



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA METROPOLITANA

---

---

UNIDAD IZTAPALAPA

# **Efecto de la orientación de las flores sobre los caracteres reproductivos de *Myrtillocactus geometrizans***

Tesis que para obtener el grado de Maestra en Biología presenta

**BIÓL. Sandra Aracely Aguilar García**

Codirector: Dr. Pedro Luis Valverde Padilla

Codirector: Dra. Dulce María Figueroa Castro

Asesor: M. en C. Fernando Vite González

MEXICO, D.F.

Diciembre, 2015



“La Maestría en Biología de la Universidad Autónoma Metropolitana  
pertenece al Padrón de Postgrados de Calidad del CONACYT con la categoría  
de Alto Nivel”



El jurado designado por la

**División de Ciencias Biológicas y de la Salud**

De la Unidad Iztapalapa aprobó la tesis que presentó

**BIÓL. SANDRA ARACELY AGUILAR GARCÍA**

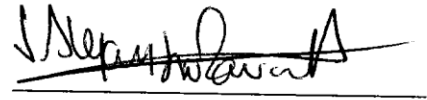
El día 9 de Diciembre del 2015

**Jurado**

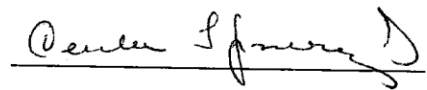
**Presidente:** M. en C. Fernando Vite González

A handwritten signature in black ink, appearing to be 'F. Vite', written above a horizontal line.

**Secretario:** Dr. José Alejandro Zavala Hurtado

A handwritten signature in black ink, appearing to be 'José Alejandro Zavala', written above a horizontal line.

**Vocal:** Dra. Cecilia Leonor Jiménez Sierra

A handwritten signature in black ink, appearing to be 'Cecilia Leonor Jiménez', written above a horizontal line.

**Vocal:** Dra. María del Carmen Mandujano Sánchez

A handwritten signature in black ink, appearing to be 'M. del Carmen Mandujano', written above a horizontal line.



**ING. ANDRES AGUILAR GARCÍA†**

*Donde quiera que te encuentres,  
te agradezco ser parte de mi vida,  
vivirás en mi corazón por siempre...*





## **AGRADECIMIENTOS**

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT), por la beca otorgada para la realización de este proyecto de tesis de Maestría.

De manera muy especial a la Dra. Dulce María Figueroa Castro, al Dr. Pedro Luis Valverde Padilla y al M. en C. Fernando Vite González, gracias por todo su tiempo, esfuerzo, dedicación y conocimiento destinado a este proyecto, es un gusto trabajar con ustedes.

A mis sinodales, Dr. Alejandro Zavala Hurtado, Dra. Cecilia Jiménez Sierra y Dra. Ma. Del Carmen Mandujano Sánchez por aceptar ser parte de este proyecto, gracias por sus comentarios, sugerencias, y mejoras para esta tesis.

A la Universidad Autónoma Metropolitana Unidad Iztapalapa, en especial a la maestría de Biología por hacerme parte de ella y poder recibir los conocimientos necesarios para mi desarrollo profesional.

Al Dr. Pedro Luis Valverde Padilla, Dra. Dulce María Figueroa-Castro, M. en C. Fernando Vite González, M. en C. Gerardo López, Biól. Marco A. Pérez, Biól. Leonardo Paz, M. en C. Arisbe Ponce y a Pedro Miranda por su asistencia y apoyo en el campo.

A los miembros del laboratorio integral biología vegetal y micología y al laboratorio de histofisiología de la escuela de Biología, BUAP, por permitirme usar sus instalaciones y equipo para llevar a cabo el procedimiento de germinación de polen y la técnica de acetólisis.

A todos mis compañeros de generación 2013 por haberme dado la oportunidad de conocerlos y compartir parte de nuestras vidas, les deseo mucho éxito en todo lo que se propongan. En especial a los de mi sección Abish, Jimena, Karla, Daniela, Isabel, Alejandra, Alan, Oscar, Roberto y Ulises, por tantas risas y carcajadas dentro y fuera de clases, así como tanto conocimiento compartido.



## **AGRADECIMIENTOS ESPECIALES**

De una manera aún más especial agradezco a mi familia por todo el apoyo y amor que me han brindado, a pesar de todas las dificultades y noticias que nos rompieron el corazón, me dieron todo su apoyo, comprensión y muchos ánimos, gracias por no derrumbarse y mostrarme fortaleza para seguir adelante, los quiero con toda el alma.

A la Familia Aguilar Rosas por darme la oportunidad de convivir más con ustedes y por abrirme las puertas de su hogar, los quiero mucho, sé que cuento con ustedes y ustedes conmigo.

Al Ing. Andrés Aguilar García por recibirme con los brazos abiertos cuando me acerque a tu vida nuevamente, por algo estuve cerca de ti los últimos meses de tu vida, fue un gusto enorme ayudarte en todo lo que pude. Desde el día de tu partida de este mundo, mi vida ya no es la misma, tu ausencia causa en mí una gran agonía, tristezas, un gran dolor y muchas preguntas sin responder, te agradezco tanta enseñanza que me diste, gracias por siempre alagarme en cuanto pudiste, seguiré superándome para que sigas orgulloso de mí donde quiera que te encuentres.

A mis amigos Abish, Karla y Alan les agradezco tanto apoyo que me brindaron, con ustedes reí como pocas veces lo hago, hicieron esta etapa de mi vida algo más divertida, les agradezco aún más por enseñarme a no perderme en el DF.

Mi amor gracias por apoyarme en todo momento, por preocuparte, entenderme, alentarme a seguir adelante y no dejar que me derrumbe por todas las dificultades que se me han presentado.

A todas las personas que forman parte de mi vida, les agradezco el apoyo que de alguna forma me han brindado, es bueno saber que cuento con el apoyo de tanta gente.



## RESUMEN

En cactáceas, la intercepción de radiación fotosintéticamente activa (RFA) difiere entre lados del tallo son diferente orientación, determinando la disponibilidad de recursos para la reproducción, ya que se ha sugerido que no hay translocación de recursos entre costillas. Algunos estudios han demostrado que la producción de estructuras reproductivas en cactáceas columnares distribuidas en el hemisferio norte, es mayor en la cara sur del tallo donde la intercepción de RFA es mayor. *Myrtillocactus geometrizans* (Mart.) Console es un cactus columnar arborescente, cuyas flores y frutos muestran una orientación preferencial hacia el sur. El presente proyecto de investigación aborda el efecto de la orientación de los botones florales sobre los caracteres reproductivos en esta especie y tuvo como objetivos comparar en botones florales con orientaciones contrastantes (norte vs. Sur) caracteres masculinos y femeninos y el sistema reproductivo. Esto se realizó con botones florales y flores que fueron colectados en un sitio de Zapotitlán Salinas Puebla. Se determinó el número y tamaño de estructuras reproductivas (*i.e.* número y tamaños de las anteras por flor, número, diámetro y viabilidad del polen, número de óvulos y tamaño del ovario), y el sistema reproductivo mediante la relación polen:óvulo (P/O). Además de realizar pruebas de germinación *in vitro* de polen para evaluar el porcentaje de germinación y la longitud del tubo polínico. Los resultados muestran un efecto significativo en siete caracteres florales masculinos y dos femeninos de los diez y cuatro que fueron medidos respectivamente, así como en la relación P/O. Los botones orientados hacia el sureste del tallo tienen, significativamente una mayor producción de anteras, más granos de polen por antera y por botón floral. Los granos de polen tienen mayor diámetro promedio, y mayor proporción de viabilidad y de germinación, así como mayor longitud del tubo polínico. La longitud y área del ovario y la relación P/O es mayor en los botones florales orientados al sureste. De acuerdo con la clasificación de Cruden, *M. geometrizans* tiene un sistema reproductivo xenógamo facultativo. Este estudio plantea la necesidad de realizar estudios más detallados sobre la variación en el sistema reproductivo entre orientaciones contrastantes. Los resultados muestran que la disponibilidad de recursos en lados opuestos del tallo influyen positivamente, tanto en los rasgos florales masculinos como en los femeninos de las estructuras reproductivas, por lo que también puede tener un efecto sobre el éxito reproductivo de flores con diferentes orientaciones de *M. geometrizans*.



