y sobre todo por brindarme las facilidades para realizar el trabajo de campo.

A la Lic. en C.A. Alondra Palma Bahena, por apoyarme en el trabajo de campo, y ser mi guía y apoyo en los experimentos de laboratorio, sobre todo para la disección de flores y conteo de granos de polen.

A Leonardo Hernández Bautista, por su ayuda en campo y apoyo para la identificación taxonómica de los visitantes florales.

A Héctor Armenta Gómez, por acompañarme a realizar el trabajo de campo, y ayudarme con la observación de los visitantes florales.

Agradecimientos a título personal

A mi madre, Leticia Peralta, por ser la persona que ha estado conmigo siempre, la persona que más amo, quien me ha apoyado toda mi vida, gracias por creer en mí. En los días en que madrugaba para ir campo, madrugaste conmigo; en mis días más difíciles me cuidaste y estuviste pendiente de mí, y permaneciste a mi lado en las noches de desvelo. También fuiste mi compañera de campo durante la pandemia, cuando temía no poder concluir este proyecto, me apoyaste y animaste e hiciste todo lo posible por ayudarme a terminar mis experimentos. Eres la mejor mamá, gracias.

A mi padre, Eddi Nava, porque a pesar de la distancia siempre te has preocupado por mí, me has apoyado muchísimo y confías en mí, gracias por esforzarte tanto por cuidarme. Muchos de mis logros son gracias a ti y a mi madre.

A mi hermano, Eder Jair, por siempre escucharme, porque aparte de ser mi familia, también eres un gran amigo, te agradezco por todos los momentos que hemos compartido.

A Jair Misael, mi primo, gracias por apoyarme en mi última salida a campo, tú y mi madre hicieron un excelente equipo, agradezco porque siempre has sido como mi segundo hermano.

Agradezco al resto de mi familia, especialmente a mi tía Mary y a mi tío Luis, quienes siempre han estado pendientes de mí, los considero como mi segunda madre y mi segundo padre, siempre procuran que nada me falte, nos han apoyado tanto a mi madre y a mí, gracias por animarme en cada paso que he dado durante mi formación académica, los quiero.

A Vicky, gracias por ser la mejor compañera de campo, por permitir que me quedará en tu casa en varias ocasiones, estar ahí cuando después de un día pesado en campo sentía que ya no podía, gracias por alegrarme con tus ocurrencias siempre y darme los mejores consejos, gracias por apoyarme tanto en campo como en laboratorio, por regañarme para que aprendiera a no olvidar mi material de campo, por aguantar las espinas de los nopales

conmigo y hacer todas las locuras que se nos ocurrían para quitárnoslas, eres una excelente amiga, y estoy muy feliz de haberte conocido.

A Alo, por darme tu apoyo en campo y en laboratorio, gracias por ser mi compañera de bromas y risas, por regañarme cada que se me hacía tarde, gracias a ti he mejorado con mi puntualidad, gracias por ayudarme a entender algunas cosas en las que tenía dificultad para realizar este proyecto y estar siempre pendiente de mí, es imposible no pasármela bien estando contigo, agradezco mucho tu amistad.

A Leo, por ser tan amigable conmigo siempre, porque cuando llegué al laboratorio sin conocer a nadie de Jicarero, no dudaste en acercarte, hacerme la plática y decirme que cualquier duda que tuviera me acercara a preguntarte, gracias por brindarme un poco de tus conocimientos sobre abejas y ayudarme con la identificación de mis muestras, eres un buen amigo y una de las personas más amables que he conocido.

A Héctor, por tenerme tanta paciencia en mis muestreos y en laboratorio, porque, aunque me tardaba horas en el microscopio, siempre me esperabas al igual que los demás para irnos salir juntos de laboratorio, agradezco mucho que cuando no conocía Jojutla, ni sabía llegar a Jicarero siempre me explicabas con fotos y mapas como hacerlo, gracias por no dejar que me perdiera, agradezco mucho tu amistad y todo el apoyo que me has brindado.

A Alejandro y Edher, quienes también me apoyaron en campo, gracias por su tiempo y su dedicación. A Goliat (mascota de Vicky), por ser nuestro guardián en cada salida a campo, por cuidarnos y estar siempre a nuestro lado hasta en los días más calurosos.

Agradezco a mis amigos de la Facultad de Ciencias Biológicas: Iván, Saúl, Daniel, Zurita, José, Diana, Betsy y Tony. Por los buenos y los malos momentos, porque con ustedes he compartido tantas aventuras que siempre recordaré, gracias por siempre creer que puedo lograr las cosas y animarme a hacerlas, gracias por las risas, los consejos, las charlas y los momentos de diversión, los quiero mucho.

A Juan Pablo, por estar conmigo en esta bella etapa, apoyar cada decisión que tomo, alegrar cada momento que pasamos juntos, por escucharme y darme siempre tus mejores consejos. Agradezco la paciencia que me tienes y gracias por tratar de que no dude de mi esfuerzo y dedicación en todo lo que hago. Te has convertido en una persona muy importante en mi vida, gracias por todo el cariño que me das y por estar para mí. Te aprecio mucho.

ÍNDICE TEMÁTICO

1. INTRODUCCIÓN.....	1
1.1. Angiospermas	1
1.2. Sistemas de reproducción sexual.....	4
1.3. Sistemas de cruza.....	5
1.4. Sistemas de apareamiento.....	5
1.5. Biología de la polinización	8
1.6. El género <i>Opuntia</i>	9
1.7. Biología floral del género <i>Opuntia</i>	11
1.8. Descripción de la especie	15
1.9. Tablas de colores de tejidos vegetales de Munsell.....	17
2. JUSTIFICACIÓN	18
3. OBJETIVOS.....	18
3.1. Objetivo general.....	17
3.2. Objetivos particulares	17
4. ÁREA DE ESTUDIO	18
4.1. Valle de Vázquez	19
4.2. Quilamula.....	19
4.3. San José de Pala.....	19
5. MATERIALES Y MÉTODOS.....	20
5.1. Periodo de floración y ciclo floral	20
5.2. Morfología floral	21
5.3. Sistemas de apareamiento.....	22
5.4. Sistemas de cruza.....	22
5.5. Polinizadores	24
6. RESULTADOS.....	25
6.1. Morfología floral.....	25
6.2. Periodo de floración y ciclo floral	30
6.3. Sistema de apareamiento	33

6.4. Sistema de cruza	33
6.5. Polinizadores.....	40
7. DISCUSIÓN.....	46
7.1. Periodo de floración y ciclo floral	46
7.2. Morfología floral.....	47
7.3. Sistema de apareamiento	50
7.4. Sistema de cruza	51
7.5. Polinizadores	52
8. CONCLUSIONES.....	55
9. LITERATURA CITADA.....	57

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. <i>Opuntia atropes</i> en la localidad de Valle de Vázquez, Morelos, México (A: Fruto, B: Cladodio, C: Flor)	16
Figura 2. Mapa satelital de los sitios de muestreo ubicados en Tlaquiltenango, Morelos.....	19
Figura 3. Sitios utilizados para el trabajo de campo. A. Valle de Vázquez; B. Quilamula; C. San José de Pala.....	20
Figura 4. Parámetros morfométricos medidos en flores disectadas de <i>Opuntia atropes</i>	21
Figura 5. Diámetro de apertura del perianto (mm \pm d.e.) a través del tiempo durante el ciclo floral de <i>O. atropes</i> (n=20) en Valle de Vázquez, Morelos.....	26
Figura 6. Diámetro del estigma (mm \pm d.e.) a través del tiempo durante el ciclo floral de <i>O. atropes</i> (n=20) en Valle de Vázquez, Morelos.....	27
Figura 7. Activación de las funciones de los verticilos sexuales en <i>Opuntia atropes</i>	27
Figura 8. Separación espacial de las longitudes de los órganos sexuales en las flores de <i>Opuntia atropes</i> de 20 flores colectadas en Valle de Vázquez en 2019.....	30
Figura 9. Variación en el color de las flores de <i>O. atropes</i> durante la antesis (n= 20 flores).....	31
Figura 10. Porcentaje de frutos formados en cada tratamiento de polinización realizados en <i>O. atropes</i>	36
Figura 11. Número de semillas (media \pm d.e.) formadas para cada tratamiento de polinización realizado en <i>O. atropes</i>	36
Figura 12. Largo de los frutos (media \pm d.e.) obtenidos en los tratamientos de polinización.....	37

Figura 13. Ancho de los frutos (media \pm d.e.) obtenidos en los tratamientos de polinización.....	38
Figura 14. Visitantes florales de <i>Opuntia atropes</i> en cada intervalo de observación, desde las 10:00 h hasta las 16:00 h ($n= 20$ flores).....	40
Figura 15. Visitantes florales de <i>Opuntia atropes</i> en Valle de Vázquez.....	40
Figura 16. Distribución del tiempo de visita de 11 especies de visitantes florales a <i>O. atropes</i>	44
Figura 17. Tiempo de manejo de los visitantes florales en <i>O. atropes</i> ($n= 20$) en 2019.....	45

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro 1. Sistemas de apareamiento determinados por la relación polen/ óvulos (Cruden, 1977).....	7
Cuadro 2. Valores asignados a las características florales para determinar el IE.....	7
Cuadro 3. Sistemas de apareamiento determinados por el IE y los puntajes asignados de acuerdo al tamaño de la flor, la hercogamia y la dicogamia (Cruden, 1977).....	8
Cuadro 4. Calendario de floración de <i>Opuntia atropes</i> en Valle de Vázquez, Tlaquiltenango.....	26
Cuadro 5. Parámetros morfométricos de flores de <i>Opuntia atropes</i> colectadas en Valle de Vázquez ($n = 20$).....	29
Cuadro 6. Éxito de frutos y semillas de los tratamientos de polinización realizados en <i>Opuntia atropes</i> durante los años 2019 y 2020.....	34
Cuadro 7. Contrastes ortogonales de la producción de frutos y semillas entre los tratamientos de polinización.....	35
Cuadro 8. Contrastes de la longitud de los frutos entre los tratamientos de polinización.....	37
Cuadro 9. Contrastes de la longitud de los frutos entre los tratamientos de polinización.....	38
Cuadro 10. Frecuencia absoluta y relativa de los polinizadores registrados en <i>Opuntia atropes</i> ($n=20$) en Valle de Vázquez, Tlaquiltenango en marzo del 2019.....	41
Cuadro 11. Frecuencia absoluta de los visitantes florales observados en <i>Opuntia atropes</i> en cada intervalo.....	42
Cuadro 12. Frecuencia de los visitantes florales de <i>Opuntia atropes</i> observados para cada tipo de comportamiento.....	43
Cuadro 13. Residuos ajustados que muestran que las categorías de comportamiento difieren significativamente.....	43

RESUMEN

La biología floral se encarga del estudio de la flor en aspectos como morfología, color, tamaño, ciclo de vida, sistemas de cruce, sistemas de apareamiento y las interacciones con los polinizadores. En este trabajo se estudió la biología floral de *Opuntia atropes* Rose, una cactácea endémica de México, en el municipio de Tlaquiltenango, Morelos. *O. atropes* es un recurso natural utilizado en las localidades de Tlaquiltenango, y representa un recurso floral para las abejas nativas de la selva baja caducifolia. Este proyecto permitirá ampliar el conocimiento sobre la forma de reproducción de esta especie y el papel que presenta como recurso para las abejas nativas. El objetivo fue registrar su periodo de floración, ciclo floral y los organismos que la polinizan, examinar sus medidas morfométricas, evaluar la relación polen/óvulos (P/O) y el índice de entrecruza (IE) para determinar el sistema de apareamiento, mientras que para determinar el sistema de cruce se realizaron tratamientos de polinización controlada.

O. atropes tiene una biología similar a la de otras plantas pertenecientes al mismo género. La floración de *O. atropes* inicia a finales de febrero y concluye en mayo, mientras que la fructificación inicia en mayo y concluye en julio. Las flores son diurnas, con longevidad de un día, su máxima apertura ocurre alrededor de las 12:00 h. Las flores son morfológicamente bisexuales, homógamas y presentan hercogamia.

Los estambres presentan sensibilidad tigmonástica. Durante la antesis, las flores de *O. atropes* variaron en color desde amarillo encendido hasta tonalidades naranjas y rosas.

Los visitantes más frecuentes son las abejas nativas de los géneros *Diadasia*, *Lithurgopsis* y de la familia Halictidae. El IE mostró que *O. atropes* presenta un sistema de apareamiento xenógamo obligado, mientras que la relación P/O indica que es xenógamo facultativo. Las polinizaciones controladas indican un sistema de entrecruza, lo que significa que los polinizadores son fundamentales para llevar a cabo su reproducción sexual.

1. INTRODUCCIÓN

1.1. Angiospermas

Las angiospermas comprenden a todas las plantas con flores y constituyen el grupo más exitoso y diverso dentro del reino Plantae debido a que cuentan con alrededor de 352 000 especies (Ollerton *et al.*, 2011). El término angiosperma viene del griego *angeion* = vaso y *sperma* = semilla, lo que hace referencia a que las semillas de estos organismos se encuentran encerradas dentro de varias capas de tejido (carpelo). Las angiospermas se clasifican dentro de la división Magnoliophyta y representan un grupo monofilético con características bien definidas como la presencia de flor, los óvulos contenidos en carpelos y la doble fecundación con la formación de endospermo, entre otras (Márquez-Guzmán *et al.*, 2013).

Este grupo está presente en el planeta desde principios del periodo Cretácico, hace unos 140 millones de años, aunque algunos sugieren que aparecieron desde mucho antes, al menos en el Jurásico (20-30 millones atrás) y desde entonces se han considerado como un grupo con gran importancia ecológica debido a que se encuentran prácticamente en todos los hábitats de la Tierra (Beck, 1976; Hughes, 1976; Retallack y Dilcher, 1981; Taylor, 1990; Takhtajan, 1991). El éxito de las angiospermas en la conquista del medio terrestre, ya iniciada mucho tiempo antes por las plantas vasculares, fue definitivamente logrado cuando se protegió la ovocélula en el interior del ovario de la flor. Desde su origen se han producido numerosos procesos de diferenciación durante la reorganización de los continentes, frecuentes variaciones climáticas y una activa interacción de las angiospermas con otros organismos (simbiontes, polinizadores, entre otros) (Vargas y Zardoya, 2012).

Las angiospermas tienen ciclo de vida con alternancia de generaciones, donde la generación esporofítica es la dominante mientras que la gametofítica se encuentra limitada. El esporofito genera dos tipos de esporas: microsporas y megasporas. Las microsporas se desarrollan dentro del microsporangio y posteriormente, por divisiones mitóticas forman el gametofito masculino o grano de polen. Por otro lado, las megasporas se desarrollan en el megasporangio y después de dividirse mitóticamente forman el gametofito femenino o saco embrionario. Los gametofitos crecen dentro de la misma flor, son microscópicos (formados por unas cuantas células) y son importantes para la reproducción sexual de las plantas (Márquez-Guzmán *et al.*, 2013).

El gametofito masculino o grano de polen generalmente contiene dos células espermáticas y una célula del tubo (célula vegetativa) cuando es liberado de la antera. En el estigma de la flor, el grano de polen se hidrata y germina alargando la célula del tubo hasta llegar al gametofito femenino, donde se liberan las células espermáticas y la fecundación ocurre (Márquez-Guzmán *et al.*, 2013).

La fecundación comienza cuando el tubo polínico deposita las células espermáticas en el gametofito femenino y una célula espermática fecunda a la célula huevo (ovocélula) y forma un cigoto; la otra célula espermática se fusiona con la célula central y da lugar al endospermo. Estos eventos constituyen la doble fecundación. El cigoto da lugar al embrión por divisiones mitóticas, éste permanece en reposo dentro de la pared protectora, junto al tejido de reserva, esperando las condiciones adecuadas para germinar (Raven *et al.*, 2013).

La reproducción es el mecanismo por el que las especies mantienen sus poblaciones a través de la formación de nuevos individuos (Palleiro *et al.*, 2006). En el caso de las angiospermas, pueden reproducirse a través de dos tipos de estrategias: sexual y asexual (Raven *et al.*, 2013). La reproducción *asexual* o también llamada reproducción vegetativa consiste en el desprendimiento de fragmentos de un individuo que pueden sobrevivir independientemente (Palleiro *et al.*, 2006) debido a que el individuo tiene la capacidad de desarrollar raíces adventicias por mitosis (Raven *et al.*, 2013). Este tipo de reproducción disminuye la variabilidad genética puesto que la reproducción asexual da lugar a organismos genéticamente iguales a su progenitor (Holsinger, 2000). La clonalidad puede conducir a la presencia de depresión endogámica, sin embargo ayuda a incorporar nuevos individuos a una población en un periodo de tiempo relativamente corto, garantizando la reproducción de la especie (Mandujano *et al.*, 2010).

La reproducción *sexual* involucra los procesos de meiosis en donde el número cromosómico es reducido de diploide ($2n$) a haploide (n) y la fertilización en donde los núcleos de los dos gametos se fusionan reestableciendo el número cromosómico de haploide a diploide (Raven *et al.*, 2013). Este tipo de reproducción permite la recombinación genética, generando un individuo genéticamente diferente a sus progenitores, lo que contribuye al mantenimiento de la variación genética, la cual está relacionada con la capacidad de adaptarse a nuevos ambientes o colonizar nuevos hábitats (Clark-Tapia y Molina-Freaner, 2004).

Las angiospermas poseen diversidad de estructuras reproductivas y un conjunto de sistemas sexuales y patrones de apareamiento (Barrett, 2015). La flor es la unidad estructural y funcional que caracteriza a las angiospermas, especializada en asegurar la reproducción sexual. En particular, está implicada en los fenómenos de polinización, fecundación y, por lo tanto, en todos los sucesos que conducen a la formación de semillas (Márquez-Guzmán *et al.*, 2013).

Una de las definiciones más aceptadas concibe a la flor como brote de crecimiento limitado, con nudos próximos unos de otros, que portan hojas transformadas en piezas florales. Las flores típicas presentan cuatro verticilos florales: cáliz, corola, androceo y gineceo. Las flores con los cuatro verticilos son flores completas o perfectas (Márquez-Guzmán *et al.*, 2013). El **cáliz** es el primer verticilo floral, externo y está constituido por el conjunto de sépalos, su función consiste en proteger a los tres verticilos restantes (corola, androceo y gineceo). Generalmente son verdes, aunque en algunos casos pueden aparecer coloreados (Márquez-Guzmán *et al.*, 2013). La **corola** es el segundo verticilo floral, está conformada por un conjunto de pétalos que generalmente son coloreados y forman la parte vistosa y llamativa de la flor. La función principal de los pétalos es la atracción de polinizadores. También protegen a los estambres y el gineceo, aunque en ocasiones producen néctar (Márquez-Guzmán *et al.*, 2013). El **androceo** es el tercer verticilo floral y está constituido por un conjunto de estambres y representa la parte de la flor donde se producen los gametos masculinos. La gran mayoría de los estambres constan de un filamento y una antera. Una antera típica contiene cuatro microsporangios o sacos polínicos, en los que se forman los granos de polen; el conjunto de dos sacos polínicos forma una teca o lóbulo (Márquez-Guzmán *et al.*, 2013). Por último, el conjunto de carpelos constituye el **gineceo**, la parte femenina de la flor, donde se producen los óvulos que contienen el gameto femenino. El gineceo es el verticilo floral más interno de la flor. Cada carpelo posee tres regiones: el estigma (zona receptora del polen), el estilo (región entre el ovario y el estigma) y el ovario que contiene los óvulos (Márquez-Guzmán *et al.*, 2013).

El estudio de la morfología floral ayuda a obtener información sobre el sistema reproductivo de la plantas, lo cual es un buen comienzo para el conocimiento de factores que determinen fases sucesivas dentro de su ciclo de vida (Mandujano *et al.*, 2010), para esto, la biología floral es la rama que se encarga del estudio de la flor y algunos de sus aspectos como

son: su estructura, diseño y funcionamiento; dentro de este estudio se incluye su morfología, ciclo de vida, sistemas de cruce, sistemas de apareamiento y las interacciones que presentan con los organismos que la visitan (Sprengel, 1793).

Uno de los procesos más importantes que permite la reproducción sexual en las angiospermas es la polinización, en la cual, la flor es la estructura fundamental, por lo que las flores necesitan cumplir algunas características que les faciliten la atracción de polinizadores (Olesen y Jordano, 2002).

1.2. Sistemas de reproducción sexual

El sistema reproductivo en plantas se refiere a la forma en que los órganos sexuales se posicionan, tanto morfológica como espacialmente y en algunas ocasiones, temporalmente, debido a que las angiospermas han desarrollado diversas estrategias para llevar a cabo su reproducción (Orozco-Arroyo y Vázquez-Santana, 2013).

Existen diversas formas de clasificar los sistemas reproductivos de las plantas, sin embargo, una de las más sencillas es dividirlos en monomórficos y polimórficos. Los sistemas monomórficos se caracterizan porque todos los individuos en una población presentan flores semejantes en cuanto a su expresión del sexo. Estos pueden tener exclusivamente flores bisexuales (individuos hermafroditas), pero también puede presentar flores unisexuales estaminadas y pistiladas (monoico) o individuos que presentan flores unisexuales mezcladas con flores bisexuales (ginomonoico, andromonoico y trimonoico). En cambio, en los sistemas polimórficos, los individuos sólo pueden tener un tipo de flor, de tal forma que para poder formar semillas se requieren al menos dos individuos. Las flores presentes en estos individuos pueden ser unisexuales estrictamente (estaminadas o pistiladas) formando sistemas dioicos; o bien, existir individuos bisexuales mezclados con unisexuales en una población (androdioico, ginodioico y trioico) (Bawa y Beach, 1981).

Cabe mencionar que el hermafroditismo es el sistema reproductivo predominante en las plantas con flores. Las flores funcionalmente bisexuales producen tanto granos de polen como óvulos y pueden ser homogámicas (que ambos verticilos sexuales maduren simultáneamente) o bien dicogámicas (que madure primero uno de ellos). En el hermafroditismo, el flujo de polen intra e interfloral podría darse mediante la autofecundación (autocruza) o polinización cruzada (entrecruza) (Márquez-Guzmán *et al.*, 2013).

1.3. Sistemas de cruza

Se denomina sistema de cruza a la forma en que los genes de una generación se transfieren a otra. En el caso de las angiospermas, hace referencia a los mecanismos por los que el grano de polen y el óvulo pueden fusionarse para formar las semillas (Richards, 1986).