## **ABSTRACT**

In Cactaceae, the interception of photosynthetic active radiation (PAR) differs among opposite sides of the stem, determining the availability of resources for reproduction, since it has been suggested that there is no translocation of resources between ribs. It has been shown that the production of reproductive structures in columnar cacti distributed in the northern hemisphere is higher in the south side of the stem where the interception of RFA is higher. *Myrtillocactus geometrizans* (Mart.) Console is an arborescent columnar cactus, whose flowers and fruits show a preferential orientation to the south. This research project deals with the effect of the orientation of flower buds on reproductive traits in this species and aimed to compare in flower buds with contrasting orientations (north vs. south) male and female characters and the reproductive system. This was done with flower buds and flowers that were collected at a site in Zapotitlán Salinas Puebla. It was determined the number and size of reproductive structures (*i.e.* number and sizes of anthers per flower, number, diameter and pollen viability, size and number of ovules from the ovary), and reproductive system by pollen ratio was determined P/O). In addition in vitro pollen germination to determine the percentage of germination and pollen tube length was tested. The results show a significant effect in seven male and two female floral features out of 10 and four measured traits, respectively, as well as the P/O. It is, oriented southeast stem buds have significantly increased production of anthers, more pollen grains per anther and per flower bud. Pollen grains have a larger average diameter, greater percentage of viability and germination and longer pollen tube. The length and area of the ovary and P/O ration is higher in flower buds oriented southeast. According to the classification of Cruden, *M. geometrizans* has a facultative xenogamy reproductive system. This study raises the need for more detailed studies of the variation in the reproductive system between contrasting orientations. The results show that the availability of resources on opposite sides of stem have positive influence both in male floral traits as in female reproductive structures, which may also have an effect on reproductive success of flowers with different orientations of *M. geometrizans*.





## **CONTENIDO**

---

<b>RESUMEN</b> .....	13
<b>ABSTRACT</b> .....	15
<b>1. INTRODUCCIÓN</b> .....	21
<b>2. ANTECEDENTES</b> .....	22
<b>3. JUSTIFICACIÓN</b> .....	26
<b>4. HIPÓTESIS</b> .....	27
<b>5. OBJETIVOS</b> .....	28
<b>6. ESPECIE DE ESTUDIO</b> .....	29
<b>7. SITIO DE ESTUDIO</b> .....	30
<b>8. METODOLOGIA</b> .....	31
8.1. Efecto de la orientación floral sobre la función masculina .....	32
8.2. Efecto de la orientación floral sobre la función femenina.....	38
8.3. Sistema reproductivo .....	40
8.4. Análisis estadísticos .....	41
<b>9. RESULTADOS</b> .....	42
9.1. Efecto de la orientación floral sobre la función masculina .....	42
9.2. Efecto de la orientación floral sobre la función femenina.....	48
9.3. Sistema reproductivo .....	50
<b>10. DISCUSIÓN</b> .....	51
10.1.Efecto de la orientación floral sobre las funciones masculina y femenina .....	51
10.2.Viabilidad de los granos de polen.....	53
10.3.Efecto de la orientación floral sobre el sistema reproductivo.....	56
<b>11. CONCLUSIÓN</b> .....	57
<b>12. LITERATURA CITADA</b> .....	58



## INDICE DE FIGURAS

Figura 1. Estructuras vegetativas y reproductivas de <i>Myrtillocactus geometrizans</i> .....	29
Figura 2. Distribución de <i>Myrtillocactus geometrizans</i> en la República Mexicana.....	30
Figura 3. Ubicación del sitio de estudio.....	31
Figura 4. Botón floral y conjunto de anteras de <i>Myrtillocactus geometrizans</i> .....	32
Figura 5. Estimación de las dimensiones de las anteras de <i>Myrtillocactus geometrizans</i> ...	33
Figura 6. Granos de polen de <i>Myrtillocactus geometrizans</i> en lactofenol-anilina azul.....	34
Figura 7. Estimación del diámetro de los granos polen de <i>Myrtillocactus geometrizans</i> ....	35
Figura 8. Granos de polen viable y no viable de <i>Myrtillocactus geometrizans</i> .....	36
Figura 9. Método para determinación de la proporción de germinación y de la longitud del tubo polínico de los granos de polen de <i>Myrtillocactus geometrizans</i> .....	37
Figura 10. Germinación de los granos de polen de <i>Myrtillocactus geometrizans</i> .....	38
Figura 11. Botón floral de <i>Myrtillocactus geometrizans</i> .....	39
Figura 12. Óvulos de botón floral de <i>Myrtillocactus geometrizans</i> .....	39
Figura 13. Valores promedio del número de anteras (A) y número de granos de polen por antera (B) de <i>Myrtillocactus geometrizans</i> con orientaciones contrastantes.....	44
Figura 14. Valores promedio del número de granos de polen por botón floral de <i>Myrtillocactus geometrizans</i> con orientaciones contrastantes.....	45
Figura 15. Valores promedio del diámetro de los granos de polen de <i>Myrtillocactus geometrizans</i> con orientaciones contrastantes.....	45

Figura 16 Valores promedio de la proporción de viabilidad de granos de polen (A) y de germinación de granos de polen de <i>Myrtillocactus geometrizans</i> con orientaciones contrastantes.....	46
Figura 17. Valores promedio de la longitud del tubo polínico ( $\mu\text{m}$ ), en botones de <i>Myrtillocactus geometrizans</i> con orientaciones contrastantes.....	47
Figura 18. Regresión lineal entre el ancho de la antera y el porcentaje de viabilidad de los granos de polen de <i>Myrtillocactus geometrizans</i> .....	48
Figura 19. Valores promedio de longitud del ovario (A) y área del ovario (longitud x ancho) (B), de botones de <i>Myrtillocactus geometrizans</i> con orientaciones contrastantes.....	49
Figura 20. Valores promedio de relación polen/óvulos de botones florales en <i>Myrtillocactus geometrizans</i> con orientaciones contrastantes.....	51

## INDICE DE TABLAS

Tabla 1. Clasificación de sistemas reproductivos en plantas inferido a partir del cociente polen/óvulos (P/O; Cruden, 1977).....	40
Tabla 2. Valor promedio ( $\pm$ e.e.) y pruebas de $t_{(1)}$ -pareadas de los caracteres masculinos de botones de <i>Myrtillocactus geometrizans</i> con orientaciones contrastantes.....	43
Tabla 3. Valores promedio ( $\pm$ e.e.) y pruebas de $t_{(1)}$ -pareadas de caracteres femeninos de botones de <i>Myrtillocactus geometrizans</i> con orientaciones contrastantes.....	50

## 1. INTRODUCCIÓN

La Familia Cactaceae comprende alrededor de 1500 especies (Bravo-Hollis y Sánchez-Mejorada, 1978; González *et al.*, 2001) distribuidas en todo el continente americano, desde Columbia Británica y Alberta, en Canadá, hasta la Patagonia (Hernández y Godínez, 1994). Las especies de esta familia son características del paisaje de las zonas áridas y semiáridas de México junto con agaves, mezquites e izotes (Bravo-Hollis y Sánchez-Mejorada, 1978).

Debido a las presiones del medio árido, tales como temperaturas extremas y alta radiación solar, así como por la baja disponibilidad de agua, las cactáceas exhiben una gran diversidad de características morfológicas y fisiológicas, que evolucionaron en respuesta a dichas condiciones ambientales del medio en el que habitan (Nobel, 1980, 1984, 1985; Gibson y Nobel, 1986; Zavala-Hurtado *et al.*, 1998; Valverde *et al.*, 2007). Tales características les han permitido ocupar exitosamente estos ambientes (Bravo-Hollis y Sánchez-Mejorada, 1978).

Dichas características incluyen los tallos suculentos, la modificación de hojas en espinas y el desarrollo del metabolismo ácido de las crasuláceas (CAM, por sus siglas en inglés) (Nobel, 1981; Gibson y Nobel, 1986; Geller y Nobel, 1987). Además de las características anteriores, en varias especies de cactáceas columnares, barriliformes y toneliformes se ha observado el fenómeno de orientación e inclinación preferencial de tallos y ramas, así como la orientación ecuatorial de estructuras reproductivas (*i. e.*, yemas florales, flores y frutos) (Johnson, 1924; Ehleringer *et al.*, 1980; Nobel, 1981; Gibson y Nobel, 1986; Geller y Nobel, 1987; Zavala-Hurtado *et al.*, 1998; Tinoco-Ojanguren y Molina-Freaner, 2000). Se ha argumentado que la orientación e inclinación preferencial de tallos y ramas permite superar el conflicto de la sobre exposición a temperaturas extremas y la mayor intercepción de radiación solar para llevar a cabo la fotosíntesis (Drezner, 2003; Herce *et al.*, 2014). En este sentido, esta orientación e inclinación preferencial les permite una intercepción óptima de radiación fotosintéticamente activa (RFA) y, por consiguiente, una mayor captura de CO<sub>2</sub> sin exponer a las estructuras fotosintéticas a un sobrecalentamiento excesivo (Lajtha *et al.*, 1997; Zavala-Hurtado *et al.*, 1998).

Por otro lado, se ha propuesto que la orientación ecuatorial de estructuras reproductivas es consecuencia de la mayor intercepción de RFA en las ramas y/o costillas

con dicha orientación (Tinoco-Ojanguren y Molina-Freaner, 2000). Asimismo, dicho fenómeno favorece la exposición de las yemas florales a una temperatura adecuada para su desarrollo (Johnson, 1924; Ehleringer *et al.*, 1980; Nobel, 1980; Geller y Nobel, 1986; Zavala-Hurtado *et al.*, 1998; Tinoco-Ojanguren y Molina-Freaner, 2000). La orientación preferencial de las flores, en particular, también puede tener efectos en la polinización y en los eventos posteriores a esta. Por ejemplo, las flores más expuestas a la radiación solar, experimentan un aumento de la temperatura interna, lo cual puede ser atractivo para algunos insectos visitantes (Kearns e Inouye, 1993; Totland, 1996). Más aún, la orientación preferencial de las flores puede acelerar procesos fisiológicos como el crecimiento del tubo polínico y maduración de los óvulos, además de acelerar los procesos posteriores a la polinización, así como la maduración de los frutos y las semillas, con lo que el éxito reproductivo de las plantas se puede ver afectado (Kearns e Inouye, 1993; Totland, 1996; Patiño *et al.*, 2002; Ushimaru *et al.*, 2006).

En cactáceas, sin embargo, existe escasa información sobre el efecto de la orientación floral sobre los caracteres florales masculinos (*i. e.*, producción y tamaño de las anteras, producción y tamaño de los granos de polen) y nula información del efecto de la orientación sobre la proporción de germinación del polen, así como la longitud del tubo polínico, y de qué manera afecta el sistema reproductivo (*i.e.*, relación polen/óvulos, Cruden 1977).

## **2. ANTECEDENTES**

Algunos estudios en cactáceas han demostrado que la orientación preferencial de los tallos les permite maximizar la intercepción de RFA y mejorar la captura nocturna de CO<sub>2</sub> durante la temporada de crecimiento (Nobel, 1982; Geller y Nobel, 1987). Tal es el caso de platiopuntias (Nobel, 1981), cactáceas barriliformes (Ehleringer *et al.*, 1980) y cactáceas columnares (Zavala-Hurtado *et al.*, 1998; Valverde *et al.*, 2006, 2007). En estos grupos de cactáceas, los tallos están preferencialmente orientados hacia el Ecuador, coincidiendo con los sectores del tallo o ramas en donde se presenta la mayor incidencia de radiación solar y las temperaturas más elevadas (Gibson y Nobel, 1986; Nobel, 1988; Zavala *et al.*, 1998). Esto permite que las superficies fotosintéticas orientadas hacia el Ecuador reciban mayor

RFA y con ello aumente la tasa fotosintética (Nobel, 1982; Geller y Nobel, 1987; Drezner, 2003; Zavala-Hurtado *et al.*, 1998; Valverde *et al.*, 2007). De esta forma, en especies distribuidas en el hemisferio norte, los tallos exhiben una orientación preferente hacia el sur, mientras que en especies del hemisferio sur, la orientación es preferencialmente hacia el norte (Gibson y Nobel, 1986). Estudios con *Ferocactus covillei* y *F. wislizenii* en Arizona (Nobel, 1994) y *Copiapoa* spp. en Chile (Ehleringer *et al.*, 1980) demuestran la existencia de una orientación e inclinación preferencial de los tallos hacia el Ecuador, lo que puede determinar la disponibilidad de recursos para diversos procesos fisiológicos que tienen lugar en el tallo (Drezner, 2003). Asimismo, diversos estudios en cactáceas han reportado un acimut preferencial similar en la disposición de las estructuras reproductivas (Johnson, 1924; Tinoco-Ojanguren y Molina-Freaner, 2000, Valverde *et al.*, 2007; Rosas-García, 2010; Aguilar-García, 2012; Valencia-Mendoza, 2014).

En el primer estudio en donde se reportó la existencia de una orientación preferencial de estructuras reproductivas en cactáceas, Johnson (1924) observó el desarrollo preferencial de yemas y flores de *Carnegiea gigantea* en Arizona, encontrando que las estructuras reproductivas son más abundantes en el lado este y sureste del ápice. Por su parte, Tinoco Ojanguren y Molina-Freaner (2000), en dos poblaciones de *Pachycereus pringlei* en el Desierto Sonorense, mostraron que la mayoría de las estructuras reproductivas se orientan hacia el sureste y suroeste. Dichos autores propusieron que la intercepción de RFA, y su influencia en la captura de CO<sub>2</sub> y la temperatura del tallo, es el principal factor que determina la orientación de las flores en dicha especie.

Este patrón de orientación preferencial hacia el Ecuador permite que la temperatura de los tejidos de las regiones meristemáticas y reproductivas se incremente durante el invierno y primavera, favoreciendo el crecimiento y el desarrollo de las flores (Ehleringer *et al.*, 1980; Nobel, 1994). Dicho patrón de distribución permite exponer yemas y flores a una temperatura adecuada para su desarrollo (Johnson, 1924; Tinoco-Ojanguren y Molina-Freaner, 2000) al mismo tiempo que optimiza la intercepción de RFA (Woodhouse *et al.*, 1980; Nobel, 1981, 1982; Geller y Nobel, 1986; Lajtha *et al.*, 1997). De esta forma, los lados más expuestos del tallo contarán con una mayor disponibilidad de recursos.

Esta diferencia entre la ganancia de carbono entre costillas con diferente orientación requiere del supuesto de que no existe translocación de recursos entre costillas (Tinoco-

Ojanguren y Molina-Freaner, 2000). Por lo tanto, esto supone que, aquellas superficies del cacto con orientación ecuatorial acumularán más carbohidratos (Tinoco-Ojanguren y Molina-Freaner, 2000), mismos que pueden ser utilizados por la planta para la producción de un mayor número de estructuras reproductivas.

Estudios con la cactácea columnar *Pachycereus weberi*, demostraron que las estructuras reproductivas son producidas en mayor medida en aquellas costillas del tallo con orientación sur-sureste (Córdova-Acosta, 2011), y que dichas costillas reciben mayor RFA (Figuroa-Castro y Valverde, 2011). Además, *P. weberi* produce más óvulos y semillas en el lado sur del tallo, y las semillas tienen mayor peso cuando provienen de estructuras reproductivas orientadas hacia el sur en comparación con estructuras con orientación norte (Figuroa-Castro y Valverde, 2011). De manera similar, Rosas-García (2010) describió una producción diferencial de estructuras reproductivas en los tallos de *Myrtillocactus geometrizans*, siendo más numerosas en las costillas sur de los tallos, que son las caras que reciben mayor RFA. Por su parte, Valencia-Mendoza (2014) encontró para esa misma especie, que el tamaño de las flores, el número de anteras y óvulos, así como las dimensiones del ovario (largo y ancho) son significativamente mayores en flores orientadas hacia el sureste.