Existen tres tipos de sistemas de cruza (Richards, 1986; Brown, 1990; Lloyd y Barret, 1996; Martínez-Peralta, 2007; Mandujano *et al.*, 2013; Percival, 2013): la **autocruza** o geitonogamia que ocurre cuando el grano de polen que fertiliza al óvulo proviene de la misma planta; en este sistema pueden haber dos tipos, la autogamia (el transporte del polen se lleva a cabo en la misma flor), y la geitonogamia (el transporte de polen se lleva a cabo en flores diferentes pero que se encuentran en el mismo individuo); la **entrecruza** o xenogamia, la cual se presenta cuando el óvulo es fecundado por el grano de polen que proviene de un individuo genéticamente diferente (alogamia); y por último el sistema **mixto**, en el cual se llevan a cabo los dos sistemas de cruza anteriores (entrecruza y autocruza).

1.4. Sistemas de apareamiento

Se entiende como sistema de apareamiento a las características morfológicas y a la función que cumplen los verticilos florales de las angiospermas.

Los sistemas de apareamiento pueden clasificarse en cinco tipos de acuerdo a la propuesta de Cruden (1977) que se basa en la morfología y el comportamiento de la flor. Este autor propone dos acercamientos al sistema de apareamiento, una es el cociente polen/óvulo (el número de granos de polen por cada óvulo de la flor, P/O) y el otro es el índice de entrecruza que se basa en la dicogamia, hercogamia y el tamaño de la flor. A partir de estos dos acercamientos, es posible asignar una especie a una de las siguientes categorías: **cleistógamo** cuando la fertilización ocurre en especies cuyas flores no abren; **autógamo obligado** cuando solo es posible la autofecundación; **autógamo facultativo** cuando el sistema predominante es el de autopolinización, pero también ocurre la entrecruza en algunos individuos; **xenógamo facultativo**, sistema en el que predomina la entrecruza, pero también puede presentarse la autocruza; y **xenógamo obligado**, en el cual sólo es posible la entrecruza (polinización cruzada).

Es importante mencionar que se considera a la autocruza una estrategia reproductiva que asegura la formación de semillas que garantizan la reproducción del individuo y la

transferencia del genotipo a la siguiente generación; sin embargo, esto también puede generar endogamia en la población, la cual provocaría un aumento de homocigosis. Algunas plantas presentan depresión por endogamia, la cual es la pérdida de adecuación de la progenie producto de cruza endogámicas comparada con la progenie producto de la entrecruza. Algunas variables afectadas por la depresión endogámica en plantas son el número de semillas, peso/tamaño, germinación, entre otras (Márquez-Guzmán *et al.*, 2013).

Por esta razón, las especies hermafroditas han evolucionado estrategias que limitan la autocruza, ya que la entrecruza les garantiza cierta variabilidad genética y un mejor desempeño. Esas estrategias incluyen la **hercogamia** que ocurre cuando la longitud u orientación de los estambres y del pistilo presentan diferencias; la **dicogamia** en donde los verticilos sexuales se desarrollan en diferente periodo de tiempo. Por último, la **autoincompatibilidad**, mecanismo genético que interviene y funciona disminuyendo la probabilidad de endogamia a través del reconocimiento y el rechazo de los granos de polen con los mismos alelos que la planta receptora (Busch y Shoen, 2008). Existen dos mecanismos de autoincompatibilidad, que son: la gametofítica y la esporofítica (Schierup *et al.*, 1997; Busch y Schoen, 2008; Raven, 2013). En el caso de la incompatibilidad de tipo gametofítica, es controlado por el *locus* multialélico *S*, el cual se encarga de impedir la fecundación entre individuos con alelos iguales (De Nettancourt, 1997).

El tipo de sistema de apareamiento de la especie se determina de manera indirecta con la estimación de la relación polen/óvulos (P/O) y mediante la estimación del índice de entrecruza. Cruden (1977) usó la **relación polen/óvulos**, para estimar el sistema de apareamiento, bajo el supuesto de que las especies autógamas no necesitan producir una gran cantidad de polen, mientras que las especies xenógamas sí lo requieren. Entonces indica que las flores con sistema cleistógamo deben tener los cocientes más bajos de P/O, siendo las flores autógamas facultativas y obligadas las que se encuentran con valores intermedios y, por último, con valores más elevados se encuentran las xenógamas facultativas y obligadas (Cuadro 1). Por otro lado, el **índice de entrecruza**, también abreviado como IE, toma en cuenta tres características morfológicas de la flor, el diámetro de la flor (mm), la hercogamia (diferencia de longitud entre las anteras y el estilo) y la dicogamia (la separación de tiempo entre la producción de polen de las anteras y la apertura del estigma), a cada uno de estos aspectos le asigna un valor que depende de la flor observada (Cruden, 1977). El Cuadro 2

explica el puntaje que se asigna de acuerdo al estado de las tres características florales que explican el índice de entrecruza.

Cuadro 1. Sistemas de apareamiento determinados por la relación de polen/óvulos. (Cruden, 1977).

Sistema de apareamiento	Relación P/O \pm desviación estándar
Cleistogamia	4.7 ± 0.7
Autogamia obligada	27.7 ± 3.1
Autogamia facultativa	168 ± 22.1
Xenogamia facultativa	796 ± 87.7
Xenogamia obligada	5859.2 ± 96.5

Cuadro 2. Valores asignados a las características florales para determinar el IE.

Característica floral	Resultado	Valor
Diámetro de la corola	< 1 mm	0
	1-2 mm	1
	2-6 mm	2
	> 6 mm	3
Hercogamia	Si	1
	No	0
Dicogamia	Homogamia o protoginia	0
	Protandria	1

Cuadro 3. Sistemas de apareamiento determinado por el IE y los puntajes asignados de acuerdo al tamaño de la flor, la hercogamia y la dicogamia (Cruden, 1977).

Sistema de apareamiento	IE
Cleistogamia	0
Autogamia obligada	1
Autogamia facultativa	2
Xenogamia facultativa	3
Xenogamia obligada	4

1.5. Biología de la polinización

Una de las diferencias más notables que existen entre las plantas y los animales es la capacidad de movimiento. La habilidad para desplazarse determina que la mayoría de los animales sean capaces de buscar alimento, escapar de los depredadores o conseguir pareja. En contraste, las plantas viven siempre en el sitio en el que germinó la semilla que le dio origen, por lo que, en el transcurso de la evolución, las plantas han evolucionado estrategias para lograr una transferencia exitosa de sus gametos (Booth *et al.*, 2010; Domínguez y Pérez-Ishiwara, 2013). Desde la época de Darwin, se ha considerado que el éxito evolutivo y ecológico de las angiospermas se asocia en gran medida con su eficiencia reproductiva, que incluye diversos mecanismos, entre ellos la polinización (Stebbins, 1970). Se ha analizado que la polinización de las plantas por los animales está asociada de manera correlativa con el éxito de las angiospermas y su diversificación (Crepet, 1983).

La polinización consiste en el transporte del grano de polen desde el estambre de una flor hasta el gineceo (de la misma o distinta flor). Es decir, acerca los gametos masculinos (dentro del grano de polen) hasta las proximidades de la parte femenina de la planta, en concreto hasta el estigma (Booth *et al.*, 2010; Domínguez y Pérez-Ishiwara, 2013).

Este proceso se puede llevar a cabo por vectores bióticos y vectores abióticos. La polinización por vectores abióticos es llevada a cabo sin la intervención de organismos vivos, algunos ejemplos de este tipo de polinización son la hidrofilia, donde el polen es transportado a través

del agua, y la anemofilia, donde el transporte del polen ocurre por viento (Scagel *et al.*, 1977). Mientras que, la polinización por vectores bióticos se lleva a cabo por animales, por ejemplo, escarabajos (cantarofilia), moscas (miofilia), abejas (melitofilia), mariposas nocturnas (falenofilia), mariposas diurnas (psicofilia), murciélagos (quiropterofilia) y aves (ornitofilia) (Pimienta- Barrios y del Castillo, 2002; Percival, 2013).

La morfología floral es una característica relevante para las plantas que dependen de animales como polinizadores. Dado que la mayoría de las plantas polinizadas por agentes bióticos se enfrentan al comportamiento generalista de los polinizadores, las flores muestran señales que sirven de atrayentes para gremios específicos de polinizadores como el color de los pétalos, guías de néctar, fragancias y por supuesto la morfología floral en su conjunto (Olesen y Jordano, 2002). A pesar de que estas características representan un costo para las plantas, se propone que el beneficio que obtienen en términos del éxito reproductivo es mayor (Galen, 1999; Thomson *et al.*, 2000).

Al conjunto de características florales relacionadas con la atracción de uno o más grupos particulares de polinizadores, se le llama síndrome de polinización (Fensteretal *et al.*, 2004). Como ejemplo, las flores rojas de corola tubular larga y estrecha así como abundante producción de néctar diluido corresponden con el síndrome de polinización por aves u ornitófilo. Por otro lado, las flores de color amarillo o azul-morado con labio ancho y tubos florales cortos, generalmente corresponden con el síndrome de polinización por abejas o melitófilo. Entonces, el concepto de síndrome de polinización se basa en la idea de que la morfología actual de las flores es el producto de su historia evolutiva con un grupo particular de polinizadores (Crepet, 1983).

1.6. El género *Opuntia*

La familia Cactaceae, nativa del continente americano, es una de las familias más distintivas y exitosas en América, incluye cerca de 98 géneros y aproximadamente 1600 especies (Barthlott y Hunt, 1993). En México, las cactáceas son un grupo representativo de las zonas áridas que actualmente presenta problemas serios de conservación debido a actividades antropogénicas, como son la sobreexplotación y el saqueo ilegal en todo el país, lo cual causa la disminución de las poblaciones de cactáceas; la destrucción de su hábitat por asentamientos humanos o bien la introducción de especies exóticas (Meza-Rangel *et al.*, 2014).

Las cactáceas presentan adaptaciones tanto en hábitos como en estructuras anatómicas que son altamente especializadas y les proporcionan una fisonomía particular. Entre las adaptaciones más notables destacan aquellas que les permiten almacenar agua en sus tejidos, como son el desarrollo de parénquimas especializados para mantener reserva de agua, la transformación de hojas en espinas, escamas y glóquidas y el engrosamiento de la cutícula (Bravo-Hollis, 1978).

Dentro de las cactáceas, el género *Opuntia* es el más diverso y ampliamente distribuido en América, con entre 191-215 especies (Anderson, 2001; Hunt, 2002; Stuppy, 2002, Wallace y Dickie, 2002), según la autoridad taxonómica que se consulte. Algunos autores describen a México como centro diversificación para este género (Arias y Arreola, 1995; Anderson, 2001; Reyes-Agüero *et al.*, 2006). Las plantas del género *Opuntia* pueden crecer en diferentes tipos de vegetación, en simpatria con más especies del mismo género, conformando lo que se conoce como matorral crasicaule o también llamado comúnmente como “nopalera” (Rzedowskii, 1978; Rebman y Pinkava, 2001)

Las plantas del género *Opuntia* son conocidas comúnmente como nopales o cardones. Este género pertenece a la subfamilia Opuntioideae, con hábitos arbustivos, arborescentes o rastreros; poseen un tronco bien definido o en algunos casos ramificado desde la base. Tienen artículos globosos, cilíndricos o aplanados también llamados cladodios, los cuales pueden ser muy carnosos o leñosos. En la parte superior de los cladodios se producen las flores. Los cladodios poseen aréolas axilares con espinas, glóquidas o pelos. Tienen espinas solitarias o en grupos, son de colores variados y glóquidas numerosas (Bravo-Hollis, 1978).

1.7. Biología floral del género *Opuntia*

La biología floral de la familia Cactaceae es un área de estudio poco explorada y se estima que tan sólo un 2% de las especies pertenecientes a esta familia han sido estudiadas (Mandujano *et al.*, 2010). Particularmente, en el género *Opuntia* se ha comprobado que existe una gran diversidad de estrategias reproductivas (Mandujano y Golubov, 2013) y en la fenología. En regiones tropicales cuando la temperatura supera los 16 °C, aparecen los botones florales, en el hemisferio norte aproximadamente en marzo o abril, en cambio en el hemisferio sur su aparición ocurre en septiembre y octubre (Nerd y Mizrahi, 1995).

En México, en la mayoría de las especies de *Opuntia* la floración ocurre durante los meses de abril y mayo, en las formas y variedades silvestres y cultivadas que se desarrollan en los estados de Zacatecas, San Luis Potosí, Guanajuato y Jalisco. En los estados de México, Hidalgo, y Puebla la floración ocurre más temprano (febrero, marzo y abril), y en ocasiones aparecen flores aisladas durante el transcurso del verano (Pimienta-Barrios, 1990).

El período de floración generalmente es largo, en *Opuntia ficus-indica* es de 3 a 5 semanas (Wessels y Swart, 1990); sin embargo, se ha reportado que la duración de la floración de *O. joconostle* es de aproximadamente 25 semanas (Sánchez *et al.*, 1991).

Las flores en la familia Cactaceae son efímeras, ya que viven típicamente uno o hasta dos días (Mandujano *et al.*, 2010). Las flores de *Opuntia* son generalmente de color amarillo, pero también son de color naranja, rosa, morado, rojo, blanco o flores moteadas (Bravo-Hollis, 1978; Anderson, 2001). Las flores bisexuales son las más comunes en *Opuntia* (Bravo-Hollis, 1978; Gibson y Nobel, 1986; Anderson, 2001; Reyes-Agüero *et al.*, 2006). Las flores tienen estambres de color amarillo o verde y se encuentran en espiral alrededor del estilo (Boke, 1980), en algunos casos, los estambres más cercanos al estilo son cortos, y así sucesivamente más largos los que se encuentran más cercanos a los sépalos. Los estambres por flor son numerosos, se han reportado 265 en *O. polyacantha*, 358 en *O. phaeacantha* (Osborn *et al.*, 1988), 450 en *O. viridirubra* y 598 en *O. brunneogemmia* (Schlindwein y Wittmann, 1997; Reyes-Agüero *et al.*, 2006).

El estigma de las flores de *Opuntia* es comúnmente utilizado por los visitantes florales y polinizadores como una estructura para su aterrizaje durante la visita floral; esto es posible porque en la mayoría de las flores de *Opuntia*, el estigma se encuentra en una posición superior a la posición de los estambres, lo que se conoce como hercogamia (Grant y Grant, 1979). En cuanto al número de óvulos por flor, la cantidad es muy variable dentro de la familia Cactaceae; sin embargo, en especies como *Opuntia ficus-indica* se han reportado de 150 a 400, en *O. robusta* de 388 a 406 (Pimienta-Barrios y del Castillo, 2002) y en *O. cantabrigiensis* alrededor de 270 (Hernández-Peña, 2016). También se ha reportado que *O. rastrera* produce 160 699 granos de polen por flor (Mandujano *et al.*, 1996), *O. tomentosa* 70 021 y *O. cantabrigiensis* 373 757 (Hernández-Peña, 2016). Por lo tanto, hay un amplio rango en el número de gametos femeninos y masculinos dentro del género.

Comúnmente, las flores son diurnas y la antesis comienza a las 08:00 h, alcanzando su pico máximo de apertura aproximadamente a las 12:00 h y a partir de ese momento el perianto comienza a cerrar gradualmente hasta que este proceso se ha completado, alrededor de las 19:30 h (Mandujano *et al.*, 1996; Reyes-Agüero *et al.*, 2006). En otras especies, tales como *O. brunneogemma*, *O. ficus-indica*, *O. phaeacantha*, *O. polyacantha*, *O. robusta* y *O. streptacantha*, la flor se abre después del mediodía, al atardecer cierra y se abre de nuevo al día siguiente (Rosas y Pimienta, 1986; Trujillo, 1986; del Castillo y González, 1988; Osborn *et al.*, 1988; Schlindwein y Wittmann, 1997; Reyes-Agüero *et al.*, 2006).

En el inicio de la antesis, en *O. ficus-indica*, los estambres se agrupan alrededor del estilo, pero se separan más tarde (Rosas y Pimienta-Barrios, 1986). En *O. lindheimeri* no se conoce en que horario inicia la receptividad del estigma, pero en algunas especies existe una superposición entre las fases masculinas y femeninas (Reyes-Agüero *et al.*, 2006).

La dehiscencia de las anteras (la liberación de los granos de polen de las anteras, haciéndolos disponibles para su transporte) en *O. ficus-indica* ocurre doce horas antes o durante la antesis (Rosas y Pimienta, 1986); en cambio, en *O. rastrera* se producen 30 min después de la antesis (Mandujano *et al.*, 1996). Un aspecto interesante de algunas especies de nopal es que la dehiscencia de las anteras ocurre antes de la apertura de la flor, y que ha sido denominado como cleistogamia preantesis. En este caso, cuando la flor se abre, el estigma se encuentra cubierto por granos de polen, algunos de los cuales ya han empezado a fecundar el óvulo, esto se debe a que el estigma es receptivo antes de la apertura floral (Rosas, 1984).

El género *Opuntia* presenta comúnmente flores bisexuales (al igual que la mayoría de las cactáceas) y ambos sexos son funcionalmente consecutivos, lo cual ha permitido la existencia de sistemas de apareamiento autógamos y xenógamos, así como sistemas de cruce mixtos (Mandujano *et al.*, 2014). En plantas con sistemas reproductivos xenógamos los polinizadores son cruciales para la reproducción sexual, pues de ellos depende el transporte del polen entre las flores (Mandujano *et al.*, 2010).

En la familia Cactaceae los síndromes de polinización son quiropterofilia, ornitofilia, falaenofilia y más frecuentemente, melitofilia (Mandujano *et al.*, 2010). En Norteamérica las especies de abejas que polinizan cactus son solitarias en su mayoría, nativas de las regiones desérticas; estas abejas a diferencia de las abejas sociales, visitan preferentemente un grupo reducido de especies de plantas, por lo cual se les llama oligolécnicas (Schlindwein, 2004); sin

embargo, cuando las flores representan un recurso fugaz, los polinizadores no pueden especializarse, sino que se trata de especies de abejas generalistas o poliléticas que abandonan sus patrones usuales de forrajeo y aprovechan la concentración abundante de los recursos (Gentry, 1974). Debido a esto, se ha planteado que *Apis mellifera*, al ser una especie generalista, podría afectar negativamente la polinización de estas especies de plantas (Butz, 1997) mediante el desplazamiento de las poblaciones de abejas nativas. Dada la actual crisis de polinizadores, es posible que su participación en estos sistemas compense la falta de polinizadores nativos. Para poder conservar a las abejas nativas es importante conservar el hábitat de estas especies mutualistas, ya que las interacciones entre flores y abejas asegurarían el reclutamiento de nuevos individuos en las poblaciones de especies que polinizan (Martínez-Peralta y Mandujano, 2012).

Algunas de las abejas oligoléticas que interactúan con *Opuntia* son las de los géneros *Ashmeadiella* Cockerell, 1897; *Diadasia* Patton, 1879; *Melissodes* Latreilla, 1829; *Lithurgopsis* Fox, 1902 y *Perdita* Smith, 1853. Hasta el momento no se ha reportado la existencia de una especie de himenóptero exclusivo de una sola especie de *Opuntia* (Grant y Hurd, 1979). Por otro lado, *Diadasia* y *Lithurgopsis* han sido mencionados como los dos géneros que posiblemente han coevolucionado con el género *Opuntia* (Linsley y MacSwain, 1957; García, 1984; Ordway, 1984; Michener *et al.*, 1994; Mandujano *et al.*, 1996; Schlindwein y Wittmann, 1997; Reyes-Agüero *et al.*, 2006). La evidencia que apoya esta coevolución es que existen al menos cuatro especies de *Lithurgopsis* y cinco de *Diadasia* que están relacionadas estrechamente con varias especies de *Opuntia*; además de que *Diadasia* está presente de forma natural sólo en el continente americano y es más frecuente en zonas áridas y regiones semiáridas de América del Norte y Sur (Linsley y MacSwain, 1957; Michener *et al.*, 1994; Reyes-Agüero *et al.*, 2006). *Lithurgopsis*, por su parte, tiene una distribución más amplia en el mundo, pero sus especies propias de ambientes xerófilos en América del Norte son oligoléticas de *Opuntia* (Michener *et al.*, 1994; Reyes-Agüero *et al.*, 2006). Se ha mencionado que ambos géneros son polinizadores eficaces por sus hábitos de vuelo y la presencia de estructuras que facilitan la adherencia de granos de polen a su cuerpo (Plasencia, 2003; McIntosh, 2005; Reyes-Agüero *et al.*, 2006; Mandujano *et al.*, 2014).

Estudios realizados en poblaciones silvestres de nopal tunero en el Altiplano Potosino-Zacatecano, revelaron que el principal polinizador es *Diadasia rinconis*; también

documentaron a *Melissodes* spp. como especies abundantes y continuas. En cuanto a especies raras, que se presentan un corto tiempo al final de la temporada se mencionan a *Ashmeadiella* spp., *Lithurgopsis littoralis*, *Lasioglossum* spp., *Perdita azteca* Timb, 1954 y en especies casuales se menciona a *Apis mellifera*, *Augochlorella neglectula* Cockerell, 1897, *Bombus pennsylvanicus* De Geer, 1773, *Ceratina* spp. Latreille, 1902, y *Colletes* spp. Latreille, 1902 (García, 1984; Reyes-Agüero *et al.*, 2006).

Para considerar como polinizador efectivo a un insecto que visita al género *Opuntia*, éste debe cumplir las siguientes reglas: ser un consumidor de polen y/o néctar, posar sobre el estigma de la flor, el tiempo que permanece en la flor debe ser relativamente corto, debe volar de flor en flor y mínimo, tener un tamaño de 1.4 cm de largo (Linsley y MacSwain, 1957; Grant y Grant, 1979; Ordway, 1984; Osborn *et al.*, 1988; del Castillo, 1999; Reyes-Agüero *et al.*, 2006).

Según estudios realizados, las flores de nopal tunero son visitadas por diferentes especies de insectos a partir de las 10 h y se reducen las visitas a partir de las 19 h. La actividad de los insectos disminuye considerablemente cuando ocurren vientos fuertes, cuando se producen nublados o hay precipitación (Pimienta, 1985).

Las plantas son capaces de responder a diferentes estímulos desencadenados por factores intrínsecos y extrínsecos, como la composición genética, parámetros fisiológicos y naturales. La capacidad de reaccionar a un amplio espectro de estímulos es una adaptación de las plantas para percibir, desde su aparente forma sésil, las señales del entorno que las rodean (Braam, 2005; Cota-Sánchez *et al.*, 2013). Las flores de varias familias de plantas han desarrollado órganos sensibles, incluidos los filamentos de estambres, pistilo y pétalos que son sensibles al tacto (Jaffe *et al.*, 2002; Cota-Sánchez *et al.*, 2013).