En cuanto a los caracteres florales masculinos, en *Pachycereus weberi* se ha encontrado que el tamaño de las anteras (*i. e.*, largo, ancho, y largo x ancho), el número de granos de polen por antera y por botón floral, así como la viabilidad del polen de *P. weberi*, son marginalmente mayores (*i. e.*,  $p=0.06$ ,  $0.07$ ) en estructuras florales con orientación sur (Aguilar-García, 2012). Así mismo, se ha encontrado que el diámetro promedio de los granos de polen de *P. weberi* es significativamente mayor en estructuras florales orientadas hacia el norte, mientras que la varianza del diámetro de los granos de polen fue marginalmente mayor también en estructuras florales con orientación norte (Aguilar-García, 2012). Aunque el tamaño del grano de polen es considerado relativamente constante dentro de cada especie vegetal, y se ha utilizado como un carácter taxonómico (Bravo-Hollis y Sánchez-Mejorada, 1978), Aguilar-García (2012) reporta que en *P. weberi* el tamaño del polen es significativamente diferente entre estructuras reproductivas con diferentes orientaciones, siendo las del lado norte del tallo las que presentan polen de mayor tamaño, posiblemente debido a que las estructuras orientadas hacia el norte, están



expuestas a mayor humedad y menor temperatura (Córdova-Acosta *et al.*, 2007), lo que evita que sufran estrés térmico y favorece la producción de nutrientes (*i. e.*, carbohidratos y proteínas) de la antera para los granos de polen (Dafni y Firmage, 2000).

El análisis de la calidad del polen en cactáceas, medida como el porcentaje de germinación *in vitro* ha sido poco estudiada. De hecho, sólo se han publicado, algunos estudios con ciertas especies de los géneros *Opuntia* (Weiss *et al.*, 1993), *Hylocereus* y *Selenicereus* (Weiss *et al.*, 1994). En cuanto al sistema reproductivo, estimado a través de la relación polen:óvulos (Cruden, 1977), se ha descrito un sistema xenógamo facultativo para *Mammillaria huitzilopochtli* (Flores-Martínez, 2013) y *M. longimamma* (Calzada-López *et al.*, 2007). Por su parte, se ha reportado un sistema xenogámico obligado para *Cereus giganteus*, *Peniocereus striatus*, *Neobuxbaumia mezcalaensis* y *Pachycereus weberi* (Alcorn *et al.*, 1961, Suzán *et al.*, 1994, Valiente-Banuet *et al.*, 1997, Jiménez-Sierra *et al.*, 2009), mientras que para *Melocactus curvispinus* (Nassar y Ramírez, 2004) el sistema fue autogámico. Sin embargo, en ninguno de estos estudios se ha comparado la calidad de los granos de polen y el sistema reproductivo (*i. e.*, relación polen/óvulos) entre estructuras reproductivas con orientaciones contrastantes.

A pesar de la importancia que tiene la orientación sobre aspectos reproductivos de este grupo de plantas (Figuroa-Casto y Valverde, 2011; Aguilar-García, 2012), poco se sabe de su efecto sobre la función masculina (*i. e.*, número y calidad de los granos de polen) y el sistema reproductivo. Así, el presente estudio aborda el efecto de la orientación de los botones florales y flores sobre los caracteres florales masculinos (*i. e.*, producción de granos de polen y anteras, tamaño de las anteras y de los granos de polen, viabilidad y germinación de los granos de polen y longitud del tubo polínico), así como sobre la producción de óvulos y el sistema reproductivo de *Myrtillocactus geometrizans*.

### 3. JUSTIFICACIÓN

Los estudios sobre el patrón de distribución de estructuras reproductivas de las cactáceas columnares distribuidas en el hemisferio norte muestran que flores y frutos y ramas tienen una orientación preferencial hacia el sur (Córdova-Acosta, 2011; Rosas-García, 2010; Valencia-Mendoza, 2014). De la misma forma, caracteres reproductivos femeninos (*i. e.*, número de óvulos, peso y tamaño de semillas) y masculinos (*i. e.*, tamaño de anteras, número y porcentaje de viabilidad de granos de polen, diámetro promedio de granos de polen) son mayores en estructuras orientadas hacia el sur (Figueroa-Castro y Valverde, 2011; Aguilar-García, 2012). Además, estudios previos con *Myrtillocactus geometrizans* reportan que la producción de flores y frutos, el tamaño de las flores, el número de anteras y óvulos por flor, así como las dimensiones del ovario (largo y ancho) son mayores en flores orientadas hacia el sureste del tallo (Rosas-García, 2010; Valencia-Mendoza, 2014).

Sin embargo, no existen estudios que aborden el efecto de la orientación sobre la función masculina (*i. e.*, tamaño de anteras, producción, viabilidad y tamaño del polen, así como la germinación del tubo polínico) y el sistema reproductivo de esta especie. Es así, que el presente trabajo aborda un fenómeno muy poco investigado, empleando como modelo de estudio a *Myrtillocactus geometrizans*, y cuyo interés es caracterizar las estructuras reproductivas masculinas y femeninas, y así evaluar si hay un efecto de la orientación floral sobre la función masculina (*i. e.*, número de granos de polen y anteras, tamaño de las anteras y de los granos de polen, viabilidad de los granos de polen y germinación del tubo polínico) y femenina (producción de óvulos y tamaño del ovario), así como sobre el sistema reproductivo (relación polen:óvulo).

#### 4. HIPÓTESIS

Se ha propuesto que la intercepción de RFA y su influencia en la captura de CO<sub>2</sub> y la temperatura del tallo, son los factores responsables de la orientación ecuatorial de las estructuras vegetativas y reproductivas de las cactáceas (Nobel, 1981; Tinoco-Ojanguren y Molina-Freaner, 2000). Además, la cantidad de RFA recibida en una región particular del tallo determina su tasa fotosintética, y por lo tanto la cantidad de recursos disponibles para diversas funciones (Geller y Nobel, 1986; Lajtha *et al.*, 1997). Así, es posible que dichos recursos estén limitados para aquellas facetas o costillas con orientación contraria a la ecuatorial, al recibir menor cantidad de RFA, asumiendo que no existe translocación de recursos entre costillas como lo proponen Tinoco-Ojanguren y Molina-Freaner (2000). Aunado a lo anterior, estudios previos en *Pachycereus weberi* (Figueroa-Castro y Valverde, 2011; Aguilar-García, 2012) y *Myrtillocactus geometrizans* (Valencia-Mendoza, 2014), han reportado evidencia del efecto de la orientación de las flores sobre algunos aspectos de la función femenina y masculina de las flores, encontrando que ciertos caracteres son mayores en las flores con orientación sur.

Por lo tanto, con base en las evidencias antes reportadas, se espera que:

Tanto los caracteres florales masculinos (*i. e.*, número y tamaño de las anteras por flor; número, diámetro, viabilidad, y germinación de los granos de polen; así como longitud del tubo polínico), como femeninos (*i. e.*, número de óvulos y tamaño del ovario), sean diferentes entre flores con orientación contrastante, siendo las flores orientadas hacia el sur las que presenten un mayor tamaño, producción y/o viabilidad de granos de polen así como de óvulos. También se espera que existan diferencias en el sistema reproductivo estimado con la relación P/O como consecuencia de las diferencias esperadas en cantidad de polen y óvulos.

## **5. OBJETIVOS**

### **Objetivo general**

Determinar el efecto de la orientación de los botones florales y flores sobre los caracteres reproductivos en una población de *Myrtillocactus geometrizans* en Zapotitlán Salinas, Puebla.

### **Objetivos particulares**

En botones florales y flores con orientaciones contrastantes (norte vs. sur), de una población de *Myrtillocactus geometrizans* comparar los siguientes caracteres:

1. Número y tamaño de anteras por flor.
2. Número de granos de polen por antera y por botón floral.
3. Proporción de viabilidad de los granos de polen.
4. Proporción de germinación de los granos de polen.
5. Longitud del tubo polínico.
6. Diámetro de los granos de polen.
7. Tamaño del ovario.
8. Número de óvulos por flor.
9. Sistema reproductivo (estimado como la relación polen/óvulos).

## 6. ESPECIE DE ESTUDIO

*Myrtillocactus geometrizans* (Mart.) Console, comúnmente llamado “garambullo”, es un cacto arborescente que mide entre 2.0 y 5.0 m de altura (Fig.1). Presenta un tallo principal corto bien definido, con ramas de 6.0 -10.0 cm de ancho, entre 5 y 7 costillas en cada rama. Las aréolas miden de 0.5-1.0 cm de diámetro, con cúmulos de lana o sin ellos. Las espinas son radiales, de 4-5, de 0.2-1.0 cm de largo, rígidas, tubuladas. Las flores miden de 2.0 – 3.0 cm de largo, y de 2.5 – 3.5 cm de ancho, son de color blanco, diurnas y se desarrollan varias en la misma areola (Arias *et al.*, 1997). El grano de polen es tricolpado, tectado, psilado o algunas veces verrugoso, esferoidal prolato, con un diámetro promedio de  $48.48 \times 46.96 \mu\text{m}$ , los colpos presentan márgenes muy definidos y lisos (González-Quintero, 1969; Tovar-Álvarez *et al.*, 2009). Los frutos son de 1.0 – 2.0 cm de largo, y de 0.8 – 2.0 cm de ancho, globosos a elipsoides, púrpura oscuros, con pulpa púrpura. Las semillas miden de 1.5 – 2.0 mm de largo. La época de floración es entre febrero y abril. Sus principales polinizadores son abejas y sus dispersores son las aves (Arias *et al.*, 1997). La especie se distribuye en gran parte de la República Mexicana (Fig.2; Bravo-Hollis y Sánchez-Mejorada, 1978).

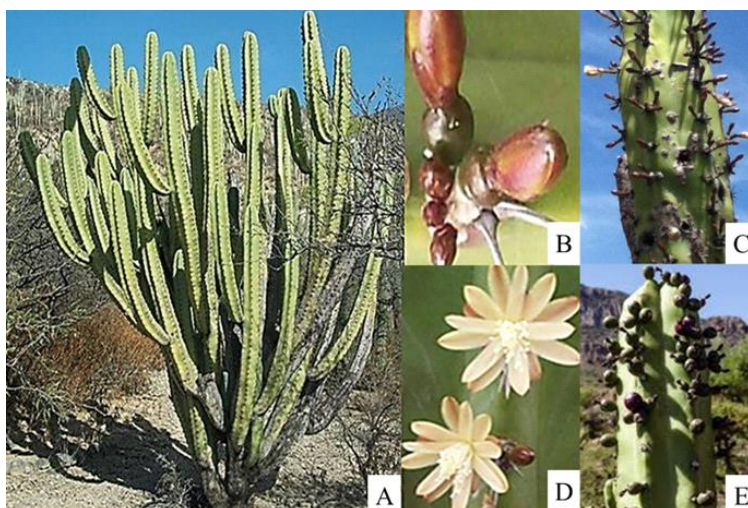


Figura 1. Estructuras vegetativas y reproductivas de *Myrtillocactus geometrizans*. A. Forma de vida. B. Yemas florales. C. Yemas florales a lo largo de las costillas. D. Vista externa de la flor. E. Frutos.

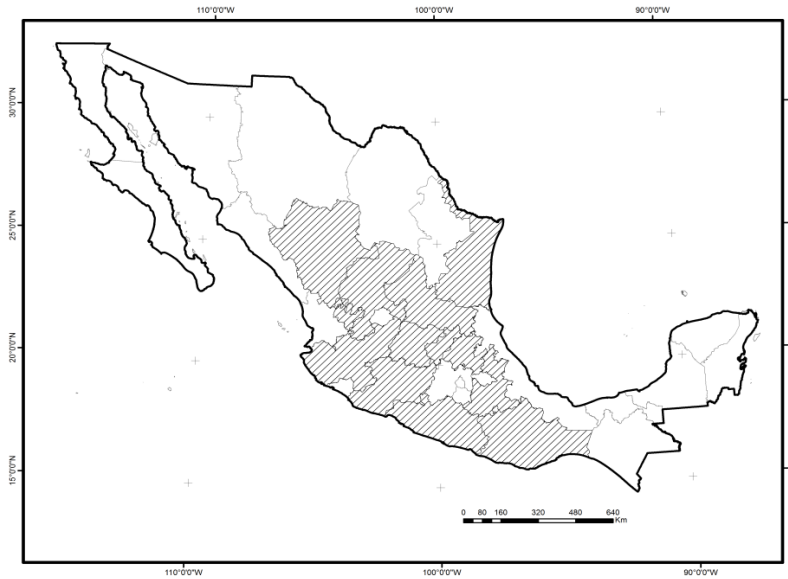


Figura 2. Distribución de *Myrtillocactus geometrizans* en la República Mexicana de acuerdo a Bravo-Hollis y Sánchez-Mejorada, 1978.

## 7. SITIO DE ESTUDIO

El presente estudio se realizó en Zapotitlán Salinas, Puebla, en el sitio conocido como “módulo caprino”, que se encuentra ubicado en las coordenadas 18° 19' 09.60” latitud norte y 97° 27' 05.71” latitud oeste. La precipitación media anual en la localidad de estudio es de 424.2 mm, las temperaturas media y máxima anual son 21.5 y 30.3 °C, con una altitud de 2,240 msnm (SMN, 2010). El clima que predomina es semiárido con lluvias en verano (Arias *et al.*, 1997; Rzedowski, 2006). La vegetación dominante es de tipo matorral xerófilo (Rzedowski, 2006), pudiéndose reconocer diferentes modalidades fisonómicas de acuerdo con variaciones en las condiciones medioambientales locales que se expresan en diferentes arreglos en la vegetación (Zavala–Hurtado, 1982).

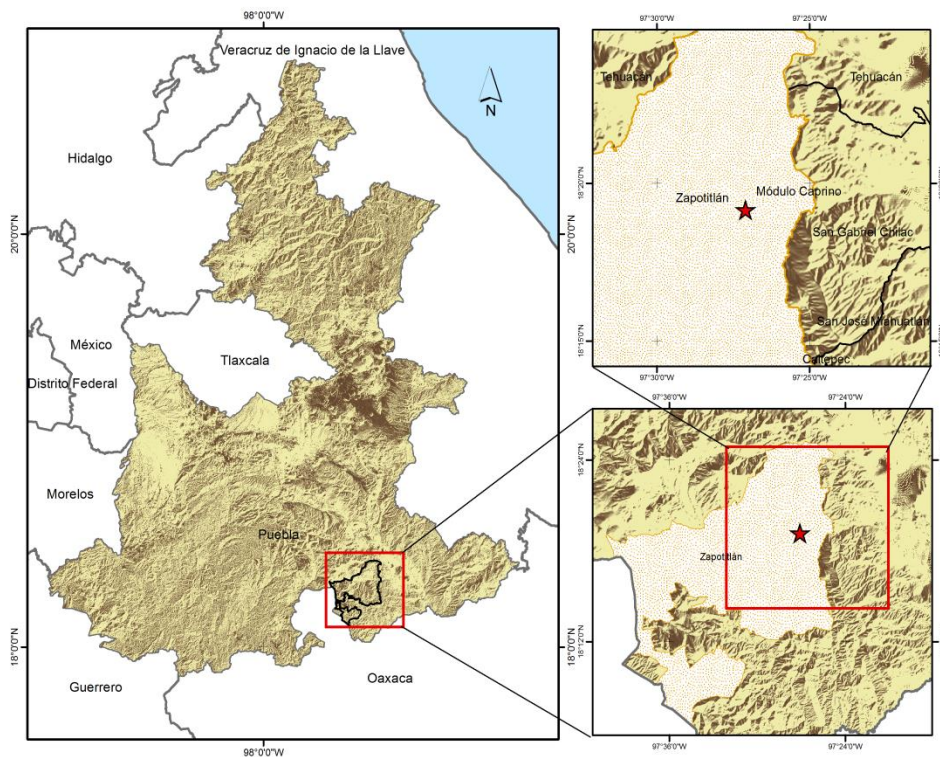


Figura 3. Ubicación del sitio de estudio “Modulo caprino” en Zapotitlán salinas, Puebla.