Los estambres muestran dos tipos diferentes de sensibilidad tigmotáctica: estambres que se mueven hacia el lugar de contacto y estambres que se mueven hacia el estilo independientemente del lugar de contacto (Toumey de 1895; Grant y Hurd, 1979; Schlindwein y Wittmann, 1997). En las cactáceas, los estambres son numerosos y están arreglados en forma espiral, se ha reportado que algunos tienen sensibilidad tigmotáctica, es decir que se mueven cuando se tiene contacto con ellos (Rosas y Pimienta, 1986). Se ha planteado que estos movimientos pueden facilitar la remoción de polen por insectos durante las visitas

florales (Grant y Hurd, 1979), y también promueven la autopolinización (Rosas y Pimienta, 1986).

1.8. Descripción de la especie

Opuntia atropes (Figura 1) es una cactácea endémica de México (Bravo-Hollis, 1978), se distribuye en los estados de Morelos, México, Michoacán y Guerrero (Rose, 1908; Bravo-Hollis, 1978; Guzmán *et al.*, 2003). *O. atropes* habita principalmente en selva baja caducifolia, bosque de pino-encino, matorral xerófilo y bosque espinoso (Rose, 1908; Hollis-Bravo, 1978).

Es una planta que crece de forma arbustiva, muy ramificada, alcanzando hasta 3 m de alto; presenta artículos aplanados (cladodios), de oblongos a obovados, alargados, de 17-30 cm de largo y 8-11 cm de ancho. Los cladodios son de color verde claro, presentan epidermis pubescente. Los cladodios jóvenes son algo brillantes, pubescentes, acuminados y con la punta color rojizo. Sus aréolas son redondas a obovadas, en series de 4-7, son color marrón claro con el borde color negro grisáceo; glóquidas aciculares de 2-7 mm, son color amarillo, surgen en la parte superior de la aréola; sin pelos setosos. Mientras que, en las espinas, dos de ellas son aciculares, algo angulares, de 3-6 cm de largo, generalmente de 1-3, blanco grisáceo, con la punta amarilla translúcida y la base marrón claro (Rose, 1908; Bravo-Hollis, 1978).

Las flores de esta especie miden hasta 5 cm tanto de largo de la flor como de diámetro de la corola durante la antesis. Son de color amarillo, con manchas rojizas en los segmentos del perianto. Los segmentos del perianto externos tienen forma espatulada y son de color rojo, mientras que los segmentos internos tienen forma obovada, acuminados. El pericarpelo es de forma globosa, con 2 cm de largo y de ancho también puede alcanzar los 2 cm; las areolas del pericarpelo tienen un fieltro de color marrón claro, mientras que sus glóquidas son largas.

Los frutos de *O. atropes* son verdes y de forma globosa, su diámetro varía de 1.5 a 3 cm y tienen glóquidas amarillas en grupos densos en las aréolas del pericarpelo. Las semillas de esta especie son reniformes, con dimensiones que varían entre 3 y 5 mm de largo y ancho, de color blanco a amarillo-rojizo (Rose, 1908; Bravo-Hollis, 1978).



Figura 1. *Opuntia atropes* en la localidad de Valle de Vázquez, Morelos, México (A: Fruto, B: Cladodio, C: Flor).

Se ha reportado que *O. atropes* florece en el mes de marzo y fructifica en el mes de abril (Rose, 1908; Bravo- Hollis, 1978) y que esta especie presenta una morfología intermedia entre las especies de nopales silvestres y las especies de nopales domesticadas (Reyes-Agüero *et al.*, 2005).

1.9. Tablas de colores de tejidos vegetales de Munsell

Para el análisis de coloración de las flores requiere un punto de comparación objetivo. La primera tabla de colores con fines científicos fue sugerida por el artista estadounidense Albert Henry Munsell, en su libro titulado “A Color Notation” (“Una anotación del color”) de 1907, la cual se interpreta utilizando el sistema Munsell; que puede ser aplicado de diferentes formas. Para evaluar el color, se utilizan tonos, saturación del color y luminosidad. Los tonos hacen referencia al color espectral, son cinco grupos principales: rojo, amarillo, verde, azul y violeta. La saturación se refiere a la intensidad de color o saturación del pigmento, mientras que la luminosidad hace referencia al grado de luz que tiene el color desde negro al blanco (Munsell, 1975). La Tabla de colores de tejidos vegetales de Munsell nos proporciona una

fácil referencia de colores para determinar y analizar el color de los tejidos de las plantas. Brindan a científicos y productores de plantas a obtener información necesaria aplicada a diferentes campos como la taxonomía, la genética, la fisiología y patología de plantas (Munsell, 1977).

2. JUSTIFICACIÓN

En la localidad de Valle de Vázquez, *Opuntia atropes* es utilizada frecuentemente en cercas vivas para delimitar propiedades y para marcar divisiones entre el ganado de los pobladores. Las pencas jóvenes son utilizadas para consumo propio, mientras que algunas personas utilizan la raíz de esta planta como remedio para la diabetes y otro uso es el de impermeabilizante para las casas. Por lo mencionado anteriormente y dado que *O. atropes* es una especie endémica de México, su conservación es importante, debido a que es un recurso natural utilizado en algunas localidades de Tlaquiltenango, Morelos.

Para esto, la biología floral nos ayuda a entender la forma de reproducción sexual de una planta y cuáles son los factores que influyen para que esto suceda. Asimismo, considerando que la biología floral de las cactáceas es un campo en desarrollo, el estudio de esta especie permitirá ampliar el conocimiento en la biología de la polinización de este cactus nativo de México, así como su recurso floral para las abejas nativas de la selva baja caducifolia.

3. OBJETIVOS

3.1. Objetivo general

El objetivo general de este proyecto es describir la biología floral de *Opuntia atropes* en la localidad de Tlaquiltenango, Morelos, México.

3.2. Objetivos particulares

- a) Registrar y describir el periodo de floración y ciclo floral.
- b) Describir su morfología floral identificando las dimensiones de sus estructuras y su color.
- c) Determinar cuál es su sistema de cruce por medio de un experimento de polinización controlada.

- d) Determinar el sistema de apareamiento por medio de la estimación de la relación polen/óvulos y del índice de entrecruza basado en atributos de hercogamia, dicogamia y tamaño floral.
- e) Identificar los polinizadores, registrar su frecuencia de visita, hora de visita y patrones de comportamiento dentro de la flor relacionados con la polinización.

4. ÁREA DE ESTUDIO

Este proyecto se llevó a cabo en tres sitios (Figura 2), ubicados en diferentes localidades cada uno (Valle de Vázquez, Quilamula y San José de Pala), pertenecientes al municipio de Tlaquiltenango del estado de Morelos. Dentro de Tlaquiltenango los tipos de suelo que predominan son: Leptosol (67.77%), Regosol (13.82%), Vertisol (6.27%), Kastañozem (5.75%), Phaeozem (3.29%), Cambisol (1.48%) y Fluvisol (0.74%) (INEGI, 2009).

El municipio de Tlaquiltenango, presenta un clima cálido subhúmedo con lluvias en verano, de menor humedad, su temperatura promedio se encuentra dentro de un rango de 22-24°, mientras que la precipitación es de 800-1 000 mm. Tlaquiltenango presenta selva baja caducifolia como tipo de vegetación predominante (INEGI, 2009). Del total de la superficie que comprende el municipio de Tlaquiltenango, la selva ocupa un 46.73%, seguido por la tierra con fines agrícolas (31.48%), el bosque (11.34%), los pastizales (9.57%) y, por último, la zona urbana (0.82%) (INEGI, 2009).

4.1. Valle de Vázquez

La localidad de Valle de Vázquez está ubicada en las coordenadas: 18° 32' latitud N, 99° 04' longitud W, dentro del municipio de Tlaquiltenango. De los tipos de suelo antes mencionados, la localidad de Valle de Vázquez presenta el tipo de suelo Leptosol (INEGI, 2009). Dentro de esta localidad (Figura 3A) se realizó el trabajo de campo en una nopalera de *Opuntia atropes* que se localizaba a 5 minutos del pueblo (aproximadamente a 1 km del centro del pueblo). En el lugar se contabilizaron alrededor de 755 individuos de *O. atropes*. En este sitio es donde se realizaron la mayoría de los experimentos (2019) requeridos para este proyecto.

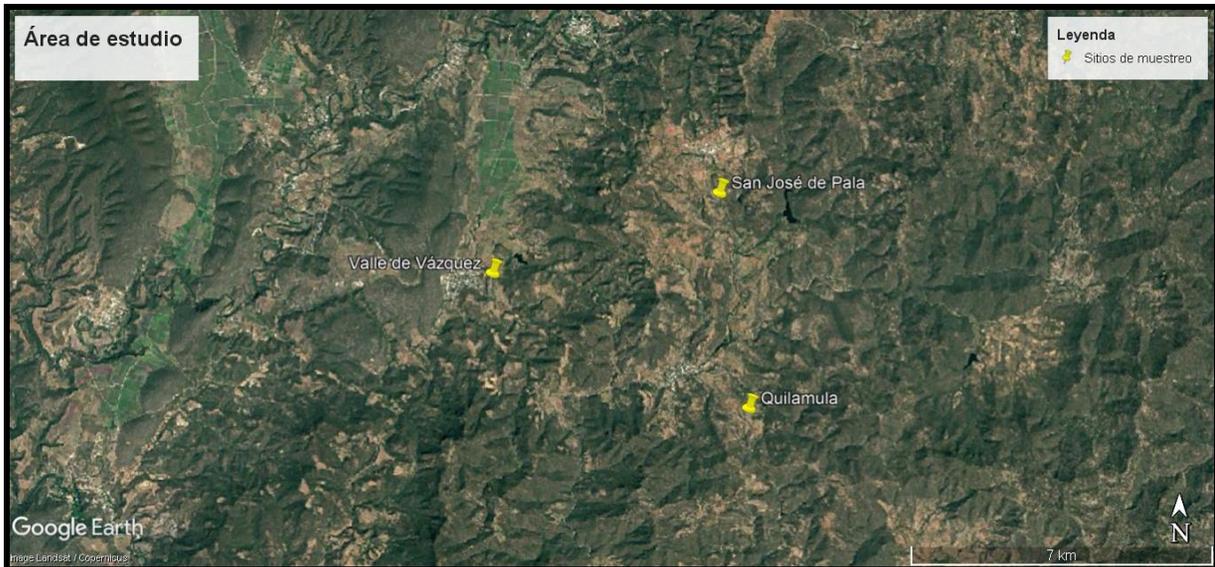


Figura 2. Mapa satelital de los sitios de muestreo ubicados en Tlaquiltenango, Morelos.

4.2. Quilamula

La localidad de Quilamula (Figura 3B) está ubicada en las coordenadas: 18°20'-18°40' latitud N, 98°55'-99°14' longitud W, dentro de la Reserva de la Biosfera Sierra de Huautla (INEGI, 2009). El ecosistema predominante en la sierra es la selva baja caducifolia, con pequeñas extensiones de selva mediana subcaducifolia, bosque de encino, bosque de pino y pastizales, estos últimos inducidos con fines agropecuarios; se han descrito 967 especies de plantas vasculares, pertenecientes a 469 géneros y 130 familias, de las cuales Fabaceae, Poaceae, Asteraceae y Burseraceae son las más abundantes (Dorado *et al.*, 2005). En este sitio únicamente se realizaron (2020) los experimentos de polinización faltantes.

4.3. San José de Pala

La localidad llamada San José de Pala también ubicada en el Municipio de Tlaquiltenango se encuentra en las coordenadas: 18°33'01.7" latitud N, 99°00'54.5" longitud W. El tipo de vegetación predominante es selva baja caducifolia, pero los cultivos, la vegetación secundaria y los pastizales inducidos para forrajeo de ganado son frecuentes. En consecuencia, se forma una matriz de ambiente agropecuario dentro de la selva baja caducifolia (INEGI, 2009). El trabajo de campo en esta localidad se realizó en la entrada del pueblo, en donde se encontraron cerca de 20 individuos de *Opuntia atropes* (Figura 3C), cabe resaltar que algunos de ellos

estaban siendo utilizados como cerca viva y alimento para el ganado. En este sitio, al igual que en Quilamula, únicamente se realizaron (2020) los experimentos de polinización faltantes.



Figura 3. Sitios utilizados para el trabajo de campo A. Valle de Vázquez; B. Quilamula; C. San Jose de Pala.

5. MATERIALES Y MÉTODOS

5.1. Periodo de floración y ciclo floral

El periodo de floración se documentó, mediante registros realizados durante las visitas quincenales al sitio de muestreo de Valle de Vázquez, desde febrero hasta el mes de agosto de 2019, en donde se registraron las siguientes observaciones: Fecha de aparición de los botones florales, flores y frutos de *O. atropes* en 50 individuos aproximadamente.

Para describir el ciclo floral se tomó una muestra de 20 flores de *O. atropes* en el sitio de Valle de Vázquez sin un área definida, seleccionando a los 20 individuos de forma aleatoria, en los que se realizaron observaciones de 10:00 a 16:00 h, estas anotaciones se realizaron cada 2 h (10:00, 12:00, 14:00 y 16:00 h). Para cada flor se midió con un vernier digital el diámetro del perianto, estigma y de los lóbulos (mm). La dicogamia (separación en el tiempo de las funciones sexuales) se determinó considerando si el estigma se encontraba o no exudado, si los estambres estaban granulados (como indicador de la liberación del polen) y la producción de polen en la flor. Estas observaciones se realizaron con una lupa (10×) (Mandujano, *et al.*, 1996). Además de los datos registrados también se llevó a cabo el registro fotográfico de las flores.

Los datos de las funciones sexuales se graficaron (% de flores con función femenina y % de flores con función masculina) contra el tiempo y se compararon cualitativamente para determinar la presencia de dicogamia.

5.2. Morfología floral

Se colectaron 20 flores de diferentes individuos de *O. atropes* en preantesis en la localidad de Valle de Vázquez, cada flor fue colocada en un frasco con alcohol etílico al 96% para su posterior procesamiento en el laboratorio. Antes de colocar la flor en alcohol, se le retiró una antera indehisciente (para asegurar que tenga completa la cantidad de granos de polen) que se colocó en un tubo eppendorf. Las flores se disectaron longitudinalmente y se observaron bajo el microscopio estereoscópico para cuantificar caracteres florales (número de estambres, lóbulos del estigma y óvulos) y caracterizar las dimensiones morfométricas de la flor (Figura 4). En el campo, se seleccionaron 20 flores nuevamente de forma aleatoria en donde se realizaron registros de la coloración que presentaban las flores cada 2 h (10:00, 12:00, 14:00 y 16:00) con ayuda de una tabla Munsell.

Para determinar si existe hercogamia en las flores de la población de *Opuntia atropes*, se compararon las longitudes de los estambres (Figura 4H) y los pistilos (Figura 4L) mediante una *t* Student pareada.

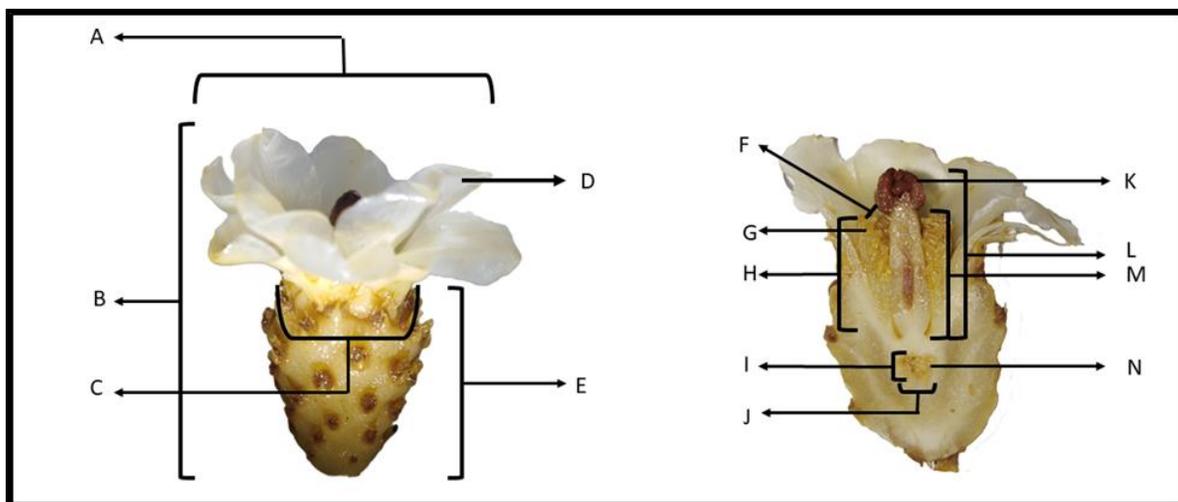


Figura 4. Parámetros morfométricos medidos en flores disectadas de *Opuntia atropes*. A. Apertura del perianto (mm), B. Longitud de la flor (mm), C. Diámetro del pericarpelo (mm), D. Número de segmentos del perianto, E. Largo del pericarpelo (mm), F. Distancia mínima antera-estigma (mm), G. Número de estambres, H. Longitud de los estambres (mm), I. Diámetro polar de la cámara ovárica (mm), J. Diámetro ecuatorial de la cámara ovárica (mm), K. Número de lóbulos del estigma, L. Longitud de estilo-estigma (mm), M. Longitud del estilo (mm) y N. Número de óvulos.

5.3. Sistemas de apareamiento

Con la muestra de 20 flores recolectadas en alcohol etílico en la localidad de Valle de Vázquez, se realizó un conteo de óvulos (gametos femeninos) y granos de polen (gametos masculinos) por flor. Los óvulos se contabilizaron en su totalidad en las flores disectadas longitudinalmente. Para estimar el número de granos de polen se utilizó la antera por flor en preantesis colocada en un tubo eppendorf, se le añadió 1 ml de agua y se agitó con un agitador vortex, para facilitar el desprendimiento de los granos de polen de la antera. Después se colocaron 100 μ l (una décima parte del ml) y con un microscopio estereoscópico se realizó el conteo. La cifra obtenida en la muestra se multiplico por 10 (obteniendo el número de granos de polen por antera) y finalmente esta cantidad se multiplicó por el número de estambres por flor, dando como resultado el número total de granos de polen por flor (Mandujano *et al.*, 1996).

5.4. Sistemas de cruza

En marzo de 2019 se realizaron cinco tratamientos de polinización en la localidad de Valle de Vázquez, para determinar el sistema de cruza de *O. atropes*. Los tratamientos fueron los siguientes (Dafni, 1992):

- ✚ **Entecruza (polinización cruzada):** Se embolsaron 20 flores en preantesis en bolsas de tul para evitar la llegada de visitantes florales, durante la antesis estas flores fueron emasculadas para poder realizar el tratamiento sin riesgo de que ocurriera autopolinización. Alrededor de medio día, con ayuda de un pincel, las flores se polinizaron con polen de cinco flores (mezclado brevemente) que se encontraban más lejanas (para evitar la posibilidad de depresión endogámica) y se embolsaron nuevamente.
- ✚ **Autocruza manual:** Se embolsaron 20 flores en preantesis y durante la antesis se colocó polen en el estigma de la misma flor y se embolsaron nuevamente.
- ✚ **Autocruza automática:** 20 flores fueron embolsadas en preantesis para evitar el contacto de visitantes florales en cada flor y sin manipulación, poder determinar si la flor puede polinizarse por sí misma.

- ✚ **Control (natural):** Se marcaron 20 flores y se dejaron expuestas a la llegada de visitantes florales y polinizadores durante toda la antesis; una vez que cerraron se embolsaron también para proteger el fruto en desarrollo.
- ✚ **Suplemento de polen:** Al igual que en el tratamiento de control, las 20 flores que se marcaron se dejaron expuestas a los polinizadores; sin embargo, además de recibir el polen de estos, se les colocó en el estigma una carga de polen suplementario de cinco flores donadoras de polen, seleccionadas por su lejanía de la flor receptora de polen.

En cada tratamiento que se realizó, se colocó una etiqueta de aluminio en la flor en donde se escribieron las letras iniciales de cada tratamiento y su número de flor para cada tratamiento para poder identificar los frutos correspondientes a cada tratamiento realizado. En los meses de mayo a julio de 2019 se colectaron los frutos, para medir el éxito de cada tratamiento se registró el número de fruto de cada tratamiento, se registró su peso (g) y con un vernier digital se midió su longitud y ancho (mm). Posteriormente, los frutos se disectaron y se realizó un conteo de semillas para cada fruto.

El sitio de muestreo de Valle de Vázquez fue talado en 2019 y en consecuencia no se logró colectar los frutos formados del tratamiento suplemento de polen. Por lo anterior, en marzo de 2020, se realizaron nuevamente en los sitios de Quilamula y San José de Pala un total de 30 flores de tratamiento control y 30 flores de suplemento de polen. En junio de 2020 se colectaron los frutos, se registraron los mismos datos que en los tratamientos realizados en 2019 (largo, ancho, peso y número de semillas por fruto).

Se comparó el éxito de cada tratamiento en términos de frutos y semillas. La variable frutos se analizó con un modelo lineal generalizado con distribución binomial y función de ligamiento logit. Para las semillas, el modelo lineal generalizado se analizó con distribución Poisson y función de ligamiento log. Para ambos análisis se realizaron contrastes ortogonales para determinar diferencias entre tratamientos. Las variables de dimensión de los frutos (largo, ancho y peso) se analizaron con un ANOVA y luego una prueba post hoc de Tukey para encontrar diferencias entre tratamientos. Estos análisis se realizaron en el programa R (R Core Team, 2018).

A partir de los resultados de los tratamientos de polinización controlada se calculó la **tasa de entrecruzamiento** (t_e) con la siguiente fórmula:

$$t_e = W_x / (W_x + W_s)$$

Donde W_s : es el porcentaje de frutos o semillas que se obtuvieron en los tratamientos de autocruza y W_x : es el porcentaje de frutos o semillas obtenidas por entrecruza. (Mandujano *et al.*, 2010). Éste índice puede tomar valores entre 0 y 1, las especies con autocruza tendrán valores de 0 o < 0.2 , en cambio, en el caso de especies con entrecruza el resultado del índice será 1 o > 0.8 . Los sistemas de cruzamiento mixtos tendrán un índice de 0.5. Por lo tanto, los valores > 0.5 muestran tendencia hacia el sistema de entrecruza, mientras que los valores < 0.5 representa especies que se inclinan hacia la autofecundación (Mandujano *et al.*, 2010).

Además, con los resultados obtenidos en los tratamientos de polinización controlada también se calculó el **índice de limitación por polen (L)** propuesto por Larson y Barret (2000) con la siguiente fórmula:

$$L = 1 - (P_o / P_s)$$

Donde P_o : es el porcentaje o número de frutos o semillas que se obtuvieron del tratamiento de polinización natural y P_s : es el porcentaje o número de frutos o semillas obtenidos en el tratamiento de suplemento de polen.