## 8. METODOLOGIA

En febrero de 2014 y de 2015, se realizaron colectas de botones florales de 15 individuos de *Myrtillocactus geometrizans*. En cada individuo se identificaron como ramas norte aquellas ramas externas cuyo acimut estuviera entre los  $315^\circ$  y  $45^\circ$ . De igual forma, se identificaron como ramas sur aquellas ramas externas cuyo acimut estuviera entre los  $135^\circ$  y  $225^\circ$ . De forma pareada, en cada individuo se colectaron dos botones florales de las costillas más norteñas de las ramas norte y dos de las costillas más sureñas de las ramas sur. En total se colectaron 120 botones florales (2 botones norte 2 botones sur 15 individuos 2 años). Los botones florales colectados se fijaron en una solución de Formaldehído-Alcohol-Ácido Acético (FAA) y se transportaron al laboratorio para su posterior procesamiento. La colecta de botones florales, y no flores asegura que las anteras no estén dehiscentes y así se obtiene el número total de granos de polen por antera al realizar la cuantificación de los granos de polen.

### 8.1. Efecto de la orientación floral sobre la función masculina

Para determinar si existe un efecto de la orientación sobre la función masculina, en botones florales con orientación contrastante (*i. e.*, norte vs sur), se determinó el número de anteras, el tamaño de las anteras y el número de granos de polen por antera. En cada botón floral se evaluó también la viabilidad, la proporción de germinación y el tamaño de los granos de polen, así como la longitud del tubo polínico.

Para determinar el número de anteras, se realizaron disecciones de los botones florales bajo el microscopio estereoscópico y se contó el número de anteras (Fig. 4). Se contó el número de anteras en cuatro botones por individuo, dos de cada orientación. El número de anteras de los dos botones de la misma orientación se promedió, de tal forma que se obtuvo el conteo de 30 individuos por orientación.

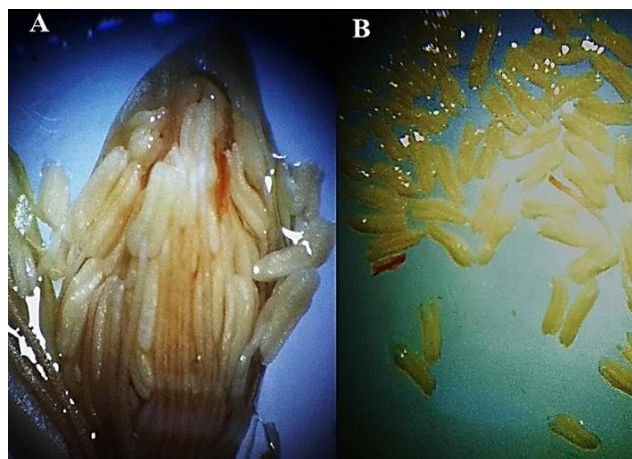


Figura 4. Corte longitudinal de botón floral (A), en el que se pueden observar el conjunto de anteras (B) de *Myrtillocactus geometrizans*. Fotos tomadas con microscopio estereoscópico, aumento de 2x.



Para establecer las dimensiones de las anteras, de cada botón floral colectado, se determinó la longitud y el ancho de dos anteras utilizando una reglilla micrométrica en el microscopio estereoscópico (Fig. 5). Posteriormente, se estimó el área de proyección de la antera como el producto del ancho por la longitud. Las dimensiones se determinaron a partir de dos anteras por botón, de cada uno de dos botones por orientación, de 30 individuos diferentes. En total, se estimó el promedio de cuatro anteras por orientación.

El número de granos de polen por antera y por botón floral se determinó a partir de dos anteras por botón floral. Cada antera se colocó individualmente en un microtubo de 1.5 ml con 150  $\mu$ l de lactofenol-anilina azul al 1% por lo menos un tiempo de 24 horas. Una vez en el microtubo, posteriormente cada antera se abrió con la ayuda de una aguja de disección, dispersando el polen en la solución. Entre cada muestra se limpió bien la aguja de disección para no contaminar las siguientes muestras. El volumen total contenido en cada microtubo se colocó en un porta objetos y con la ayuda de un microscopio estereoscópico y de un contador manual, se determinó el número de granos de polen por antera (Fig. 6). La variable número de granos de polen por antera, se determinó mediante el promedio del conteo de cuatro anteras para cada orientación, de los 30 individuos. El número total de granos de polen por botón se estimó a su vez multiplicando el número promedio de granos de polen por antera, por el número total de anteras por botón floral.

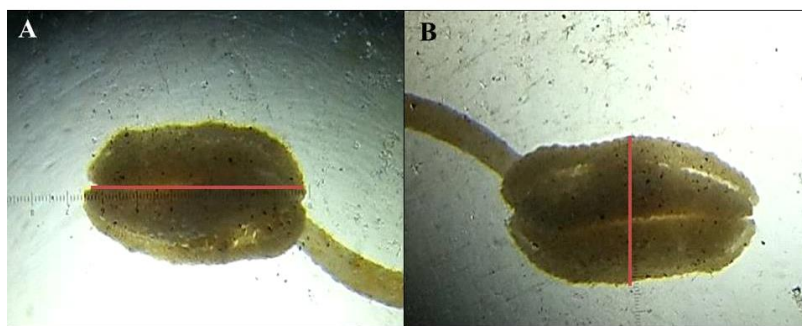


Figura 5. Estimación de las dimensiones de las anteras de *Myrtillocactus geometrizans*. A) longitud, B) ancho. Foto tomada con microscopio estereoscópico, aumento 5x.

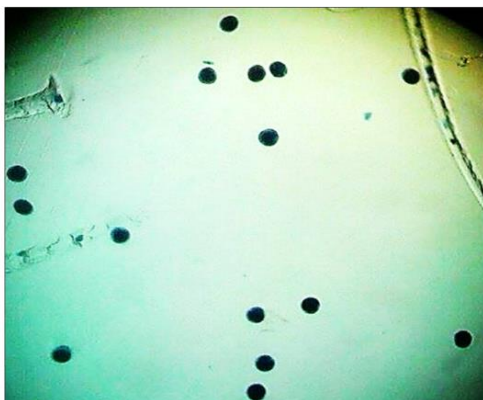


Figura 6. Granos de polen de *Myrtillocactus geometrizans* en solución de lactofenol-anilina azul. Foto tomada con microscopio estereoscópico, aumento 5x.

Para determinar el tamaño de los granos de polen, se preservó una antera por botón floral en FAA. En total, se utilizaron 30 anteras; 15 provenientes de yemas florales con orientación norte y 15 con orientación sur. Los granos de polen fueron sometidos a un proceso de acetólisis (Erdtman, 1986). Este procedimiento consiste en suspender los granos de polen en una solución de ácidos, centrifugar y decantar. Las anteras se suspendieron en un microtubo de 1.5 ml y se les agregó ácido acético glacial (1 ml) para deshidratarlas. Posteriormente, se maceró la muestra con una aguja de disección para romper el tejido de la antera y liberar los granos de polen. A fin de facilitar la separación de los granos de polen y acelerar la reacción del ácido acético glacial, cada tubo se agitó en un vortex durante 5 minutos. Posteriormente, se centrifugaron las muestras durante 15 minutos a 7000 rpm, en una micro centrifuga D1008. Al término de este lapso de tiempo, se decantó el ácido acético y se colocó 1 ml de solución de acetólisis, misma que consiste en añadir una parte de ácido sulfúrico concentrado por nueve partes de anhídrido acético puro. Cada microtubo se agitó en un vortex por 3 min, esto con el fin de acelerar la reacción. Posteriormente, cada muestra se centrifugó por 20 min. Este procedimiento se repitió dos veces, agregando 1 ml de la solución de acetólisis, agitando y centrifugando en cada ocasión. Al finalizar la centrifugación, los tubos se decantaron, el sedimento se enjuagó con agua destilada, y los granos de polen se almacenaron en glicerina hasta llevar a cabo la medición de los mismos.

Para determinar el diámetro de los granos de polen, se colocó en un porta objetos una gota con los granos de polen acetolizados, y se midió el diámetro de 30 granos de polen que presentaban una forma bien definida (Fig. 7). Las mediciones se realizaron con una microreglilla bajo un microscopio óptico Nikon Eclipse 50i.