Sí $L = 0$, significa que no existe limitación por polen, mientras que al acercarse a 1 la limitación por polen es más intensa (Larson y Barret, 2000).

5.5. Polinizadores

Se realizaron observaciones en 20 flores de *O. atropes* durante 45 min con intervalos de 60 minutos durante la anthesis, y se registraron los siguientes datos: morfoespecie, número de la flor que visita, duración, frecuencia, hora y conducta dentro de la flor. Además de esto, durante 60 min se realizó videograbación registrando las visitas y patrones de comportamiento en una flor específica. Se registraron cinco comportamientos de los visitantes florales relacionados con su papel como polinizadores: Contacto con *Estambres* (visitantes que entraban a la flor y estaban en el aparato reproductor masculino y el polen se adhería en su cuerpo), *Estigma* (visitantes que sólo aterrizaban en el estigma y posteriormente volaban fuera de la flor), *Tépalos* (visitantes que no tenían contacto con los verticilos sexuales de la flor y que solamente tocaban o aterrizaban en el perianto de la flor), *Ambos aparatos* (visitantes que tenían contacto tanto con los estambres como con el estigma) y *Néctar* (visitantes que al buscar néctar dentro de la flor, tocaban los estambres y/o estigma). Para poder facilitar la

identificación de las morfoespecies que visitan la flor, se colectaron algunos ejemplares con apoyo de cámaras letales de acetato de etilo. Posteriormente se montaron con alfileres entomológicos y se determinaron en el nivel taxonómico más fino posible, con ayuda de claves entomológicas (Michener *et al.*, 1994) y por comparación con ejemplares de la colección de abejas de la Escuela de Estudios Superiores del Jicarero.

Se determinó qué especie es la visitante más frecuente. Por medio de un análisis de chi cuadrada y de sus residuales ajustados (Agresti, 2007), se determinó si existe asociación entre los visitantes registrados y sus comportamientos relacionados con la polinización. Debido a que un alto porcentaje de las casillas contenía conteos menores a cinco (Everitt 1977), realizamos una modificación a las categorías, de tal forma que la tabla que se analizó por medio de la chi cuadrada consistió en cinco categorías de visitantes (*Diadasia* sp., *Apis mellifera*, *Lithurgopsis* sp., Halictidae y Otra) y en tres categorías de conducta (Estambres, Estigma y Ambos aparatos).

Se realizaron tablas de contingencia por especie y hora de observación, se analizó qué especie es la que tiene un mayor tiempo de manejo (duración de la visita en la flor) (Zar 2010). Para analizar si el tiempo de manejo difiere significativamente entre especies, se realizó una prueba no paramétrica de Kruskal-Wallis. Aquellas especies que tuvieron un tamaño de muestra menor a 10 se agruparon bajo la categoría “Otra” (*Ceratina* sp., *Euglossa* sp., *Ashmeadiella* sp. y Vespidae). Para encontrar diferencias entre especies, se realizó una prueba *post hoc* de comparación por pares, con un ajuste Holm-Bonferroni para comparaciones múltiples (Mangiafico 2015).

6. RESULTADOS

6.1. Periodo de floración y ciclo floral

Las visitas al sitio de estudio y registros indican que la floración de *O. atropes* en Valle de Vázquez, comenzó en la última semana de febrero, cuando se encontraron las primeras flores en anthesis y un gran número de botones florales (Cuadro 4). En la tercer y cuarta semana de marzo se observó el pico máximo de anthesis; durante el mes de mayo se observaron pocas flores abiertas (Cuadro 4). Por lo tanto, la floración de *O. atropes* fue aproximadamente de 14 a 16 semanas. Los frutos se desarrollaron entre los meses de mayo y julio, la mayoría de frutos

maduros se observa en julio, ya que en mayo la mayoría de los frutos se encontraron inmaduros.

Cuadro 4. Calendario de floración de *Opuntia atropes* en Valle de Vázquez, Tlaquiltenango.

ESTRUCTURA MES	BOTONES	FLORES	FRUTOS
1ra quincena FEBRERO			
2da quincena FEBRERO			
1ra quincena MARZO			
2da quincena MARZO			
1ra quincena ABRIL			
2da quincena ABRIL			
1ra quincena MAYO			
2da quincena MAYO			
1ra quincena JUNIO			
2da quincena JUNIO			
1ra quincena JULIO			

El ciclo floral de *O. atropes* es totalmente diurno, con una duración aproximada de 6 horas. Las flores inician la antesis alrededor de las 10:00 h, con un pico máximo de apertura a las 12:00 h y terminaron la apertura antes de las 16:00 h (Figura 5). Las flores fueron efímeras, el diámetro máximo (media \pm desviación estándar) de apertura del perianto fue de 40.84 ± 16.59 mm a las 12:00 h, mientras el diámetro máximo de apertura del estigma fue de 6.32 ± 1.42 mm a las 14:00 h (Figura 6).

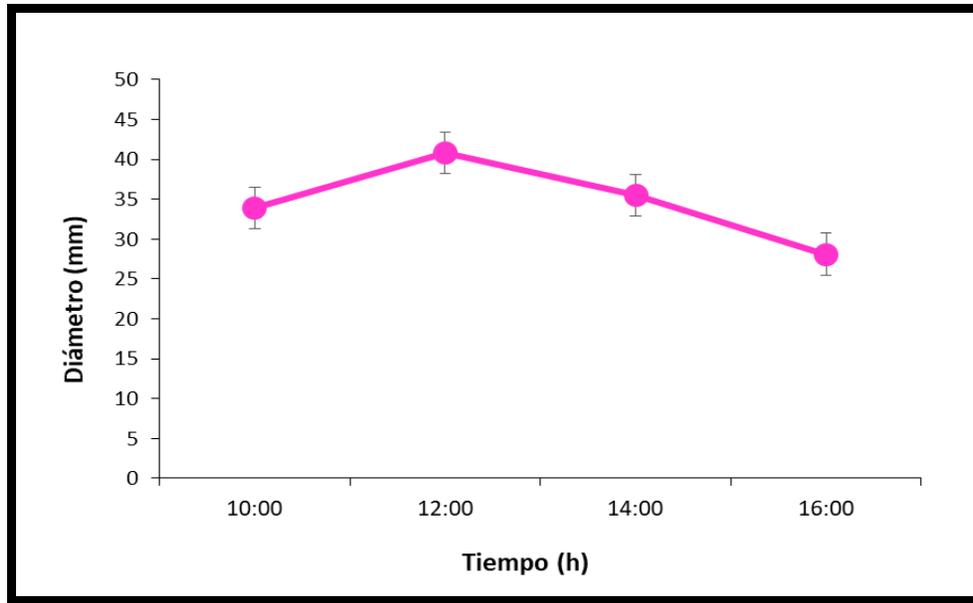


Figura 5. Diámetro de apertura del perianto (mm \pm d.e.) a través del tiempo durante el ciclo floral de *O. atropes* ($n = 20$) en Valle de Vázquez, Morelos.

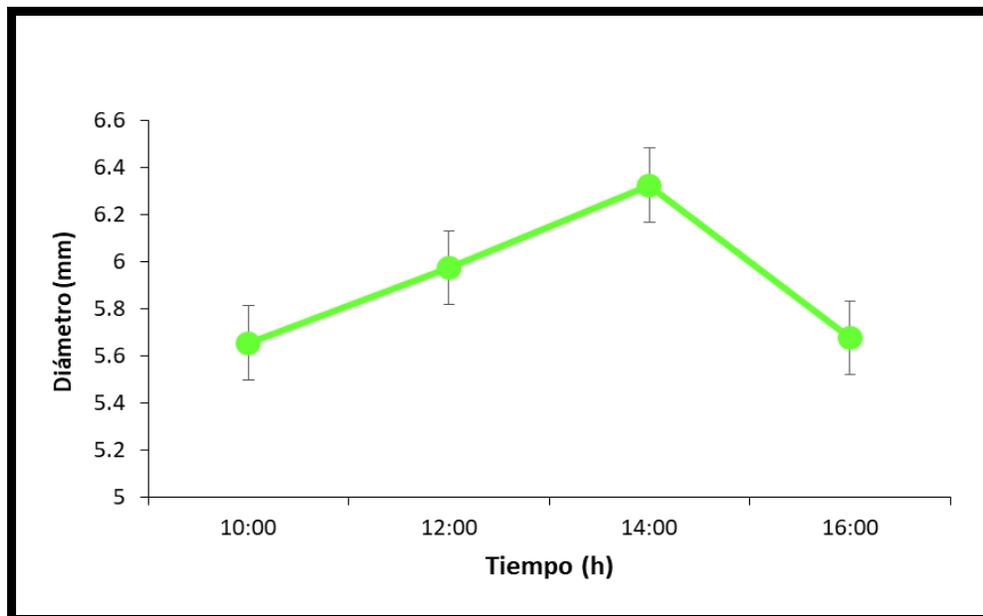


Figura 6. Diámetro del estigma (mm \pm d.e.) a través del tiempo durante el ciclo floral de *O. atropes* ($n = 20$) en Valle de Vázquez, Morelos.

Con la gráfica de las funciones sexuales, se comparó de forma cualitativa el porcentaje de flores con estigma receptivo y el porcentaje de flores con anteras dehiscentes. Se determinó que en las flores de *O. atropes* no hay presencia de dicogamia debido a que las funciones sexuales son simultáneas a las horas de máxima apertura del perianto, entre 12:00 y 14:00 (Figura 7).

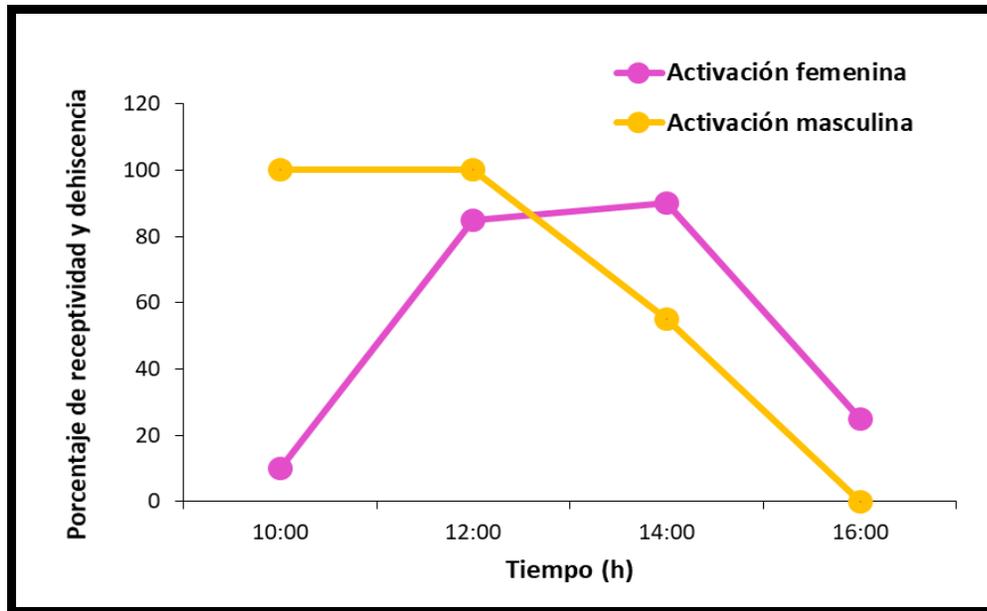


Figura 7. Activación de las funciones de los verticilos sexuales en *Opuntia atropes*. Debido a que no hay separación temporal del funcionamiento de los órganos sexuales, se concluye que existe (homogamia) en las flores de esta especie.

6.2. Morfología floral

Opuntia atropes presenta únicamente flores hermafroditas (bisexuales). Los parámetros morfométricos obtenidos de 20 flores conservadas en alcohol y posteriormente disectadas que se colectaron en Valle de Vázquez.

Se encontró variación en los caracteres morfométricos analizados (Cuadro 5), principalmente en el número de estambres y el número de gametos tan femeninos como masculinos (óvulos y granos de polen). Se observó que las flores de *Opuntia atropes* presentan sensibilidad tigonástica en sus estambres, de manera que cuando los insectos tocan los filamentos, estos se mueven hacia el estilo.

Cuadro 5. Parámetros morfométricos de flores de *Opuntia atropes* colectadas en Valle de Vázquez ($n = 20$).

Parámetros morfométricos	Media	Desviación estándar	Rango
Apertura del perianto (mm)	29.72	10.48	20.2- 36.7
Longitud del pericarpelo (mm)	26.12	10.10	19.9- 37.2
Diámetro del pericarpelo (mm)	20.04	6.92	17.9- 24.7
Longitud de la flor (mm)	44.23	16.04	37.5- 59.7
Distancia mínima antera-estigma (mm)	2.78	1.52	0.7- 5.2
Número de estambres	430	195	135.0- 673.0
Longitud de los estambres (mm)	14.83	5.26	10.6- 18.8
Diámetro polar de la cámara ovárica (mm)	5.03	2.21	2.9- 8.3
Diámetro ecuatorial de la cámara ovárica (mm)	3.91	1.50	2.4- 5.4
Longitud del estilo (mm)	16.10	5.61	13.9- 20.9
Longitud estilo-estigma (mm)	20.26	7.01	18.4- 25.7
Número de lóbulos del estigma	8	3	6.0- 10.0
Número de óvulos	152	133	77.0- 650.0
Número de segmentos del perianto	18	6	12.0- 24.0
Número de granos de polen por flor	177 760	90 766	81 700- 434 300

De acuerdo con la prueba *t* Student pareada, la diferencia de los promedios de las longitudes del estilo y el estigma es de 3.12 mm y es significativa ($t = 11.447$, g.l. = 19, $P = 5.727 \cdot 10^{-10}$) por lo tanto, sí existe hercogamia en las flores de la población estudiada. La longitud de los estambres es más pequeña que la longitud del estilo y estigma en la flor. En la Figura 8 se muestran las diferencias espaciales entre la longitud estilo-estigma y los estambres.

Las flores de *Opuntia atropes* presentaron diferentes tonalidades a lo largo de la antesis, incluyendo tonos amarillos, naranja, rosa pastel y algunas flores matizadas de color rosa y naranja. Cuando comenzó la antesis (a las 10:00 h aproximadamente) presentaron una tonalidad homogénea de color amarillo intenso; la única notación Munsell registrada en este horario fue de 5Y 8/10 (Figura 9A) ya que no hubo variación en ninguna de las tres variables para describir el color (tonalidad, valor y croma). Se observó que a lo largo del día las tonalidades variaron más, empezando a las 12:00 h (Figura 9B) y principalmente a las 14:00 (Figura 9C), disminuyendo gradualmente el cambio en sus tonalidades alrededor de las 16:00 cuando las flores empezaban a cerrar (Figura 9D).

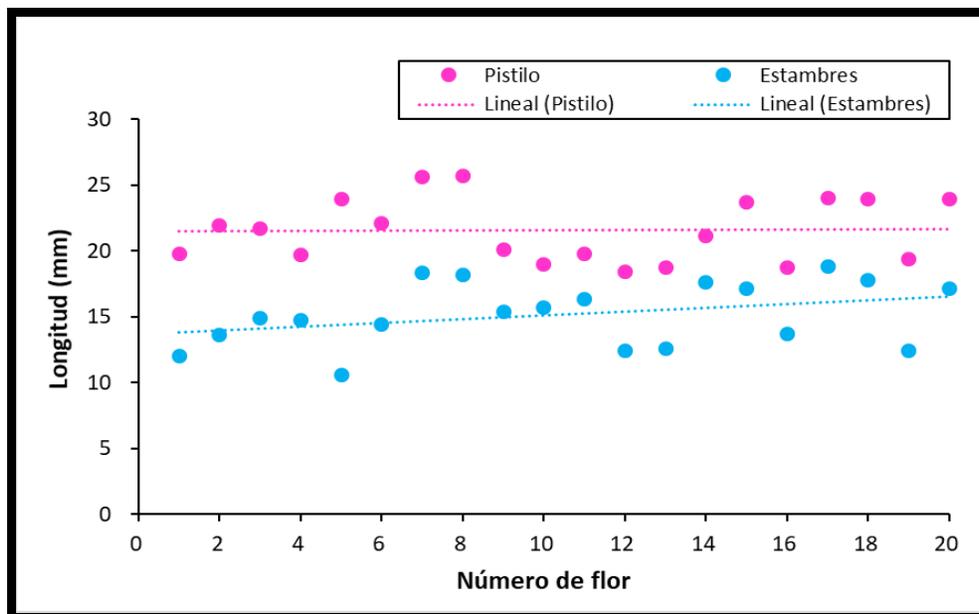


Figura 8. Separación espacial de las longitudes de los órganos sexuales en las flores de *Opuntia atropes*, de 20 flores colectadas en Valle de Vázquez en 2019. De acuerdo a la prueba *t* Student pareada ($t = 11.447$, g.l. = 19, $P = 5.727 \cdot 10^{-10}$) la separación espacial es significativa y por lo tanto existe hercogamia.

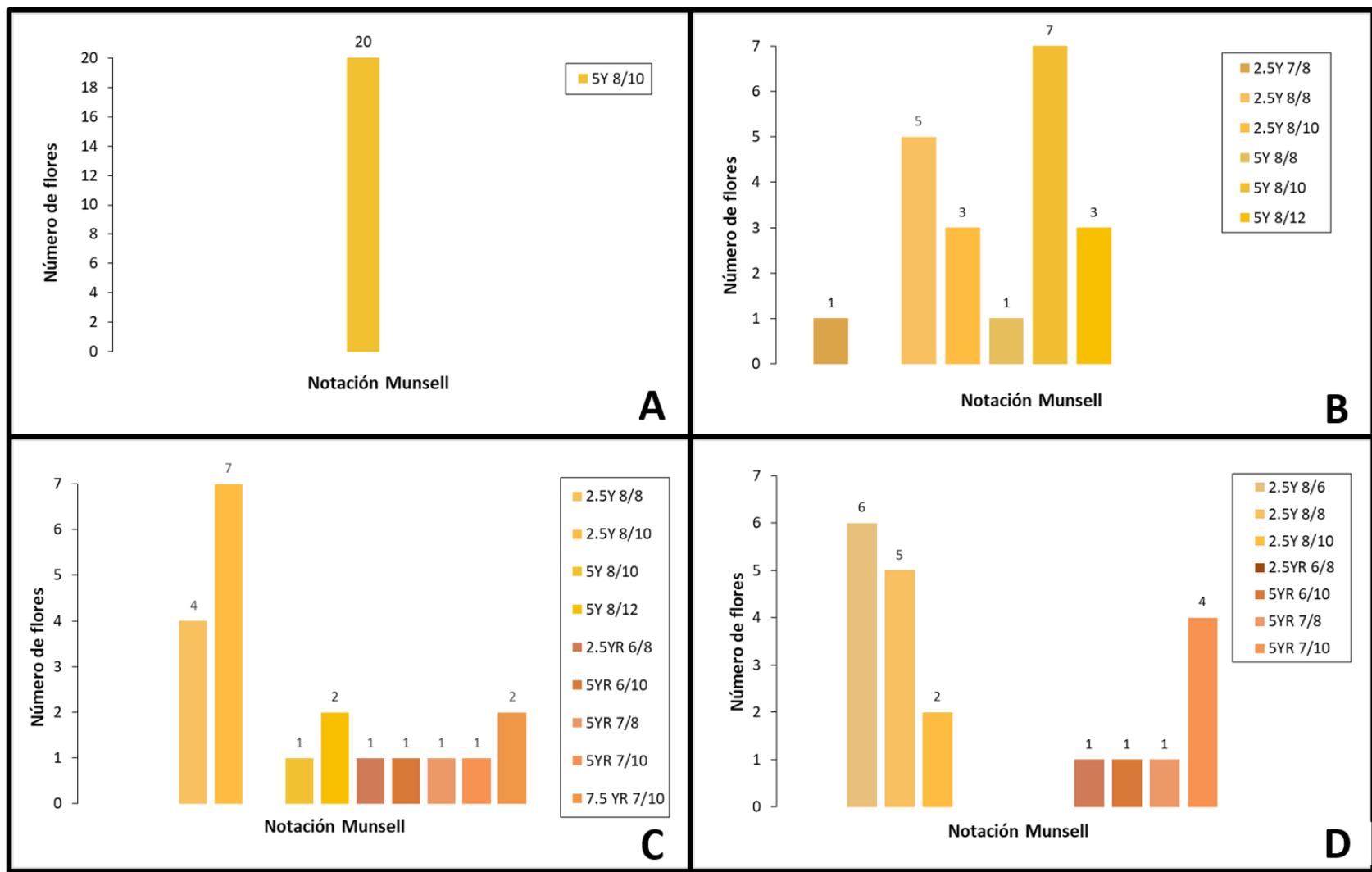


Figura 9. Variación en el color de las flores de *O. atropes* durante la antesis ($n = 20$ flores). A: Variación en el color a las 10:00 h, B: Variación en el color a las 12:00 h, C: Variación en el color a las 14:00 h, D: Variación en el color a las 16:00 h.

6.3. Sistema de apareamiento

Para determinar el sistema de apareamiento se utilizó en índice de entrecruza (OCI) y la relación polen/óvulos (P/O) (Cruden, 1977). Para evaluar el índice de entrecruza, según los parámetros del OCI (Cuadros 2 y 3) se tomaron los siguientes valores:

Diámetro de la flor: La apertura máxima de la corola en *Opuntia atropes* es de 40.84 ± 16.59 (media \pm desviación estandar) mm, por lo tanto se le asigna un valor de 3.

Hercogamia: Ya que la longitud de los estambres y pistilos mostró una diferencia significativa se considera que *O. atropes* presenta hercogamia, por lo tanto se le asigna un valor de 1.

Dicogamia: Debido a que la dehiscencia de las anteras (función masculina) y receptividad del estigma (función femenina) ocurren simultáneamente, se considera que las flores no presentan dicogamia, por lo cual se le asigna un valor de 0 en este parámetro.

Al sumar los valores de los tres parámetros para estimar el OCI, obtenemos una suma de 4 lo que nos indica que *Opuntia atropes* presenta un sistema de apareamiento de tipo xenógamo obligado.

Por otro lado, las flores tienen en promedio 430 ± 195 (media \pm desviación estándar) estambres y un promedio de $177\ 760 \pm 90\ 766$ granos de polen por flor. En contraste, la cantidad de óvulos por flor es de 152 ± 133 , por lo tanto, la relación P/O estimada es de $1\ 418 \pm 873$ (media \pm desviación estándar) que corresponde a la categoría de xenogamia facultativa, según la clasificación de Cruden (1977).

6.4. Sistema de cruza

Los resultados obtenidos de los tratamientos realizados en 2019 y en 2020 (CON2 y SUP2) se muestran en el Cuadro 6. En el tratamiento suplemento de polen de 2019(SUP) no se lograron encontrar los frutos debido a que las plantas en las que se encontraban fueron taladas (Figura 12).

De acuerdo a los modelos lineales generalizados para analizar el número de frutos y semillas producidos hubo diferencias entre los tratamientos (frutos: $Z = -2,87$, g.l. = 139, $P =$

0.0041; semillas: $Z = 21.034$, g.l. = 76, $P = 2^{-16}$). En el Cuadro 7 se observan los contrastes ortogonales de la producción de frutos y semillas.

Los contrastes ortogonales de la producción de frutos muestran que los tratamientos de autocruza, tanto manual como automática tuvieron un menor éxito en comparación con el resto de los tratamientos. Por su parte, los tratamientos realizados en 2020 (CON2 y SUP2) fueron intermedios en la producción de frutos, mientras que los tratamientos EN y CON, ambos realizados en 2019, tuvieron la mayor producción de frutos (Figura 10).

Los contrastes ortogonales de la producción de semillas muestran que, similar a la producción de frutos, los dos tratamientos de autocruza (manual y automática) tuvieron el menor desempeño en la producción de semillas. En seguida, se encuentra el tratamiento de entrecruza, luego el de SUP2 (polen suplementario de 2020), mientras que los tratamientos con mayor producción de semillas fueron el control de 2019 (CON) y polen suplementario de 2020 (SUP2) (Figura 11).

Debido a que el éxito en producción de frutos obtenido en los tratamientos de autocruza (AA y AM) presentan valores cercanos a cero, no fueron incluidos en los análisis (ANOVA) para largo y ancho de los frutos.

Como resultado del ANOVA realizado para comparar el largo de los frutos, se obtuvo que hay diferencias significativas en la longitud de los frutos ($F = 13.76$, g.l. = 3 y $P = 3.62 \cdot 10^{-7}$). Los resultados de la prueba post hoc de Tukey que indica diferencias entre tratamientos, se muestran en el Cuadro 8.

Los resultados indicaron que las diferencias significativas encontradas sólo fueron del grupo CON con EN, CON2 y SUP2; en el resto de los grupos no hubo diferencias significativas (Figura 12).

En el resultado del ANOVA realizado para comparar el ancho de los frutos, se obtuvo que hay diferencias significativas en los frutos producidos entre tratamientos ($F = 15.02$, g.l. = 3 y $P = 1.15 \cdot 10^{-7}$). Los resultados de la prueba Tukey para encontrar diferencias entre tratamientos, donde se pueden observar detalladamente las diferencias entre ellos, se muestran en el Cuadro 9. Los resultados indicaron nuevamente que las diferencias significativas encontradas sólo fueron del grupo CON con EN, CON2 y SUP2; en el resto de los grupos no hubo diferencias significativas (Figura 13).

Cuadro 6. Éxito de frutos y semillas de los tratamientos de polinización realizados en *Opuntia atropes* durante los años 2019 y 2020. Se muestra el porcentaje de frutos formados, así como su peso, largo, y ancho. Para las semillas se indica el número de semillas por fruto y el porcentaje de semillas formadas considerando el promedio de óvulos promedio por flor.

Tratamiento	Flores	Frutos	Porcentaje de frutos (%)	Peso (g)	Largo (mm)	Ancho (mm)	Número de semillas	Porcentaje de semillas (%) *
Autocruza manual AM	20	1	5	6.4	29.8	21	27	17.76
Entrecruza EN	20	18	90	4.63	30.17	21.07	53	33.84
Control (2019) CON	20	20	100	11.23	38.55	29.57	93	61.18
Autocruza automática AA	20	1	5	5.03	30.1	27.5	35	23.03
Suplemento de polen (2019) SUP	20	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
Control 2 (2020) CON2	30	17	56.67	26.73	22.05	8.53	80	52.63
Suplemento de polen 2 (2020) SUP2	30	20	66.67	27.46	22.87	12.55	96	63.16

Cuadro 7. Contrastes ortogonales de la producción de frutos y semillas entre los tratamientos de polinización.

Frutos				Semillas		
Tratamiento	Z	g.l.	P	Tratamiento	Z	P
AA vs AM	0	39	1	AA vs AM	1.013	0.914
AA vs CON	4.097	39	4.19 E-19	AA vs CON	-5.734	<.0001
AA vs CON2	2.947	49	0.00321	AA vs CON2	-4.851	<.0001
AA vs EN	4.055	39	5.02E-05	AA vs EN	-3.001	0.032
AA vs SUP	3.398	48	0.00068	AA vs SUP	-5.888	<.0001
AM vs CON	4.097	39	4.19 E-19	AM vs CON	-6.386	<.0001
AM vs CON2	2.947	49	0.00321	AM vs CON2	-5.608	<.0001
AM vs EN	4.055	39	5.02E-05	AM vs EN	-3.977	0.001
AM vs SUP	3.398	48	0.00068	AM vs SUP	-6.521	<.0001
CON vs CON2	-0.008	49	0.994	CON vs CON2	4.153	5E-04
CON vs EN	-0.005	39	0.996	CON vs EN	12.009	<.0001
CON vs SUP	-0.008	49	0.994	CON vs SUP	-0.789	0.968
CON2 vs EN	2.32	49	0.0203	CON2 vs EN	7.679	<.0001
CON2 vs SUP	0.795	59	0.427	CON2 vs SUP	-4.909	<.0001
EN vs SUP	-1.791	49	0.0733	EN vs SUP	-12.742	<.0001

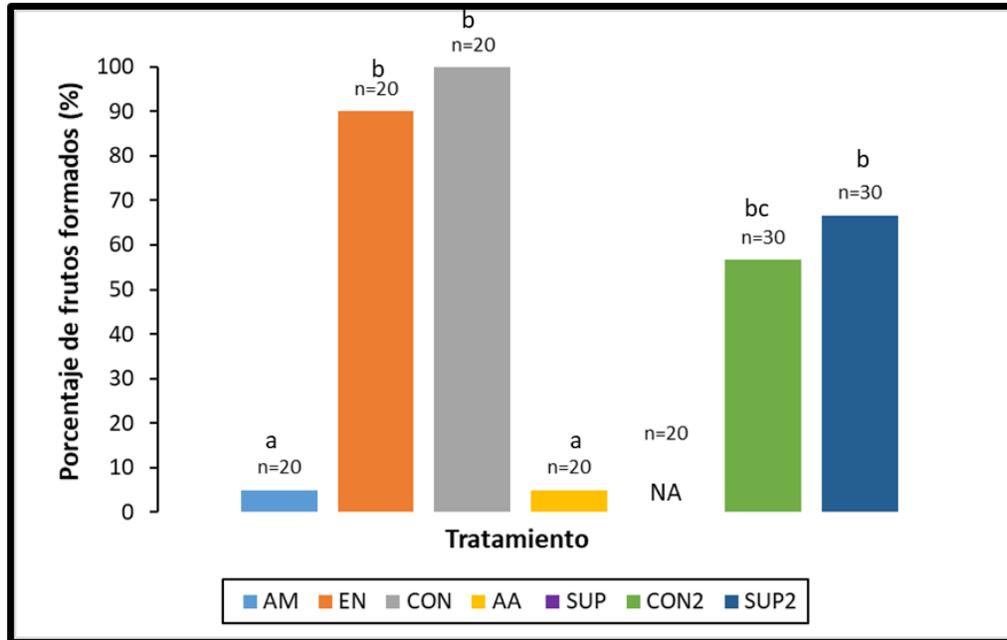


Figura 10. Porcentaje de frutos formados en los tratamientos de polinización realizados en *O. atropes*.

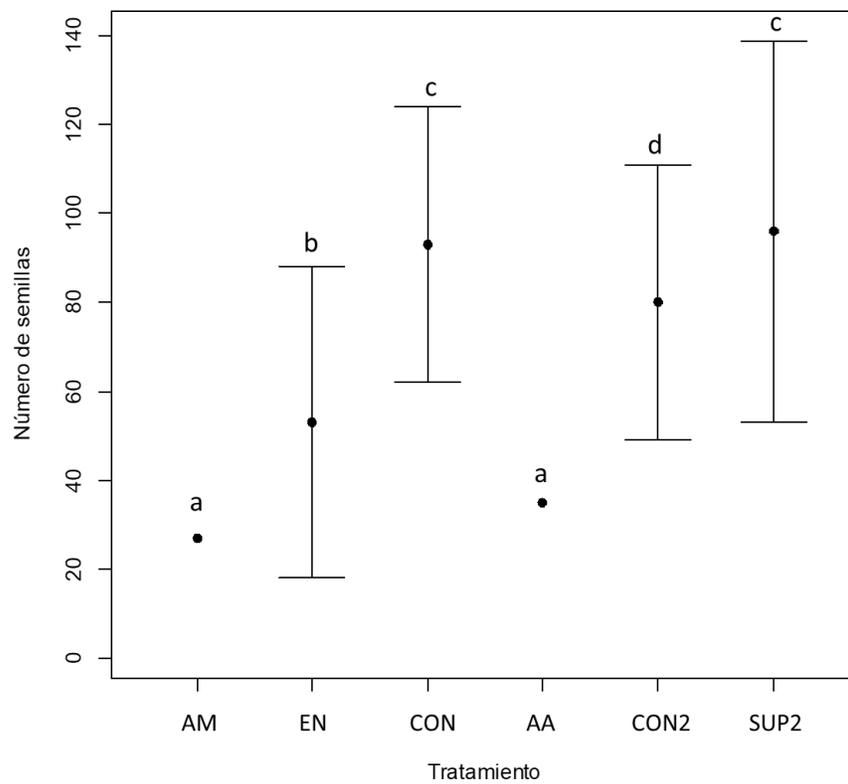


Figura 11. Número de semillas formadas (media ± d.e.) formadas para cada tratamiento de polinización realizado en *O. atropes*.

Cuadro 8. Contrastes de la longitud de los frutos entre los tratamientos de polinización.

Largo				
Tratamiento	diff	lwr	upr	P
CON2 vs CON	-11.825	-17.414	-6.235	2.6 E-6
EN vs CON	-8.372	-13.877	-2.868	8.62 E-4
SUP2 vs CON	-11.086	-16.443	-5.728	4.2 E-6
EN vs CON2	3.452	-2.278	9.183	0.394
SUP2 vs CON2	0.739	-4.850	6.328	0.985
SUP2 vs EN	-2.713	-8.218	2.791	0.568

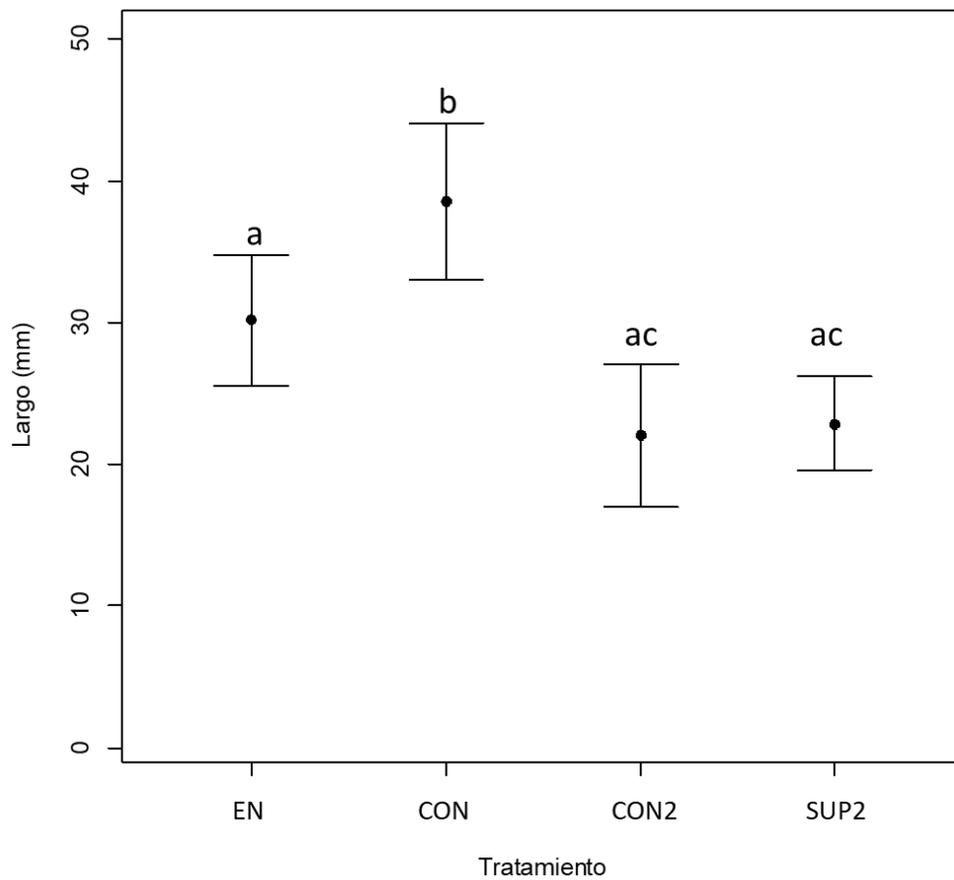


Figura 12. Largo de los frutos (media \pm d.e.) de *O. atropes* obtenidos en los tratamientos de polinización. De acuerdo al ANOVA, existen diferencias significativas entre tratamientos ($F = 13.76$, g.l. = 3 y $P = 3.62 \cdot 10^{-7}$).

Cuadro 9. Contrastes de la longitud de los frutos entre los tratamientos de polinización.

Ancho				
Tratamiento	diff	lwr	upr	P
CON2 vs CON	-7.514	-11.313	-3.715	1.07 ⁻⁵
EN vs CON	-8.487	-12.228	-4.745	5 ⁻⁷
SUP2 vs CON	-6.697	-10.339	-3.055	4.30 ⁻⁵
EN vs CON2	-0.972	-4.867	2.922	0.9126
SUP2 vs CON2	0.816	-2.982	4.615	0.941
SUP2 vs EN	1.789	-1.951	5.531	0.592

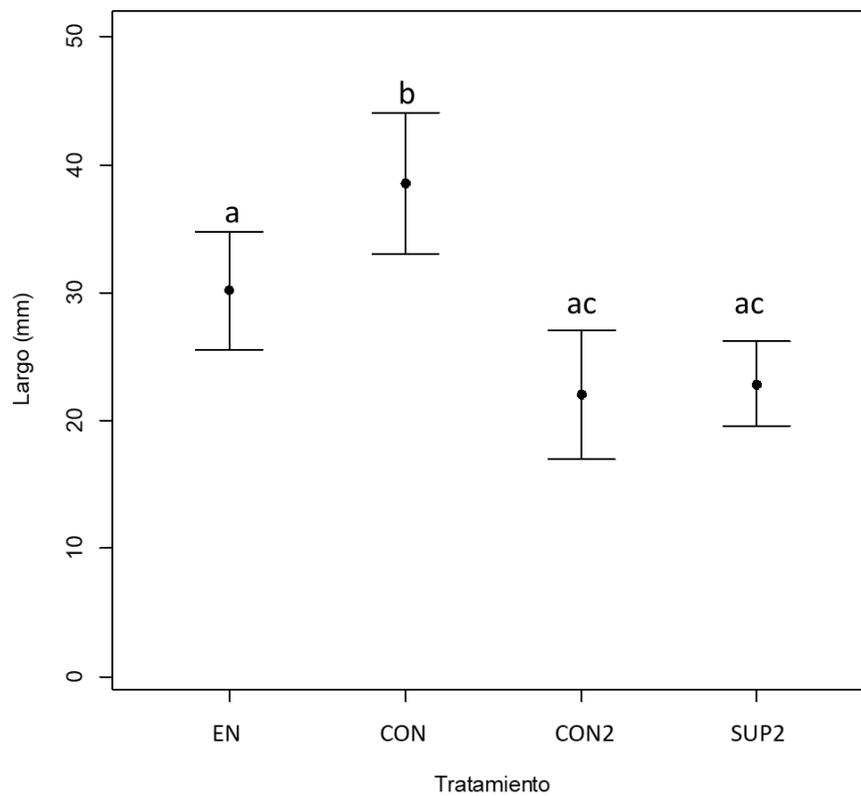


Figura 13. Ancho de los frutos (media \pm d.e.) de *O. atropes* obtenidos en los tratamientos de polinización.

La estimación de la tasa de entrecruzamiento se realizó como se indica a continuación para frutos y semillas, considerando los valores mostrados en el Cuadro 6:

$$t_e = 90 / (90 + 5) = 0.947 \text{ (frutos)}$$

$$t_e = 34.86 / (34.86 + 17.76) = 0.662 \text{ (semillas)}$$

Por lo tanto, el valor de la producción de frutos en la tasa de entrecruzamiento indicó una tendencia hacia la entrecruza, ya que de ésta deriva el 94.7% de los frutos en *O. atropes*. Sin embargo, para las semillas el índice de entrecruzamiento indica una tendencia a un sistema mixto.

La estimación del índice de limitación por polen fue de la siguiente manera:

$$L = 1 - (17 / 20) = 0.15 \text{ (frutos)}$$

$$L = 1 - (80 / 96) = 0.17 \text{ (semillas)}$$

Por lo tanto, el valor de 0.15 a 0.17 indica que el porcentaje que existe de limitación por polen es de bajo a moderado para la producción de frutos y semillas de *O. atropes*.

6.5. Polinizadores

Los visitantes florales de *O. atropes* se presentaron a partir de las 10:00 h en adelante y las visitas concluyeron a las 16:00 h aproximadamente. La mayor actividad se presentó entre las 12:00 y 13:00 h, cuando se registraron 171 visitantes (26% del total de visitas) (Figura 14), y fueron disminuyendo paulatinamente por la tarde. El rango de visitas por flor fue de 15 a 67, con 32 (± 10) visitas promedio por flor.

En las 20 flores observadas, se registró un total de 650 visitas, de 11 morfoespecies. Dentro de los polinizadores más frecuentes (Figura 15) se encuentran *Diadasia* sp. con 482 individuos (74.15%), 41 individuos de *Lithurgopsis* sp. (6.3%), 43 individuos de *Augochlorella* sp. (6.61%), así como 25 individuos de la familia Halictidae (3.84%). *Opuntia atropes* tiene otros polinizadores menos frecuentes que se muestran en el Cuadro 10.

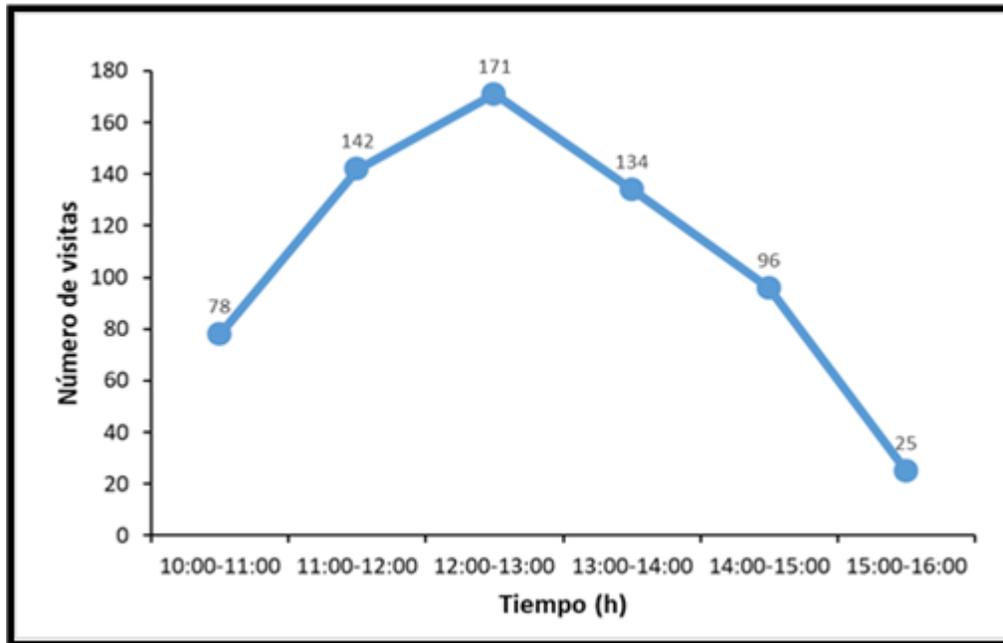


Figura 14. Visitantes florales de *Opuntia atropes* en cada intervalo de observación, desde las 10:00h hasta las 16:00 h ($n = 20$ flores).

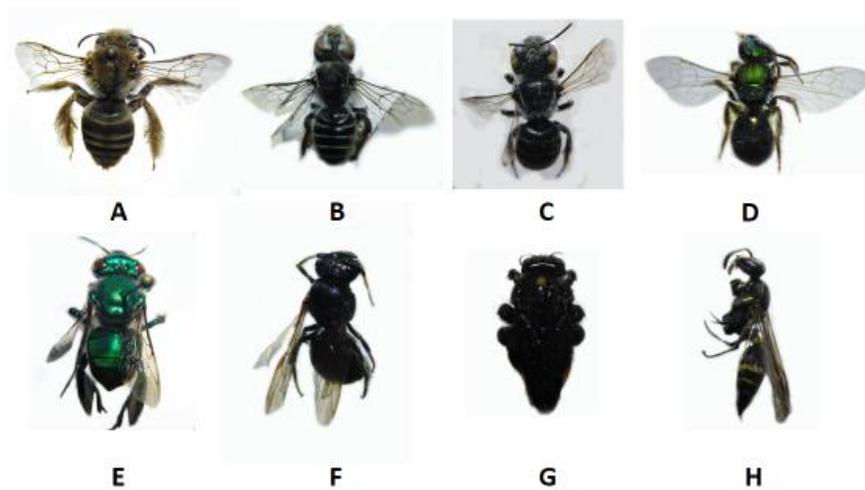


Figura 15. Visitantes florales de *Opuntia atropes* en Valle de Vázquez. A): *Diadasia* sp., B): *Lithurgopsis* sp., C): *Ashmeadillea* sp., D): *Augochlorella* sp., E): *Euglossa* sp., F): *Ceratina* sp., G): *Xylocopa* sp. y H): Vespidae.

Cuadro 10. Frecuencia absoluta y relativa de los polinizadores registrados en *Opuntia atropes* (n=20) en Valle de Vázquez, Tlaquiltenango en marzo del 2019.