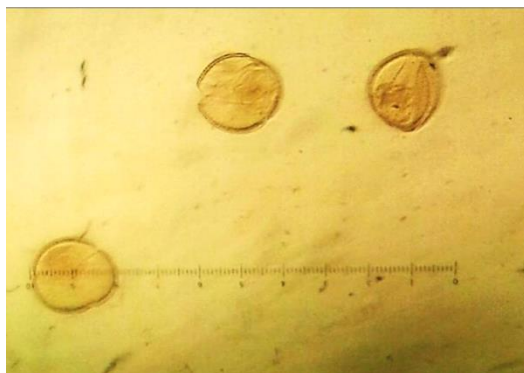


Figura 7. Estimación del diámetro de los granos polen acetolizados de *Myrtillocactus geometrizans*. Foto tomada con microscopio óptico, aumento 40x.

La viabilidad de los granos de polen se estimó considerando tres parámetros: actividad metabólica en el citoplasma, forma de los granos de polen y germinación y crecimiento del tubo polínico. Los primeros dos parámetros se estimaron al mismo tiempo que se realizó el conteo de los granos de polen, es decir, con la tinción de lactofenol-anilina azul al 1%. El principio fundamental de esta técnica, de acuerdo con Baker (1958), es que partes de las células vegetales son ácidas y tienen una afinidad por los colorantes básicos y viceversa. El lactofenol- anilina azul actúa como un tinte ácido y llega al citoplasma, por lo que tiene afinidad con las moléculas básicas dentro de la célula (Kiachn y Neu, 1960). Por esta razón, se tiñen de azul oscuro los granos de polen fértiles, mientras que los granos estériles presentan una tinción muy ligera o ausente, lo mismo que deformidades (Maneval, 1936). Los granos de polen redondos y teñidos de azul se consideraron viables, mientras que los granos de polen no viables no presentaron tinción o se tiñeron muy poco y tenían una forma diferente de la esférica (Fig.8).

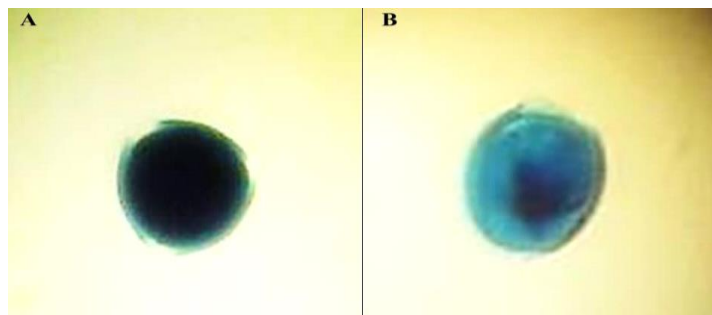


Figura 8. Granos de polen de *Myrtillocactus geometrizans*. A) Grano de polen viable, B) grano de polen no viable. Foto tomada con microscopio óptico, aumento 40x.

Para determinar el efecto de la orientación sobre la germinación de los granos de polen y el crecimiento del tubo polínico se realizaron ensayos *in vitro* (Fig. 9). Para obtener éxito en la germinación *in vitro* y crecimiento del tubo polínico se tomaron en cuenta diversos factores como son, el tipo de medio de cultivo, la concentración de sacarosa, el tiempo y temperatura de incubación, así como el tiempo de colecta, como lo reporta Dafni y Firmage (2000). Así, en abril de 2015 se colectaron 20 flores con orientaciones contrastantes. En cada uno de 10 individuos se colectó una flor con orientación norte, mientras que en otros 10 individuos se colectó una flor con orientación sur. Debido a la escasa disponibilidad de flores recién abiertas no fue posible la colecta de forma pareada. Las flores colectadas fueron colocadas individualmente en frascos destapados dentro de una hielera y fueron transportadas al laboratorio. Con ayuda de un asa bacteriológica se tomaron granos de polen de cada flor y se sembraron en cajas Petri con medio de germinación a base de 100 ppm  $H_3BO_4$ , 300 ppm  $Ca(NO_3)_2 \cdot 4H_2O$  y 100 ppm  $KNO_3$ , agar al 2% y solución de sacarosa al 30% (Brewbaker y Kwack, 1963). Inmediatamente después, las cajas fueron colocadas en un horno de secado a una temperatura de 30°C por 30 hrs. Tras este periodo de incubación se agregó una gota de lactofenol-anilina azul a cada caja para teñir el grano de polen y apreciar el tubo polínico.

La proporción de germinación se estimó a partir de establecer el número de granos de polen germinados de un total de 100 granos de polen observados al microscopio. Se consideró que un grano de polen había germinado cuando la longitud del tubo polínico era igual o superior a su diámetro (Fig. 10) (Heslop-Harrinson *et al.*, 1984; Muñoz y Devesa,

1987; Yates *et al.*, 1991; Weiss *et al.*, 1993, 1994; Mondragon-Jacobo y Bordelon, 1996; Andrés *et al.*, 1999; Metz *et al.*, 2000; Tejada *et al.*, 2001; Kakani *et al.*, 2002; Kakani *et al.*, 2005; Pares-Martínez *et al.*, 2006).

La longitud del tubo polínico se estimó con una micro reglilla bajo un microscopio estereoscópico Nikon SMZ645. La longitud del tubo polínico fue estimada en 35 granos de polen por caja Petri y luego se determinó el promedio.

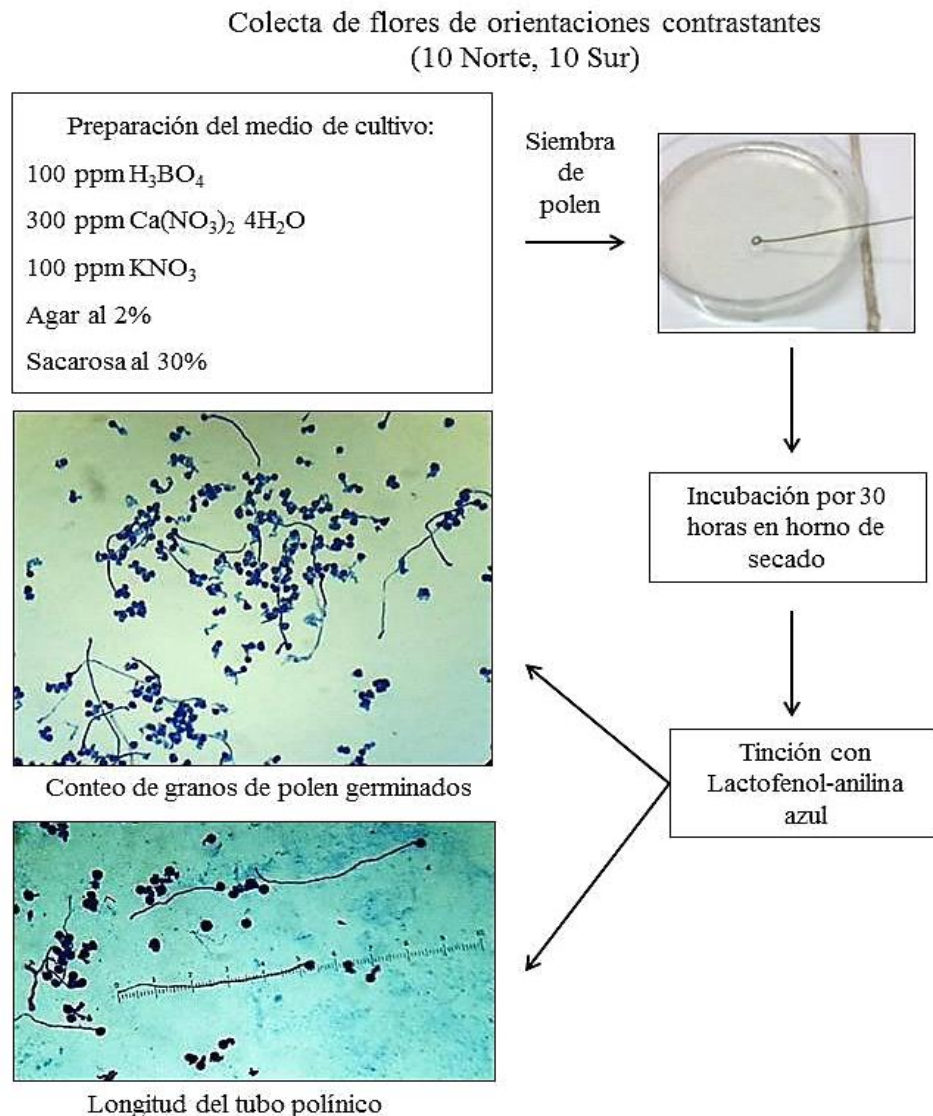


Figura 9. Método para determinación de la proporción de germinación de los granos de polen y de la longitud de los tubos polínicos de *Myrtillocactus geometrizans* provenientes de flores con orientación contrastante.