Morfoespecie	Familia	Total de individuos	Porcentaje (%)
<i>Diadasia</i> sp.	Apidae	482	74.15
<i>Apis mellifera</i>	Apidae	17	2.61
<i>Lithurgopsis</i> sp.	Megachilidae	41	6.3
<i>Ashmeadiella</i> sp.	Megachilidae	7	1.07
Halictidae	Halictidae	26	4.00
<i>Augochlorella</i> sp.	Halictidae	43	6.61
<i>Euglossa</i> sp.	Apidae	4	0.61
Vespidae	Vespidae	3	0.46
Trochilidae	Trochilidae	11	1.69
<i>Ceratina</i> sp.	Apidae	1	0.15
<i>Xylocopa</i> sp.	Apidae	15	2.3

Según la prueba de chi cuadrada, existe asociación entre las especies de visitantes y la hora de su visita ($\chi^2= 30.08$; 12 gl; $P= 0.0027$). Los datos de las frecuencias observadas de los visitantes por horario fueron resumidas en una tabla de contingencia (Cuadro 11).

Se encontró que la mayoría de los visitantes que tuvo *O. atropes* participan en la polinización de la especie al tener un contacto con al menos uno de los órganos sexuales (*Estigma*: 15.54%; *Estambres*: 38.62%; *Ambos aparatos*: 34.92%). Por parte de las abejas, se registró solo un comportamiento, el denominado *Tépalos*, en el que no tenían contacto con los aparatos reproductores de la flor con el 1.85% de las visitas. Por otra parte, el grupo de los colibríes tuvo un comportamiento de forrajeo para consumir néctar (1.23%); sin embargo, visitaron flores ubicadas en la parte más alta de las plantas, por lo que no fue posible determinar con certeza si tocan o no de manera efectiva los órganos sexuales.

Los datos de las frecuencias de los visitantes florales observados para cada comportamiento fueron resumidas en una tabla de contingencia (Cuadro 12).

Cuadro 11. Frecuencia absoluta de los visitantes florales observados en *Opuntia atropes* en cada intervalo.

Visitante/ Hora	10:00	11:00	12:00	13:00	14:00	15:00
	11:00	12:00	13:00	14:00	15:00	16:00
<i>Diadasia</i> sp.	53	92	131	112	78	17
<i>Apis mellifera</i>	6	5	4	1	1	1
<i>Lithurgopsis</i> sp.	4	9	9	5	8	5
<i>Ashmeadiella</i> sp.	0	1	1	1	3	1
Halictidae	3	10	8	3	1	1
<i>Augochlorella</i> sp.	4	15	14	7	2	0
<i>Euglossa</i> sp.	0	3	0	0	1	0
Vespidae	1	0	0	1	1	0
Trochilidae	2	3	4	1	1	0
<i>Ceratina</i> sp.	1	0	0	0	0	0
<i>Xylocopa</i> sp.	4	4	0	3	0	0

De acuerdo con el análisis de la chi cuadrada, existen asociaciones entre la especie y los tipos de comportamiento que influyen en la polinización ($X^2= 63.448$; 8 gl; $P=9.776^{-11}$). Según los residuales ajustados (Cuadro 13), *Diadasia* sp. tiene menos visitas que lo esperado por azar, en las que toca únicamente los estambres, mientras que tiene más visitas que lo esperado por azar en las que toca el estigma o ambos órganos sexuales. *Apis mellifera* no resalta en ningún tipo de comportamiento, debido a que tiene menor frecuencia que otros visitantes. Por otro lado, *Lithurgopsis* sp., Halictidae, *Augochlorella* sp., *Ashmeadiella* sp., *Euglossa* sp., *Ceratina* sp., *Xylocopa* sp., y Vespidae tienen mayor frecuencia que lo esperado por azar en tener contacto únicamente con los estambres. Su frecuencia no resalta en tener contacto únicamente con el estigma y teniendo contacto con ambos aparatos su frecuencia es menor que lo esperado por azar.

Cuadro 12. Frecuencia de los visitantes florales de *Opuntia atropes* observados para cada tipo de comportamiento.

Visitante/ comportamiento	Estambres	Estigma	Tépalos	Ambos aparatos	Néctar
<i>Diadasia</i> sp	180	96	8	198	0
<i>Apis mellifera</i>	10	1	0	7	0
<i>Lithurgopsis</i> sp	33	1	1	5	0
<i>Ashmeadiella</i> sp	6	0	1	0	0
Halictidae	22	0	0	4	0
<i>Augochlorella</i> sp	22	3	1	17	0
<i>Euglossa</i> sp	3	1	0	0	0
Vespidae	1	1	0	1	0
Trochilidae	0	0	0	0	11
<i>Ceratina</i> sp	0	0	1	0	0
<i>Xylocopa</i> sp	12	2	0	1	0

Cuadro 13. Residuos ajustados que muestran que las categorías de comportamiento difieren significativamente. Los valores mayores a 3 (valores en color verde) indican que hay una mayor frecuencia a la esperada por azar, mientras que los valores menores a -3 (valores en color rojo) muestran una frecuencia menor en contraste a lo esperado (basado en valores estandarizados de la distribución normal, Everitt, 1977). Otras: *Ashmeadiella* sp., *Augochlorella* sp., *Euglossa* sp., *Ceratina* sp., *Xylocopa* sp., y Vespidae.

Visitante/ comportamiento	Estambres	Estigma	Tépalos
<i>Diadasia</i> sp	-7.177	4.139	4.205
<i>Apis mellifera</i>	0.817	-1.29	0.153
<i>Lithurgopsis</i> sp	4.983	-2.449	-3.248
Halictidae	3.261	-2.885	-1.134
Otras	3.527	-0.356	-3.362

En cuanto al tiempo de manejo de los visitantes florales de *O. atropes*, se registró que los polinizadores tienen un amplio rango en la duración de la visita (min = 1 s, max= 120 s) y la distribución está sesgada a la derecha (Figura 16).

De acuerdo al análisis de Kruskal-Wallis, existen diferencias significativas entre grupos ($\chi^2= 18.808$; 7 gl; $P= 0.008812$). De acuerdo con la comparación por pares con ajuste para comparaciones múltiples, se encontró que se formaron 3 grupos (Figura 19), el grupo **a** conformado por *Apis mellifera*, *Augochlorella* sp., *Diadasia* sp., Halictidae y *Lithurgopsis* sp.; el grupo **b** por *Apis mellifera*, *Augochlorella* sp., Otra, Trochillidae y *Xylocopa* sp., finalmente el grupo **c** está formado por Otra, Trochilidae y *Xylocopa* sp. El tiempo de manejo es mayor para los del grupo **a**, intermedio para el grupo **b** y menor para el grupo **c**. Las especies que conforman exclusivamente al grupo a (*Diadasia* sp., Halictidae y *Lithurgopsis* sp.) son los visitantes con mayor tiempo de visita en las flores de *O. atropes*. Dentro del grupo **a**, resalta el tiempo de manejo de visitas del género *Diadasia*, debido a que 11 de sus visitas permanecieron mayor tiempo dentro de la flor comparado con los demás grupos.

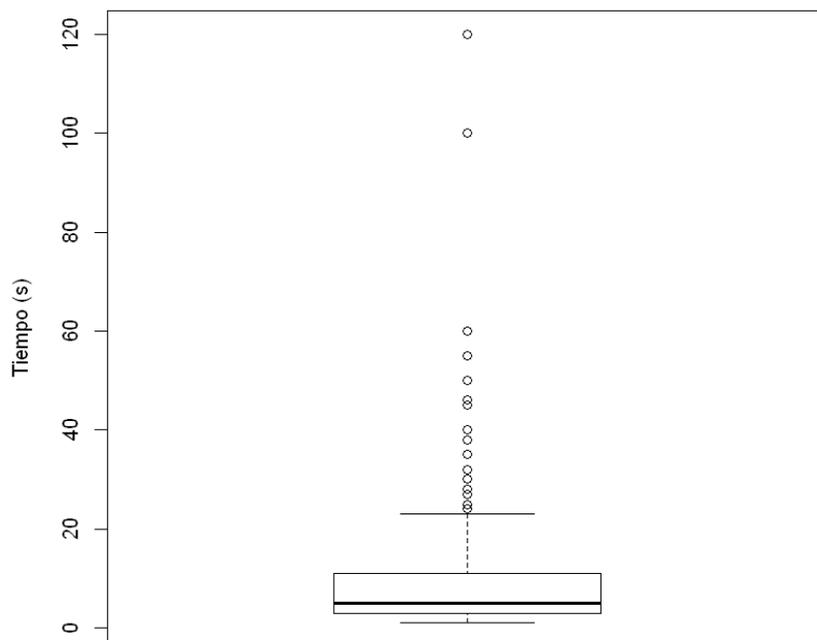


Figura 16. Distribución del tiempo de visita de 11 especies de visitantes florales a *O. atropes*. La distribución está sesgada a la derecha (1er cuartil: 3 s; 2° cuartil: 5 s, 3er cuartil: 11 s.)

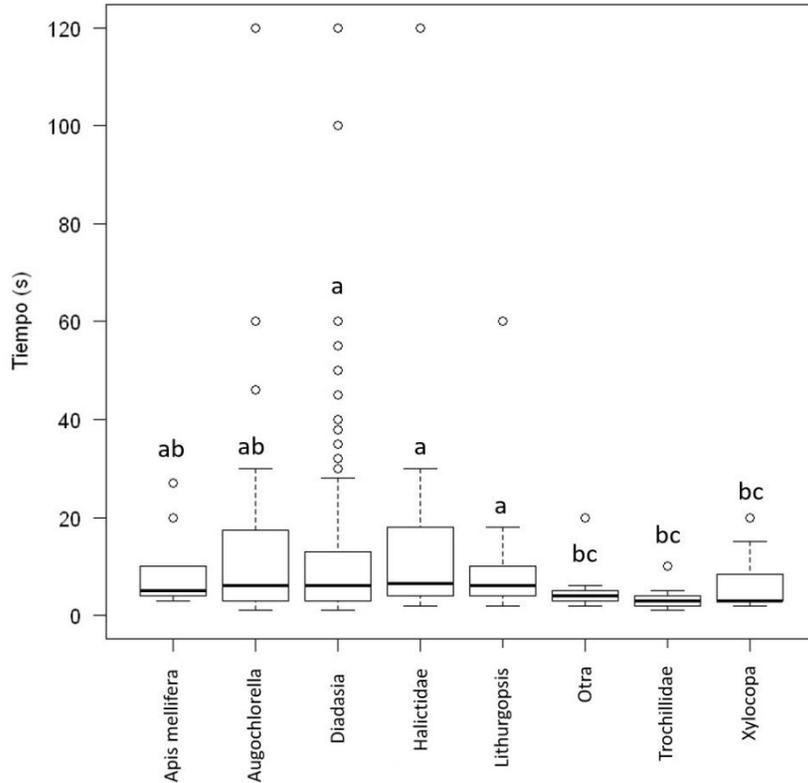


Figura 17. Tiempo de manejo de los visitantes florales en *O. atropes* ($n=20$) en 2019.

7. DISCUSIÓN

7.1. Periodo de floración y ciclo floral

La familia Cactaceae presenta patrones de temporales de floración muy diversos en cuanto al tiempo de inicio y la duración. Existen especies de cactáceas que florecen todo el año como *Echinocactus plathyacanthus* Link y Otto (Jiménez-Sierra *et al.*, 2007), otras especies florecen en primavera como *Ferocactus histrix* G.E.Linds. (Nassar y Ramírez, 2004) y algunas especies presentan su floración en el verano como ocurre con *Hylocereus undatus* Britt y Rose (Valiente-Banuet, *et al.*, 2007).

La floración de *Opuntia* ocurre en primavera, de tal forma que en el hemisferio norte ocurre en marzo o abril, en cambio en el hemisferio sur ocurre en los meses de septiembre y octubre (Nerd y Mizrahi, 1995). En México se ha registrado que, en los estados de México, Hidalgo, y Puebla, la floración ocurre entre febrero y abril, más temprano que en otros estados de la república, y en ocasiones aparecen flores aisladas durante el transcurso del verano (Pimienta-Barrios, 1990). El período de floración generalmente es largo, en *O. ficus-indica*

Mill es de 3 a 5 semanas (Wessels y Swart, 1990), sin embargo, se ha reportado que la duración de la floración de *O. joconostle* F. A. C. Weber es de aproximadamente 25 semanas (Sánchez *et al.*, 1991). El periodo de floración de *O. atropes* en la localidad de Valle de Vázquez, Tlaquiltenango es de 14 a 16 semanas, duración similar a la de *O. cochineria* Griffiths, que es de aproximadamente 3 meses (Rodríguez, 1981). Su floración inicia en febrero y termina en mayo, y coincide con el periodo de floración de *O. tomentosa* Salm-Dyck y *O. robusta* H. L. Wendl (Beutelspacher, 1971).

El periodo de fructificación de *O. atropes* comienza en mayo y termina en julio, y coincide con el periodo de fructificación de *O. cantabrigiensis* Lynch (Hernández-Peña, 2016).

De acuerdo con el periodo de floración y fructificación observado en *O. atropes*, se sugiere un patrón fenológico asincrónico, debido a que se pueden encontrar botones florales, flores y frutos de manera simultánea durante mayo. Este patrón fenológico asincrónico puede representar una ventaja para las plantas que se encuentran en ambientes adversos (Bustamante, 2003). Sin embargo, en este proyecto solo se estimó el periodo de floración de manera descriptiva, por lo que para determinar si este patrón es sincrónico o asincrónico, es necesario realizar una estimación cuantitativa de la fenología de *O. atropes* (Salomé-Díaz, 2014).

Las flores en la familia Cactaceae viven típicamente un día (Rosas y Pimienta-Barrios, 1986), pero algunas pueden abrir hasta dos días (Mandujano *et al.*, 2010). Las flores de *O. atropes* solo viven un día, son diurnas, con una duración de la antesis 6 a 7 horas aproximadamente; la antesis comenzó a las 10:00 h y el cierre ocurrió aproximadamente hasta las 16:00 h.

El pico máximo de apertura del perianto se registra a las 12:00 h, similar al pico máximo de apertura de *O. rastrera* (Mandujano *et al.*, 1996; Reyes-Agüero *et al.*, 2006). En otras especies, tales como *O. brunneogemmia*, *O. ficus-indica*, *O. phaeacantha* Engelm, *O. polyacantha* Haw, *O. robusta* y *O. streptacantha* Lem, la flor se abre después del mediodía, al atardecer cierra y se abre de nuevo al día siguiente (Rosas y Pimienta, 1986; Trujillo, 1986; del Castillo y González, 1988; Osborn *et al.*, 1988; Schindwein y Wittmann, 1997; Reyes-Agüero *et al.*, 2006). Sin embargo, se cree que especies que presentan flores que abren sólo un día podrían presentar cierta ventaja, ya que esto podría ser una estrategia para reducir la pérdida del agua al disminuir el tiempo disponible de la transpiración (Primack, 1982).

Las flores de *O. atropes* son homógamas; al inicio de la antesis las anteras fueron dehiscentes y transcurrió poco tiempo para que se encontrara exudado en el estigma, lo cual significa, que no existe separación temporal significativa de la activación de los verticilos sexuales (dicogamia). La homogamia en las flores de *O. atropes* coincide con la mayoría de las especies del género *Opuntia* (Reyes-Agüero *et al.*, 2006), en las que no existe separación temporal de las funciones sexuales dentro de una flor. La homogamia permite que las plantas tengan un sistema de autocruza porque la autopolinización puede ocurrir a nivel de flor, siempre y cuando la especie no presente alguna estrategia de autoincompatibilidad (Wyatt, 1983).

7.2. Morfología floral

O. atropes tiene una biología similar a la de otras plantas pertenecientes al mismo género. Las flores de *O. atropes* son morfológicamente bisexuales, que es la morfología más común en *Opuntia* (Bravo-Hollis, 1978; Gibson y Nobel, 1986; Anderson, 2001). Las flores de *Opuntia* son generalmente de color amarillo, pero también son de color naranja, rosa, morado, rojo, blanco o flores moteadas (Bravo-Hollis, 1978; Anderson, 2001). Las flores de *O. atropes* al iniciar la antesis presentan color amarillo; sin embargo, conforme aumentan en edad su tonalidad va cambiando a colores rosa o amarillo con manchas naranjas o rojo. En algunas angiospermas las partes de la flor no relacionadas con el desarrollo del fruto se marchitan o caen después de que el estigma se vuelve no receptivo, o bien cuando ya se llevó a cabo la fecundación (Gori, 1983), mientras que otras especies conservan sus flores después de la etapa de fecundación. Algunos autores, proponen que la retención de flores viejas puede aumentar la atracción de los polinizadores (Gori, 1983, 1989; Cruzan *et al* 1988, Weiss 1991). Sin embargo, en estas especies se producen cambios de color en la flor (Weiss, 1991), tal como ocurre con las flores de *O. atropes*, las flores anteriores a este cambio contienen más néctar o recompensas de polen que las flores posteriores al cambio de color floral, además de ser receptivas y presentar polen viable, diferenciándolas de las flores que ya presentan cambio de coloración (Casper y LaPine, 1984; Lamont, 1985; Eisikowitch y Rotem, 1987, Lamont y Collins, 1988; Weiss, 1991).

Se ha reportado que muchos polinizadores, incluyendo a las abejas (Lamont, 1985; Weiss, 1991), son selectivos entre las fases de color de las flores, afectando su

comportamiento. Este cambio floral beneficia a los polinizadores al señalar la distinción entre flores ricas en recompensas, aumentando su eficiencia en la búsqueda de alimento (Heinrich, 1975; Schemske, 1976, 1980; Schaal y Leverich, 1980; Gori, 1983; Casper y La Pine, 1984). Por lo tanto, también las plantas pueden ser beneficiadas con el cambio de coloración de la flor, ya que este mecanismo estaría dirigiendo a los polinizadores hacia las flores no polinizadas (Ne'eman y Neshet, 1995) lo que aumentaría el éxito reproductivo en plantas como *O. atropes*.

El diámetro máximo de apertura del perianto fue de 40.84 ± 16.59 mm, similar a la descripción de la especie (Rose, 1908; Bravo-Hollis, 1978). El número de óvulos en el género *Opuntia* es muy variado. Se ha documentado que este número es de 150 a 400 en *O. ficus-indica* (Pimienta-Barrios y del Castillo, 2002), 366 en *O. cantabrigiensis* (Hernández-Peña, 2016) y 82 en *O. tomentosa* (Galicia- Pérez, 2013). En *O. atropes* el promedio del número de óvulos fue 152, resultado similar al número de óvulos que puede tener *O. ficus-indica*. El número de estambres en las cactáceas también es numeroso y variable, por ejemplo, 268 en *O. polyacantha*, 358 en *O. phaeacantha* (Osborn *et al.*, 1988), 450 en *O. viridirubra* (F. Ritter) P. J. Braun y Esteves y 598 en *O. brunneogemma* (Schlindwein y Wittmann, 1997). Las flores de *O. atropes* poseen en promedio 430 estambres por flor es de, por lo tanto, es similar a *O. viridirubra*. Mientras que la cantidad de granos de polen de *O. atropes* es de 177 760, cantidad similar a la que tienen las flores de *O. rastrera* que es de 160 699 (Mandujano *et al.*, 1996); se ha reportado que en *O. cantabrigiensis*, la cantidad es más elevada, tienen alrededor de 365 691 granos de polen por flor (Hernández- Peña, 2016).

Se ha descrito de forma cualitativa que en *Opuntia* el tamaño de los estambres está relacionado con la posición que tienen en la flor, por ejemplo, suelen ser más cortos los estambres que se localizan más cerca del estilo y más largos conforme se alejan de él. En el inicio de la antesis, en *O. ficus-indica*, los estambres se agrupan alrededor del estilo, pero se separan más tarde (Rosas y Pimienta-Barrios, 1986), similar a lo que se observó en *O. atropes*.

En las cactáceas, debido a que los estambres son numerosos y se encuentran posicionados en forma de espiral, se ha reportado que algunos tienen sensibilidad tigmomástica (tigmomastia), es decir que se mueven cuando se tiene contacto con ellos (Rosas y Pimienta-Barrios, 1986). Los estambres de *O. atropes* presentan estambres tigmomásticos, ya que

cuando los insectos tenían contacto con los estambres, estos últimos se movían hacia el estigma y hacia los tépalos.

El papel que tiene la tigmonastia en la polinización no está del todo claro y para la familia Cactaceae se han propuesto diferentes hipótesis. Se ha planteado que estos movimientos pueden facilitar la remoción de polen por insectos durante las visitas florales (Grant y Hurd, 1979), y también promueven la autopolinización (Rosas y Pimienta-Barrios, 1986), mientras que otros autores sugieren que facilita la polinización cruzada. La tigmonastia de los estambres también se ha propuesto como un mecanismo para presentar el polen que se encuentra en las anteras superiores y al mismo tiempo proteger las anteras más ricas en polen, evitando que los visitantes florales ineficientes roben el polen de estas anteras, dejando así esta recompensa floral disponible únicamente para los polinizadores más eficientes, los cuales son capaces de alcanzar las capas de los filamentos inferiores (Cota-Sánchez *et al.*, 2013). De acuerdo con las observaciones realizadas en las flores de *O. atropes*, se observó que la respuesta de tigmonastia de los estambres ocurre en dos direcciones diferentes: hacia el estigma y hacia los tépalos. La primera respuesta, con dirección hacia el estigma, facilitaría la autopolinización en caso de que *O. atropes* no presentara un sistema de autoincompatibilidad. La segunda, con dirección hacia los tépalos, podría beneficiar a los polinizadores que son eficientes, principalmente a las abejas de talla mediana como *Diadasia* sp., debido a que durante sus visitas se introducían en la parte inferior de la flor, donde se encuentran las anteras con mayor cantidad de polen, permitiendo así obtener las recompensas florales (néctar y polen) que se intentan proteger de los visitantes que no son eficientes debido a su comportamiento o tamaño.

Las plantas han evolucionado estrategias que evitan o disminuyen la autocruza, tanto por autopolinización como por geitonogamia, debido a que la autocruza puede llevar a la endogamia y causar un aumento de homocigosis (Márquez-Guzmán *et al.*, 2013). Una de estas estrategias es la hercogamia o separación espacial de los verticilos sexuales (Lloyd, 1979). En la familia Cactaceae, la hercogamia es un mecanismo muy común que se ha reportado para cactáceas como en las del género *Ariocarpus* (Martínez-Peralta y Mandujano, 2011) y en *O. cantabrigiensis* (Hernández-Peña, 2019). En las flores de *O. atropes* las longitudes de los estambres y los pistilos tienen diferencias estadísticamente significativas, indicativo de que las flores tienen hercogamia como estrategia para promover la entrecruza.

7.3. Sistema de apareamiento

Se ha reportado que la mayoría de las cactáceas son xenógamas obligadas, es decir que para que ocurra la fecundación, el polen debe provenir de otro individuo genéticamente diferente (Mandujano *et al.*, 2007). Sin embargo, la autopolinización ocurre en algunas especies (Anderson, 2001) e incluso forma parte de su sistema de cruza (Mandujano *et al.*, 2010).

El sistema de apareamiento de *O. atropes* estimado con el índice de entrecruza, que se basa en atributos florales, corresponde al sistema de apareamiento xenógamo obligado. Cruden (1977) propone que este sistema de apareamiento predomina en especies autoincompatibles por lo que para llevar a cabo la fecundación tiene que existir de forma obligatoria la entrecruza, la cual requiere de vectores bióticos (polinizadores). Sin embargo, la relación P/O estimada es de 1428 ± 873 que corresponde a la categoría de xenogamia facultativa, según la clasificación de Cruden (1977). En este sistema, es posible la formación de una proporción moderada de frutos y semillas por autopolinización, lo cual no coincide con nuestros resultados (ver abajo sistema de cruza), en particular cuando no existen las condiciones favorables para la polinización cruzada. Otras especies de este género que también se ha reportado que presentan con un sistema de apareamiento de tipo xenógamo facultativo son *O. rastrera* (Mandujano *et al.*, 1996) y *O. tomentosa* (Galicia-Pérez, 2013).

7.4. Sistema de cruza

En los experimentos de polinización controlada hubo mayor proporción de frutos en los tratamientos que incluyen la polinización cruzada que en los tratamientos de autopolinización lo que sugiere que el sistema de cruza de *O. atropes* es de entrecruza. Se ha mencionado que el sistema xenógamo facultativo es el predominante dentro del género *Opuntia*, ya que la mayoría de los representantes son capaces de producir semillas viables por entrecruza, pero una parte de su progenie puede ser producto de la autocruza (Hernández- Peña, 2016). Sin embargo, debido a la baja proporción de la producción de frutos en ambos tratamientos de autopolinización (autocruza manual y autocruza automática), se propone que quizá *O. atropes* posea algún sistema de autoincompatibilidad total o parcial (Martínez-Peralta *et al.*, 2014), como se ha descrito en otras cactáceas (Johnson, 1992; Bowers, 2002). Para comprobar si existe autoincompatibilidad se tienen que realizar experimentos dirigidos a evaluar la respuesta del rechazo del polen por parte del pistilo.

La producción de un solo fruto de autocruza puede deberse a que algún polinizador logró entrar a la flor antes de ser cubierta o hubo errores durante la manipulación del transporte del polen manualmente, o a la presencia de un sistema de autoincompatibilidad parcial (Lenzi y Orth, 2012; Martínez-Peralta et al., 2014). La amplia diferencia entre el éxito de los tratamientos de polinización natural y entrecruza con respecto a la autopolinización, sugiere que el sistema de cruza en *O. atropes* es de entrecruza, ya que el valor que se obtuvo en el índice de entrecruzamiento es muy cercano a 1, valor que representa tendencia hacia la entrecruza (Mandujano et al., 2010) y el porcentaje de la progenie que deriva de la entrecruza es 94.7%. La tasa de entrecruzamiento de *O. atropes* es similar a la que muestra *O. cantabrigiensis*, donde el 96.7% de la progenie proviene de la entrecruza (Hernández-Peña, 2016); a diferencia de algunas especies que presentan sistemas mixtos como *O. compressa* y *O. phaeacantha* (Grant et al., 1979).

No hubo diferencias significativas en la producción de frutos de los tratamientos de entrecruza manual y control, mientras que, el tamaño y el número de semillas de los frutos fueron mayores en el tratamiento control. Esto puede estar relacionado con una menor diversidad y cantidad de polen en el tratamiento de entrecruza manual, en comparación con el tratamiento control en el que se promueve la diversidad de donadores de polen, además de que los polinizadores poseen estructuras que facilitan la adherencia del polen a sus cuerpos y aseguran el transporte del polen a otras flores.

Mediante la comparación entre los tratamientos control (CON2) y suplemento de polen (SUP2), es posible determinar si existe limitación de polen. En el suplemento de polen la producción de semillas fue mayor que en el tratamiento control, lo que indica que las plantas podrían producir un 20% más de semillas si recibieran más polen del que reciben por polinización natural. Asimismo, el índice de limitación de polen nos indica que existe limitación de polen moderada a nivel de frutos y semillas.

La diferencia del éxito en semillas podría explicarse con el principio de Bateman (Burd, 1994), que propone que el éxito reproductivo femenino puede estar limitado por la cantidad de polen disponible para la fertilización. Ocurre limitación de polen cuando la cantidad o calidad de granos de polen depositados sobre un estigma reduce el éxito reproductivo de la flor en cantidad (número de semillas o forma del fruto) y/o calidad (tamaño o masa de la semilla) (Ashman et al, 2004). La limitación de polen en angiospermas está

ampliamente extendida, pero poco estudiada (Ashman *et al.*, 2004), y también ha sido documentado en Cactaceae (Martínez-Peralta y Mandujano, 2011; Martínez-Peralta *et al.*, 2018). Esta limitación en la reproducción se relaciona con el transporte de polen por parte de los polinizadores, por lo que es fundamental también conocer su desempeño.

7.5. Polinizadores

El síndrome de polinización determinado para *O. atropes* es melitofilia, el cual es común en la familia y en el género (Pimienta-Barrios y del Castillo, 2002; Reyes-Agüero *et al.*, 2006). Las características florales de *O. atropes* que corresponden al síndrome de polinización melitofílico son la antesis diurna, las tonalidades con predominancia de amarillos y rosas, la profundidad de la flor y la presencia de néctar y polen, los cuales sirven como recompensas para las abejas.

Las visitas de polinizadores a las flores de *O. atropes* comienzan a las 10:30 h y concluyen a las 16:00 h aproximadamente. De 12:00 a 13:00 h se registró la máxima frecuencia de polinizadores, disminuyendo considerablemente durante la tarde, similar a lo registrado para *O. cantabrigiensis*, que tiene mayor número de polinizadores de 11:30 a 13:30 h (Hernández-Peña, 2016) y en *Ariocarpus fissuratus* (Engelm) K. Schum que tiene su máxima frecuencia de visitas a las 12:00 h para ambos días de vida de la flor (Martínez-Peralta, 2007). Esto podría deberse a que la luz y el calor aceleran el funcionamiento de los músculos de los insectos durante el vuelo, debido a que son animales ectodermos y requieren de más luz y calor para acelerar esa actividad (Schoonhoven *et al.*, 2005).

El polinizador más frecuente para *O. atropes* es la abeja solitaria de talla mediana *Diadasia* sp. Las abejas de este género están presentes de manera natural sólo en el continente americano y son más frecuente en zonas áridas y semiáridas de América del Norte y Sur (Linsley y MacSwain, 1957; Michener *et al.*, 1994; Reyes-Agüero *et al.*, 2006). Se observó que esta abeja transportaba el polen que se adhería a sus pares de patas, de una flor a flores de individuos diferentes. La abeja perteneciente al género *Lithurgopsis* tuvo el 6% de las visitas y es también una abeja de talla mediana. A diferencia de la abeja *Diadasia* sp., ésta tenía adherencia del polen en el abdomen característica de la familia Megachilidae. En *O. cantanbrigiensis* y otras especies de *Opuntia*, se han registrado como polinizadores frecuentes morfoespecies del género *Lithurgopsis*. Este género tiene una distribución más amplia en el

mundo, pero sus especies son propias de ambientes xerófilos, en América del Norte son oligolécticas de *Opuntia* (Michener *et al.*, 1994; Reyes-Agüero *et al.*, 2006). *Diadasia* y *Lithurgopsis* han sido mencionados como los dos géneros que han coevolucionado con el género *Opuntia* (Linsley y MacSwain de 1957; García, 1984; Ordway, 1984; Michener *et al.*, 1994; Mandujano *et al.*, 1996; Schlindwein y Wittmann, 1997; Reyes-Agüero *et al.*, 2006). Se ha mencionado que ambos géneros son polinizadores eficaces por sus hábitos de vuelo y la presencia de estructuras que facilitan la adherencia de granos de polen a su cuerpo (Plasencia, 2003; Reyes-Agüero *et al.*, 2006; Mandujano *et al.*, 2014).

Otras abejas que también visitan las flores de *O. atropes* son *Apis mellifera* y *Ashmeadiella* sp., que también se han reportado como polinizadores del género *Opuntia* (Grant y Hurd, 1979). Por su parte, las abejas *Ceratina* sp. y *Augochlorella* sp. han sido reportadas como especies casuales en *Opuntia*. Otros visitantes que se encontraron como polinizadores, aunque no tan frecuentes, son *Euglossa* sp. y *Xylocopa* sp.; sin embargo, no se encontraron registros de estos polinizadores en más especies pertenecientes al género *Opuntia* (Reyes-Agüero *et al.*, 2006).

Existe una asociación entre las especies visitantes de *O. atropes* y el comportamiento que presentan. Por ejemplo, *Diadasia* sp., es el visitante que contacta con mayor frecuencia el estigma y ambos aparatos reproductores, mientras que *Lithurgopsis* sp., Halictidae, *Augochlorella* sp., *Ashmeadiella* sp., *Euglossa* sp., *Ceratina* sp., *Xylocopa* sp. y Vespidae tienen mayor frecuencia tocando únicamente estambres, por lo cual se concluye que estas especies son principalmente colectoras de polen mientras que *Diadasia* sp., lleva a cabo la polinización de *O. atropes*. *A. mellifera* tiene baja frecuencia en todos los comportamientos, por lo que se propone que sólo es un visitante ocasional. Por otra parte, los colibríes tienen un comportamiento de forrajeo para consumir néctar de las flores que se encuentran en la parte más alta de las flores, debido a esto, no fue posible determinar con certeza si es un polinizador de *O. atropes*.

Los polinizadores tienen un amplio rango de duración en las visitas a las flores, que van de 1 s a 120 s. *Diadasia* sp., *Lithurgopsis* sp. y Halictidae son los visitantes con mayor tiempo de visita; *Apis mellifera* y *Augochlorella* sp., tienen un tiempo de manejo intermedio; mientras que *Ashmeadiella* sp., *Ceratina* sp., *Euglossa* sp, Vespidae, Trochilidae y *Xylocopa* sp., son los visitantes con menor tiempo de manejo durante sus visitas. El tiempo de visita de

Diadasia sp. resalta debido a que se registra que las abejas de este género permanecieron mayor tiempo dentro de las flores de *O. atropes* que el resto de los grupos. Por lo tanto, se concluye que *Diadasia* sp., además de ser el visitante más frecuente, es también el visitante con mayor tiempo de manejo, esto significa que lleva a cabo la polinización de *O. atropes* con mayor efectividad que las demás especies que la visitan.

Algunas de las abejas que polinizan a *Opuntia atropes* son especies solitarias, entre ellas *Diadasia* sp., *Ashmeadiella* sp. y *Lithurgopsis* sp, nativas de las regiones secas de Norteamérica. Estas abejas a diferencia de las abejas sociales, visitan preferentemente a un grupo reducido de especies de plantas, por lo cual se les llama oligolécticas (Schlindwein, 2004), que en la familia Cactaceae tienden a ser los polinizadores más efectivos (McIntosh, 2005), y también a tener cierto nivel de dependencia hacia los recursos flores de esta familia (Martínez-Peralta *et al.*, 2018). Esto significa, que abejas como *Diadasia* sp., que es el polinizador más frecuente de *Opuntia atropes* en la localidad estudiada, depende de la prevalencia de los recursos florales que ofrece de *O. atropes*. Por otro lado, también existe una dependencia de *O. atropes* hacia *Diadasia* sp., considerando que el 75% de las visitas que se registraron son de estas abejas. Como se menciona anteriormente, *O. atropes* en una especie con sistema de apareamiento de tipo xenógamo facultativo a xenógamo obligado, mientras que el sistema de cruce es de tipo entrecruza, por lo tanto, la reproducción sexual de la planta depende totalmente de sus polinizadores, en particular de *Diadasia* sp.

Actualmente existe a nivel global una crisis de pérdida de polinizadores, causada principalmente por actividades antropogénicas, por ejemplo, prácticas de agricultura intensiva como los monocultivos, uso de plaguicidas y agroquímicos, así como la pérdida de hábitat por deforestación y fragmentación (Coro-Arizmendi, 2009). Durante la realización de este proyecto, uno de los sitios de estudio (Valle de Vázquez) fue talado y quemado, en él se encontraban más de 700 individuos de *O. atropes*. Esta es una práctica que disminuye los recursos florales disponibles para las abejas, y su recuperación puede tardar años o décadas.

Una estrategia eficaz para conservar a las abejas nativas, es conservar el hábitat adecuado de estas especies (Carman y Jenkins 2016). Es importante recordar que la polinización es un mutualismo, en el cual las flores proporcionan recompensas florales (néctar y polen) a las abejas, y las abejas aseguran el reclutamiento de nuevos individuos en las poblaciones que polinizan (Martínez-Peralta, 2012). *Diadasia* sp. fue el polinizador dominante

en *O. atropes*, pero las otras especies de abejas registradas también se benefician de este recurso floral. Por otro lado, estas abejas también podrían participar en la polinización de otras plantas nativas, constituyendo una red de polinización. De esta manera, es importante conservar las especies de cactáceas como *O. atropes*, porque al estar estrechamente relacionadas con otros organismos como las abejas, se podría estar beneficiando a la conservación de más especies vegetales.

8. CONCLUSIONES

- ✚ *O. atropes* tiene una biología floral similar a la de otras plantas pertenecientes al mismo género.
- ✚ *O. atropes* tiene un periodo de floración de 12 a 14 semanas, iniciando en febrero; el pico máximo de antesis floral ocurre en la segunda quincena de marzo. El periodo de fructificación comienza en mayo y concluye en julio.
- ✚ Presenta un patrón fenológico asincrónico, lo cual significa que se pueden encontrar botones, flores y frutos simultáneamente.
- ✚ La apertura de las flores es de 10:00 a 16:00 h, el pico máximo de apertura del perianto ocurre aproximadamente a las 12:00 h.
- ✚ Las flores son diurnas y con tonalidad amarilla al inicio de la antesis. A partir de las 12:00 h inicia una variación en la coloración de la flor, varían de color naranja hasta llegar a tonalidades rosadas hasta que finaliza la antesis.
- ✚ Las flores son morfológicamente bisexuales (presentan ambos aparatos reproductores). Son flores homógamas (no existe la separación temporal de la activación de los verticilos sexuales) y presentan hercogamia (separación espacial de los verticilos sexuales) como mecanismo para disminuir la autocruza.
- ✚ Los estambres de *O. atropes* presentan sensibilidad tigmonástica, cuando los polinizadores tienen contacto con los estambres, éstos se mueven hacia el estigma y luego regresan hacia los tépalos.
- ✚ *O. atropes* tiene un sistema de cruce xenógamo (de entrecruza) y un apareamiento xenógamo obligado. Estos resultados indican que los polinizadores son fundamentales para llevar a cabo la fecundación favorecidos por los atributos florales que promueven la polinización cruzada.

- ✚ Existe limitación por polen moderada en el número de frutos y semillas, de acuerdo con la comparación de los tratamientos de polinización natural y suplemento de polen. Esto indica que las plantas podrían producir aún más frutos y más semillas, pero posiblemente los polinizadores no están transportando suficiente polen para fecundar a más óvulos.
- ✚ Los polinizadores más frecuentes son las abejas nativas *Diadasia* sp., *Lithurgopsis* sp. y *Ashmeadiella* sp. De todos los polinizadores, *Diadasia* sp. realiza el 74% de las visitas a las flores de *O. atropes*. La abeja *Diadasia* sp. es el polinizador más valioso para las flores de *O. atropes*, debido a su alta frecuencia, además de que fue la única especie que en la mayoría de sus visitas (98% aproximadamente) tuvo contacto con ambos verticilos sexuales y presenta mayor tiempo de manejo durante las visitas, lo que asegura la polinización.

9. LITERATURA CITADA

Anderson EF. 2001. The cactus family. Timber Press. Portland, Oregon. 777 p.

Agresti A. 2007. An Introduction to Categorical Data Analysis, Second Edition.

Arias S, Arreola H. 1995. Consideraciones sobre *Opuntia decumbens* Salm-Dyck. Cactáceas y Suculentas Mexicanas. 4:86-91.

Ashman TL, Knight TM, Steets JA, Amarasekare P, Burd M, Campbell DR, Dudash M, Johnston JO, Mazer SJ, Mitchell RJ, Morgan MT, and Wilson WG. 2004. Pollen limitation of plant reproduction: ecological and evolutionary causes and consequences. Ecology 85: 2408–2421.

Barrett S. 2015. Influences of clonality on plant sexual reproduction. Proceedings of the National Academy of Sciences. USA; 112 (29):8859-8866.

Barthlott W, Hunt DR. 1993. Cactaceae. *In*: Kubitzki, K. (ed.), The families and genera of vascular plants 2: 161-197.

Bawa KS, Beach JH. 1981. Evolution of sexual systems in flowering plants. Annals of the Missouri Botanic Garden. 68: 254-274.

Beck CB. 1976. Origin and early evolution of Angiosperms. Columbia University Press. New York. 341 pp.

Boke NH. 1980. Developmental morphology and anatomy in Cactaceae. BioScience 30, 605–610 pp.

Booth B, Murphy S, Swanton C. 2010. Invasive plant ecology in natural and agricultural systems. 2a. edición. CAB International, Cambridge. 214 pp.

Bowers JE. 2002. Flowering patterns and reproductive ecology of *Mammillaria grahamii* (Cactaceae), a common, small cactus in the Sonoran Desert. *Madroño* 48:201-206.

Braam J. 2005. In touch: plant responses to mechanical stimuli. *New Phytologist*. 165, 373-389.

Bravo-Hollis H. 1978. Las Cactáceas de México. Volumen I. Universidad Nacional Autónoma de México, México. 302 p.

Bravo-Hollis H, Sánchez-Mejorada H. 1991. Las Cactáceas de México. Vol. III. UNAM, México. 537-571 pp.

Brown AHD. 1990. Genetic characterization of plant mating systems. *In*: Brown, A. H. D., Clegg, M. T., Kahler, A. L. y B. S. Weir. (eds.). *Plant population genetics, breeding, and genetic resources*. Sinauer, Sunderland, MA. 143-162 pp.

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.

Busch JW, Schoen DJ. 2008. The evolution of self-incompatibility when mates are limiting. *Trends in Plant Science* 13(3): 128-136.

Bustamante E. 2003. Variación espacial y temporal en la reproducción y estructura poblacional de *Stenocereus thurberi*: una cactácea columnar del matorral costero del sur de Sonora, México. Tesis de maestría. UNAM. México.

Butz VM. 1997. Ecological impacts of introduced honey bees. *The Quarterly Review of Biology* 72: 275-297.

Carman K, Jenkins D. 2016. Comparing diversity to flower-bee interaction networks reveals unsuccessful foraging of native bees in disturbed habitats. *Biological Conservation* 202: 110-118.

Casper BB, LaPine TR. 1984. Changes in corolla color and other floral characteristics in *Cryptantha humilis* (Boraginaceae): Cues to discourage pollinators? *Evolution* 38: 128-141.

Charlesworth D, Charlesworth B. 1987. Inbreeding depression and its evolutionary consequences. *Annual Review of Ecology and Systematics* 18: 237-268.

Clark-Tapia R, Molina-Freaner F. 2004. Reproductive ecology of the rare clonal cactus *Stenocereus eruca* in the Sonoran desert. *Plant Systematics and Evolution* 247: 155-164.

Colunga GMP, Hernández XE, Castillo A. 1986. Variación morfológica, manejo agrícola y grados de domesticación de *Opuntia* spp. en el Bajío guanajuatense. *Agrociencia* 65: 7-49.

Coro-Arizmendi M. 2009. La crisis de polinizadores. *CONABIO. Biodiversidad* 85: 1-5.

Cota-Sánchez JH, Almeida O, Falconer DJ, Choi HJ, Bevan L. 2013. Intriguing thigmonastic (sensitive) stamens in the Plains Prickly Pear *Opuntia polyacantha* (Cactaceae). *Flora* 208: 381-389.

Crepet WL. 1983. The role of insect pollination in the evolution of the Angiosperms. L. Real, editor. *Pollination biology*. Academic Press, Orlando, Florida. 31-50 pp.

Cruden RW. 1977. Pollen/ovule ratios: a conservative indicator of breeding systems in flowering plants. *Evolution* 31:32-46.

Cruzan MB, Neal PR, Willson MF. 1988. Floral display in *Phyla incisa*: Consequences for male and female reproductive success. *Evolution* 42: 505-115.

Dafni A. 1992 Pollination Ecology. Oxford University Press. Oxford. 250 pp.

Del Castillo RF. 1994. Polinización y otros aspectos de la biología floral de *Ferocactus histrix*. *Cactáceas y Suculentas Mexicanas* 39:36- 43.

Del Castillo RF, González EM. 1988. Una interpretación evolutiva del polimorfismo sexual de *Opuntia robusta* (Cactaceae). *Agrociencia* 71, 185–196.

De Nettancourt D. 1997. Incompability in angiosperms. *Sexual plant reproduction* 10:185-199.

Domínguez CD, Pérez-Ishiwara JR. 2013. La biología de la polinización. En: Márquez Guzmán G, Collazo, M, Orozco A, Vázquez S (eds.). *Biología de Angiospermas*. Universidad Nacional Autónoma de México, México. 101-109 pp.

Dorado OB, Arias D, Ramírez S, Leyva E, Valenzuela D. 2005. Programa de conservación y manejo: Reserva de la Biosfera Sierra de Huautla. Comisión Nacional de Áreas Naturales Protegidas. 204 pp.

Eisikowitch D, Rotem R. 1987. Flower orientation and color change in *Quisqualis indica* and their possible role in pollinator partitioning. *Botanical Gazette*. 148: 175- 179.

Everitt BS. 1977. The analysis of contingency tables. *Monographs on Statistics and applied probability*. Champman & Hall, 128 pp.

Fenster C, Armbruster W, Wilson P, Dudash M, Thomson J. 2004. Pollination syndromes and floral specialization. *Review of Ecology, Evolution and Systematics*. 12: 375- 403.

Friedrich H. 1975. Las primeras relaciones de cactáceas en la vieja Europa. *Cactáceas y Suculentas Mexicanas*. 20 (3):53-67.

Galen C. 1999. Flowers and enemies: predation by nectar-thieving ants in relation to variation in floral form of an alpine wildflower, *Polemonium viscosum*. *Oikos* 85: 426- 434.

Galicia-Pérez A. 2013. Estudios sobre los sistemas de autoincompatibilidad presentes en *Opuntia tomentosa* Salm-Dyck (Cactaceae). Tesis de maestría. Universidad Autónoma Metropolitana, Unidad Iztapalapa; México, D.F.

Gentry AH. 1974. Flowering phenology and diversity in a tropical Bignoniaceae. *Biotropica* 6: 64-68.

Gibson AC, Nobel PS. 1986. *The Cactus Primer*. Harvard University Press, Cambridge 286 p.

Gori DF. 1983. Post-pollination phenomena and adaptive floral changes. In: Jones CE, Little RJ, eds. *Handbook of experimental pollination biology*. Van Nostrand Reinhold, New York. 31- 49 pp.

Gori DF. 1989. Floral color change in *Lupinus argenteus* (Fabaceae): Why should plants advertise the location of unrewarding flowers to pollinators? *Evolution* 43: 870- 881.

Grant V, Grant KA. 1979. The pollination spectrum in the southwestern American cactus flora. *Plant Systematics and Evolution* 133, 29–37.

Grant V, Grant KA, Hurd PD. 1979. Pollination of *Opuntia lindheimeri* and related species. *Plant Systematics and Evolution* 132:313-320.

Grant V, Hurd PD. 1979. Pollination of the southwestern opuntias. *Plant Systematics and Evolution* 133, 15–28.

Heinrich B. 1975. Energetics of pollination. *Annual Review of Ecology and Systematics* 6: 139- 170.

Hernández-Peña R. 2016. Biología reproductiva de *Opuntia cantabrigiensis* Lynch (Cactaceae) en la localidad de Cadereyta de Montes, Querétaro; México. Tesis de Licenciatura. Facultad de Ciencias, UNAM. México.

Holsinger K. 2000. Reproductive systems and evolution in vascular plants. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 97:7037-7042.

Hughes NF. 1976. *Palaeobiology of Angiosperm origins*. Cambridge University Press. Cambridge. 242 pp.

Hunt D. 2002. Alphabetical List of Currently Accepted Species. In: Hunt, D. and N. Taylor (Eds.). *Studies in the Opuntioideae*. The Mansel and Chapel Lave. Sherborne, UK. pp. 250–255.

INEGI, 2009. *Prontuario de información geográfica municipal de los Estados Unidos Mexicanos*. Tlaquiltenango, Morelos. 9 pp.

Jaffe MJ, Leopold CA, Staples RC. 2002. Thigmo responses in plants and fungi. *American Journal of Botany* 89, 375-382.

Jiménez-Sierra C, Mandujano MC, Eguiarte LE. 2007. Are populations of the Candy barrel cactus (*Echinocactus platyacanthus*) in the desert of Tehuacán, México at risk? Population projection matrix and life table response analysis. *Biological Conservation* 135:278-292.

Johnson R. 1992. Pollination and reproductive ecology of Acuña cactus, *Echinomastus erectocentrus* (Cactaceae). *International Journal of Plant Sciences* 153: 400-408.

Lamont BB. 1985. The significance of color change in eight co-occurring shrub species. *Botanical Journal of the Linnean Society* 90: 144- 155.

Lamont BB, Collins BG. 1988. Flower color change in *Banksia ilicifolia*: a signal for pollinators. *Australian Journal of Ecology* 13: 129- 135.

Larson BMH, Barrett SCH. 2000. A comparative analysis of pollen limitation in flowering plants. *Biological Journal of the Linnean Society* 69: 503–520.

Lenzi M, Orth AI. 2012. Mixed reproduction systems in *Opuntia monacantha* (Cactaceae) in Southern Brazil. *Brazilian Journal of Botany*. Vol. 35. 49- 58 pp.

Linsley EG, Mac Swein JW. 1957. The significance of floral constancy among bees of the genus *Diadasia* (Hymenopter, Anthophoridae). *Evolution* 12: 219-223 pp.

Lloyd DG, Barret SCH. 1996. Floral biology. *Studies on Floral Evolution in Animal-Pollinated Plants*. Chapman and Hall. Nueva York, USA. 410 p.

Mandujano MC, Carrillo-Angeles, Martínez-Peralta C, Golubov J. 2010. Chapter 10 Reproductive biology of Cactaceae. En Ramawat KG, ed. *Deserte Plants- Biology and Biotechnology*. Springer.

Mandujano MC, Golubov J, Huenneke L. 2013. Reproductive Ecology of *Opuntia macrocentra* (Cactaceae) in the Northern Chihuahuan Desert. *The American Midland Naturalist Journal* 169: 274-285.

Mandujano MC, Montaña C, Eguiarte L. 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 pp.

Mandujano MC, Plascencia L, Aguilar G, Jiménez G, Galicia-Pérez A, Rojas-Aréchiga M, Martínez-Peralta C. 2014. Sistema sexual de *Opuntia tomentosa* Salm-Dyck (Cactaceae, Opuntioideae) en un pedregal de origen volcánico. *Cactáceas y Suculentas Mexicanas* 59(4):100-120 pp.

Mangiafico SS. 2015. An R Companion for the Handbook of Biological Statistics, version 1. 3. 2.

Martínez-Peralta C, Flores-Vázquez JC, Mandujano MC. 2018. Polinizadores de cactáceas globosas en sitios con disturbio antropogénico. En: Ramírez-Bautista A y Pineda-López R. Ecología y conservación de fauna en ambientes antropizados 347-367 pp.

Martínez-Peralta C. 2007. Biología floral de *Ariocarpus fissuratus* (Engermann) Schumann (Cactaceae) en Cuatro Ciénegas, Coahuila, México. Tesis de Licenciatura. Facultad de Ciencias, UNAM, México.

Martínez-Peralta C, Mandujano MC. 2011. Reproductive biology of a living rock cactus, *Ariocarpus fissuratus* (Cactaceae). *Cactáceas y Suculentas Mexicanas* 57:114-127.

Martínez-Peralta C, Mandujano MC. 2012. Biología de la polinización y fenología reproductiva del género *Ariocarpus* Scheidweiler (Cactaceae). *Cactáceas y Suculentas Mexicanas* 57(4): 114-127.

Martínez-Peralta C, Mandujano MC. 2016. Pollen limitation in a rare cactus with synchronous mass flowering. *Haseltonia* 22: 2-8.

Márquez-Guzmán J, Collazo OM, Martínez GM, Orozco SA y Vázquez SS. 2013. Biología de angiospermas. Facultad de ciencias, UNAM. México.

McIntosh M. 2005. Pollination of two species of *Ferocactus*: Interactions between cactus-specialist bees and their host plants. *Functional Ecology* 19: 727-734.

Meza-Rangel E, Tafoya F, Lindig-Cisneros R, Sigala-Rodríguez JJ, Pérez-Molphe-Balch E. 2014. Distribución actual y potencial de las cactáceas *Ferocactus histrix*, *Mammillaria bombycina* y *M. perezdelarosae* en el estado de Aguascalientes, México. *Acta Botánica Mexicana* No.108, 67-80.

Michener CD, McGinley R, Danforth BN. 1994. The Bee Genera of North and Central America (Hymenoptera: Apoidea). Smithsonian Institution Press, Washington 209 pp.

Miranda F, Hernández XE. 1963. Los tipos de vegetación de México y su clasificación. Boletín de la Sociedad Botánica de México 28: 29-179.

Munsell. 1975. Standard soil color charts. Baltimore, MD, EEUU.

Munsell. 1977. Munsell color charts for plant tissues. Munsell Color Co. Baltimore, MD, EEUU.

Nassar JM, Ramírez N. 2004. Reproductive biology of the melón cactus, *Melocactus curvispinus* (Cactaceae). Plant Systematics and Evolution 248:31-44.

Ne'eman G, Neshet R. 1995. Pollination ecology and the significance of floral color change in *Lupinus pilosus* L. (Fabaceae). Israel Journal of Plant Sciences 43: 135-145.

Nerd A, Mizrahi Y. 1995. Reproductive biology. En Barbera G., Inglese P., Pimienta-Barrios E y Arias JE. (Eds.), Agroecology, Cultivation and Uses of Cactus Pear. FAO.

Olesen JM, Jordano P. 2002. Patrones geográficos en red mutualista de planta-polinizador. Ecología, 83: 2416-2424.

Ollerton J, Winfree R. and Tarrant S. 2011. How many flowering plant are pollinated by animals? Oikos 120:321-326.

Ordway E. 1984. Aspects of the nesting behavior and nest structure of *Diadasia opuntiae* Ckll. (Hymenoptera: Anthophoridae). Journal of the Kansas Entomological Society 57, 216–230 pp.

Orozco-Arroyo G, Vázquez-Santana S. 2013. Sistemas de reproducción sexual. En: Márquez-Guzmán G, Collazo M, Orozco A, Vázquez S (eds.). 2013. Biología de Angiospermas. Universidad Nacional Autónoma de México, México. 158-168 pp.

Osborn MM, Kevan PG and Lane MA. 1988. Pollination biology of *Opuntia polyacantha* and *Opuntia phaeacantha* (Cactaceae) in southern Colorado. *Plant Systematics and Evolution* 159, 85–94.

Palleiro N, Mandujano MC, Goluvob. 2006. Aborted fruits of *Opuntia microdasys* (Cactaceae): Insurance against reproductive failure. *American Journal of Botany* 93(4): 505-5011.

Percival M. 2013. *Floral Biology*. Editorial Pergamon Press. Gran Bretaña. 260 pp.

Pimienta-Barrios E. 1990. *El Nopal Tunero*. Universidad de Guadalajara, México. 246 p.

Pimienta-Barrios E, Del Castillo R. 2002. Reproductive biology. En: Nobel, P. 2002. *Cacti. Biology and Uses*. University of California Press, Berkeley. 280 pp.

Plascencia-López LMT. 2003. Biología reproductiva de *Opuntia bradtiana* (Cactaceae) en Cuatro Ciénegas, Coahuila. Tesis de Licenciatura en Biología. Facultad de Ciencias. Universidad Nacional Autónoma de México. 57 p.

Primack RB. 1985. Longevity of individual flowers. *Annual Review of Ecology, and Systematics* 16: 15-37.

Raven P. 2013. *Biology of plants*. 8ª. Edición. Editorial Freeman. New York, USA. 686 pp.

R Core Team. 2018. *R: A language and environment for statistical computing*. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. URL: <https://www.R-project.org/>

Rebman JP, Pinkava DJ. 2001. *Opuntia* Cacti of North America: An Overview. The Florida Entomologist. 84 (4): 474-483.

Retallack G, Dilcher DL. 1981. A coastal hypothesis for the dispersal and rise to dominance of flowering plants. En: K. J. Niklas (ed.), Paleobotany, paleoecology, and evolution. Praeger. New York. pp. 27-77.

Reyes-Agüero JA, Aguirre JR, Castelán F, González A. 2009. Catálogo de las principales variantes silvestres y cultivadas de *Opuntia* en la altiplanicie meridional de México, México, D.F; Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación y Comisión Nacional de Ciencia y Tecnología.

Reyes-Agüero J, Aguirre-Rivera J, Valiente-Banuet A. 2006. Reproductive biology of *Opuntia*: A review. Journal of arid environment 64: 549-585.

Reyes-Aguero JA, Muñoz A, Robles J, Cuevas E. 2015. Comparación morfológica entre poblaciones silvestres y manejadas de *Opuntia atropes* (Cactaceae) en Michoacán, México. Revista Mexicana de Biodiversidad 86: 1072- 1077.

Richards AJ. 1986. Plant breeding systems. George Allen & Unwin. London, UK. 529 pp.

Rosas CMP. 1984. Polinización y Fase Progámica en *Opuntia* spp. Tesis de Licenciatura. Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo. Morelia, Mich. 76p.

Rosas CMP, Pimienta-Barrios E. 1986. Polinización y fase progámica en nopal (*Opuntia ficus-indica* (L.) Miller) tunero. Fitotecnia 8, 164–176.

Rose JN. 1908. In: Britton NL, Rose JN. A preliminary treatment of the Opuntioideae of North America. Smithsonian Miscellaneous Collections. 50: 518.

Rzedowski J. 1978. Vegetación de México. Noriega Editores, México. 432 p.

Salomé-Díaz JA. 2014. Patrón de floración y su relación con el éxito reproductivo en *Ariocarpus kotschoubeyanus* en Tula, Tamaulipas, México. Tesis de licenciatura, Facultad de Ciencias, Universidad Nacional Autónoma de México.

Sánchez VG, Ortega DML, Granados SD, Cruz HJP. 1991. Fenología y crecimiento de *Opuntia joconostle* cv. Cuaresmero, en San Martín de las Pirámides. *Agrociencia (Serie Recursos Naturales Renovables)* 1, 77–91.

Scagel R, Bandoni R, Rouse G, Schofield W, Stein J. and Taylor T. (1977). *El Reino vegetal: los grupos de plantas y sus relaciones evolutivas*. Ediciones Omega, Barcelona, pp 570, 573-575.

Schaal BA, Leverich WJ. 1980. Pollination and banner markings in *Lupinus texensis* (Leguminosae). *Southwest Naturalist* 25: 280- 282.

Schindwein C. 2004. Are oligolectic bees always the most effective pollinators? In Freitas BM and Pereira JOP (eds.). *Solitary bees. Conservation, rearing and management for pollination*. Imprenta Universitaria, Fortaleza.

Schindwein C and Wittmann D. 1997. Stamen movements in flowers of *Opuntia* (Cactaceae) favor oligolectic pollinators. *Plant Systematics and Evolution* 204: 179-193.

Schierup MH, Vekemans X, Christiansen FB. 1997. Evolutionary dynamics of sporophytic self-incompatibility alleles in plants. *Genetics* 147(2): 835-846.

Shaw RJ. 1976. *Field Guide to the Vascular Plants of Grand Teton National Park and Teton County, Wyoming*. Utah State University Press, Logan, UT.

Sodi-Palmares E. 1968. Las cactáceas en las épocas pre-colombina y virreynal, y en el siglo XIX. *Cactáceas y Suculentas Mexicanas*, 13(1):3-12.

Sprengel KC. 1793. Discovery of the secret of nature in the structure and fertilization of flowers. En: Lloyd DG, Barret S (eds.). *Floral Biology: Studies on Floral Evolution in Animal Pollinated Plants*. Chapman & Hall, Nueva York. pp: 3-43.

Stebbins GL. 1970. Adaptive readiation of reproductive characteristics in Angiosperms, I: pollination mechanisms. *Annual Review of Ecology and Systematics* 1:307- 326.

Stuppy W. 2002. Seed characters and the generic classification on the Opuntioideae (Cactaceae). En Hunt D y Taylor N. *Studies in the Opuntioideae*. The Manse and Chapel Leave, Sherbone.

Takhtajan A. 1991. *Evolutionary trends in flowering plants*. Columbia University Press. New York. 241 pp.

Taylor DW. 1990. Paleobiogeographic relationships of angiosperms from the Cretaceous and early Tertiary of the North American area. *The Botanical Review*. 56: 279-417.

Thomson JD, Wilson P, Valenzuela M, Malzone M. 2000. Pollen presentation and pollination syndromes with special reference to *Penstemon*. *Plant Species Biology* 15:11-29.

Toumey JW, 1895. Vegetal dissemination of the genus *Opuntia*. *Botanical Gazette* 20, 356–361.

Trujillo AS. 1986. Hibridación, aislamiento y formas de reproducción en *Opuntia* spp. Master in Science thesis. Colegio de Posgraduados, Chapingo, México, 79 p.

Valiente-Banuet A, Santos GR, Arizmendi MC and Casas A. 2007. Pollination biology of the hemiepiphytic cactus *Hylocereus undatus* in the Tehuacan Valley, México. *Journal of Arid Environments*, 68:1-8.

Vargas P, Zardoya R. 2012. El árbol de la vida: sistemática y evolución (1ed.). España: Impulso, S. A.

Wallace RS, Dickie SL. 2002. Systematic implications of chloroplast DNA sequence variation in subfa. Opuntioideae (Cactaceae). In: Hunt, D. y Taylor, N. (Eds.). Studies in the Opuntioideae (Cactaceae). Succulent Plant Research vol. 6. Milborne Port Sherbone, England. 9-24 pp.

Weiss MR. 1991. Floral color changes as cues for pollinators. *Nature* 354: 227-229.

Wessels AB, Swart E. 1990. Morphogenesis of the reproductive bud and fruit of the prickly pear (*Opuntia ficus-indica* (L.) Mill. Cv. Morado). *Acta Horticulture* 275, 245-253.

Wyatt R. 1983. Pollinator-plant interactions and the evolution of breeding systems. En: L. Real (eds.). *Pollination Biology*. Academic Press. New York.

Zar JH. 2010. *Biostatistical Analysis*. Nueva Jersey, EEUU., 944 pp.

Cuernavaca, Morelos a 15 de mayo de 2021

DRA. DULCE MARÍA ARIAS ATAIDE
DIRECTORA GENERAL DE SERVICIOS ESCOLARES
P R E S E N T E.

Por este conducto, los catedráticos suscritos comunicamos a Usted, que hemos revisado el documento que presenta la Pasante de Biólogo: **PAOLA HILEM NAVA BERNABÉ**, con el título del trabajo: **Biología floral y polinizadores de *Opuntia atropes* Rose (Cactaceae) en Tlaquiltenango, Morelos, México.**

En calidad de miembros de la comisión revisora, consideramos que el trabajo reúne los requisitos para optar por la Modalidad de Titulación **por Tesis** como lo marca el artículo 4° del Reglamento de Titulación Profesional vigente de la Universidad Autónoma del Estado de Morelos.

A T E N T A M E N T E
Por una humanidad culta

JURADO REVISOR

FIRMA

PRESIDENTE: M. EN C. ADRIANA GABRIELA TREJO LOYO

SECRETARIO: DRA. ALEJANDRA VÁZQUEZ LOBO YURÉN

VOCAL: DRA. CONCEPCIÓN MARTÍNEZ PERALTA

SUPLENTE: DR. RAÚL ERNESTO ALCALÁ MARTÍNEZ

SUPLENTE: DR. EDUARDO CUEVAS GARCÍA



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL
ESTADO DE MORELOS

Se expide el presente documento firmado electrónicamente de conformidad con el ACUERDO GENERAL PARA LA CONTINUIDAD DEL FUNCIONAMIENTO DE LA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE MORELOS DURANTE LA EMERGENCIA SANITARIA PROVOCADA POR EL VIRUS SARS-COV2 (COVID-19) emitido el 27 de abril del 2020.

El presente documento cuenta con la firma electrónica UAEM del funcionario universitario competente, amparada por un certificado vigente a la fecha de su elaboración y es válido de conformidad con los LINEAMIENTOS EN MATERIA DE FIRMA ELECTRÓNICA PARA LA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE ESTADO DE MORELOS emitidos el 13 de noviembre del 2019 mediante circular No. 32.

Sello electrónico

ADRIANA GABRIELA TREJO LOYO | Fecha:2021-05-14 12:36:05 | Firmante

kBnmI4y4z6loSnaDM2r9tcHAORPNMliq8KVMyqwV+pyiXklpLCi+h+4cGxTH4trlwEpxl1jWeHELgoGRgH/r9P8RdC+XztNvY36YBj8igvAbragpmxCIfg6z1nGcvdQUr+YrrfJyMwTQ9ivQpKJX2h37vXjdpPEpeXcnMVR+SkhMae8ZrNSY0ehPAI5IK/eyAbKNfepsLUMrfSwynU0UgICl9EmDpeRjoQ22iyGbcH9jGt8my1Cq2ligOaGHls2ENDPH4a3aCnF2nt21lwD6UPAnVM++50iTZevCSyQ2tdCAF8D4bIUO9rkMr2KTKRoOgHmGbBELPq3rSug398RA==

RAUL ERNESTO ALCALA MARTINEZ | Fecha:2021-08-20 21:41:41 | Firmante

SMKY2giqfIBKl7y0ocOuY3rR9oVyQ4rhOE6qMseF5tp0A3Sc5Vs3YY6TwdnaMA7vuzzfVX8++sZD8wLnuaLtmVpG81+xSStPPneEQBk17sBEg2i9r1mE8iJdTgHNRVya3md6YYQxberFD59QnBIR2EsNx5yqKxUzhKT20GUOu6JxViJvYlTc3EGxXiLbaSMhC7Zix9DvQtGRO3hMWSNndnyZa+IrwLoJa8ld0S+6vkLwYdU/CtFStZjLeQkZm6NbZpQfi1kqtX40TK+WOOmVla3k8zdfdhjKbjieeXDUmT5OBHpTXZYG5udy+jkVkhHLRxm2eFVIEOtiC7TfbCKYAA==

CONCEPCION MARTINEZ PERALTA | Fecha:2021-08-25 14:03:07 | Firmante

mDcph2f7CZjItQtZuNL8NUmXScStjd1REV9WOONEfHn74cGCuPfxVMZuTU4gpvRcZBve8lgmZYcdhuT4NRJ+tmBCx8rV4vRdE7pMrN44ylw+ZDdo6ompdfcTZCTimJNikqo7TiXUA/tNuvmCwAribujgMOd3iL5cfqpeie+zhRxGbDmRL+njLo/ufdN/UMlqK897LOklWnHjqSOFzc9CLecdwZULBd1RJETLEGJMPyF55kdfWxbWljOM+Wip59z8r7s4WHsVw4gSiPURfRNwBmluYRRBoYi0ruvDfSvlaW1hibolzoE1DGZQkKE2+umYeoqxNr1jEPXMI/sVgW==

ALEJANDRA VAZQUEZ LOBO YUREN | Fecha:2021-09-21 14:18:13 | Firmante

aPuATgvvW1HyqmQqBot9Us68tO30ZR7QUtf3jjVWV45fYx4NsCT7jiMOxsnJNhLYykoH/7ojTkcSPNEu27s3ANvFq8SFPZjVtBDzV7bmtqWvkq2tigLjS4ialVvnNUZOMJJSK79r1DxR uaKspuWeYpNsYeSRCmwmeyrJ2fsSaGmDmJuv7x8xGCab1EiIKu+iZto5ZyVNIjPc/0/dMm3gcfuAwJqEYyTs8PcqfA8J3teY+BbG22loYflyLy89w9iWg9RWxMEXJ9GhqllaNxJWM+0h4GSU+tr7el7zYMcNhieblSSMIrjHJe0SL4DdUwsVbClxZDT7RGfPcLttMrdw==

Puede verificar la autenticidad del documento en la siguiente dirección electrónica o escaneando el código QR ingresando la siguiente clave:



ZGDn9I

<https://efirma.uaem.mx/noRepudio/SvwktUE3ALUXCJJqagleG1n7V6hdLU1t>