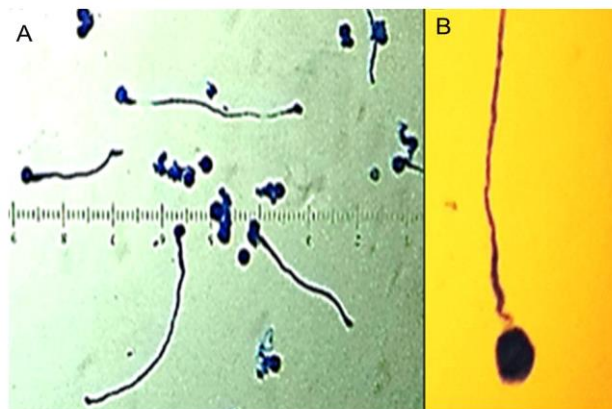


Figura 10. Germinación de los granos de polen de *Myrtillocactus geometrizans*. A) Granos de polen germinados mostrando tubos polínicos y no germinados. Foto tomada en microscopio estereoscópico, aumento 5x. B) Grano de polen germinado. Foto tomada en microscopio óptico, aumento 40x.

## 8.2. Efecto de la orientación floral sobre la función femenina

Para determinar el efecto de la orientación floral sobre la función femenina de *M. geometrizans*, se estimó el tamaño del ovario y el número de óvulos por estructura reproductiva. Para ello, se emplearon los mismos botones florales colectados en febrero de 2014 y 2015, como se indicó anteriormente.

El tamaño del ovario se describió con tres medidas: la longitud, el ancho y el producto de éstos dos (*i. e.*, área de proyección) (Fig. 11). Las mediciones se realizaron con una micro reglilla bajo un microscopio estereoscópico. Para cuantificar el número de óvulos, los botones florales fueron disectados longitudinalmente. Posteriormente, con una aguja de disección se separaron y se contabilizaron los óvulos (Fig. 12).

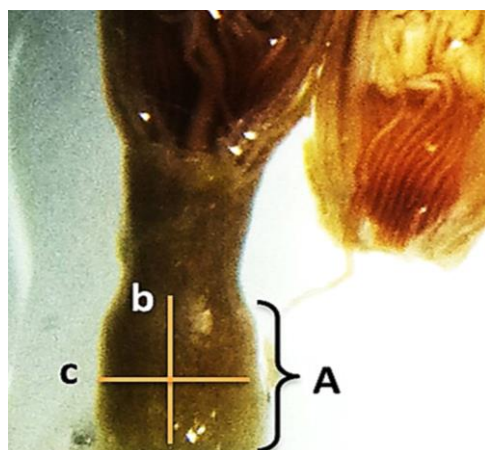


Figura 11. Botón floral de *Myrtillocactus geometrizans*. (A) Ovario, b) largo del ovario, c) ancho del ovario. Foto tomada con microscopio estereoscópico, aumento 5x.

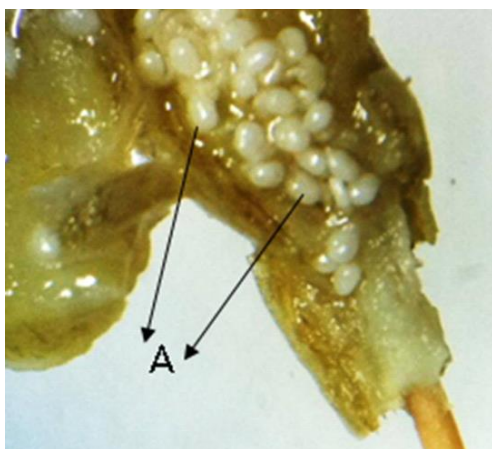


Figura 12. Corte longitudinal de botón floral de *Myrtillocactus geometrizans* para realizar el conteo de óvulos (A). Foto tomada con microscopio estereoscópico, aumento 5x.

### 8.3. Sistema reproductivo

Para determinar el sistema reproductivo de *M. geometrizans*, se utilizaron los datos de número de granos de polen y de óvulos por estructura reproductiva obtenidos previamente. Para estimar la relación P/O. Una vez obtenida dicha relación, se determinó el sistema reproductivo de *M. geometrizans* de acuerdo con las categorías propuestas por Cruden (1977; Tabla 1). Valores altos de la relación P/O sugieren que las plantas tienen un sistema reproductivo xenogámico, mientras que valores bajos indican que las plantas son autógamas (Cruden, 1977; Tabla 1).

Tabla 1. Clasificación de sistemas reproductivos en plantas inferido a partir del cociente polen/óvulos (P/O; Cruden, 1977).

<b>Sistema reproductivo</b>	<b>P/O X ± E.E.</b>
Cleistogamia	4.7 ± 0.7
Autogamia obligada	27.7 ± 3.1
Autogamia facultativa	168.5 ± 22.1
Xenogamia facultativa	796.6 ± 87.7
Xenogamia	5859.2 ± 936.5



#### 8.4. Análisis estadísticos

Los datos de todos los caracteres reproductivos masculinos (*i. e.*, número de anteras por estructura reproductiva; ancho, longitud y área de las anteras; número de granos de polen por antera y por estructura reproductiva; diámetro y proporción de viabilidad de polen) y femeninos (*i. e.*, número de óvulos por estructura reproductiva; ancho, longitud y área del ovario), así como la relación P/O se analizaron con pruebas de  $t_{(1)}$ -pareadas, para probar la hipótesis de que los botones florales producidos en las ramas sur de los individuos de *M. geometrizzans* tienen valores más altos de cada carácter reproductivo respecto a aquellas producidas en las ramas norte. Los valores por individuo representan el promedio de los datos de dos botones colectados por orientación. Sólo en el caso de la germinación de los granos de polen y longitud del tubo polínico se utilizaron pruebas de  $t_{(1)}$  para muestras independientes.

Se realizó un análisis de regresión utilizando el procedimiento “paso a paso” (*i. e.*, *stepwise regression*) para determinar cuál es la dimensión de la antera (longitud, ancho y longitud x ancho) que explica mejor la variabilidad en la proporción de viabilidad de los granos de polen por antera.

El número de anteras por botón, el número de granos de polen por antera y por estructura reproductiva, así como el número de óvulos por botón se transformaron como  $(x + 0.5)^{1/2}$  (Zar, 1999). Por su parte, las proporciones de granos de polen viable se transformaron como arcoseno (Zar, 1999). Todos los análisis estadísticos se realizaron en el programa NCSST 2000.

## 9. RESULTADOS

### 9.1. Efecto de la orientación floral sobre la función masculina

Se encontró un efecto significativo de la orientación en siete de los diez caracteres florales masculinos que fueron medidos (Tabla 2). Los botones con orientación sur presentaron 10.91% más anteras comparados con los del norte (Tabla 2, Fig. 13A), aunque no se encontraron diferencias significativas en las dimensiones de las anteras (*i. e.*, longitud, ancho y área) entre orientaciones (Tabla 2). De igual forma, los botones con orientación sur presentaron un 7.7% más granos de polen por antera (Fig. 13B) y un 18.41% más granos de polen por botón (Fig. 14) comparados con los del norte (Tabla 2).

Por otro lado, el diámetro promedio de los granos de polen fue significativamente diferente entre orientaciones (Tabla 2), siendo aquellos producidos en botones con orientación sur 6.7% más grandes que los producidos en botones con orientación norte (Fig. 15). Similarmente, la proporción de viabilidad de los granos de polen de botones con orientación sur fue 10.9% mayor respecto a los del norte (Tabla 2, Fig. 16A).

Respecto a la proporción de germinación de los granos de polen también se detectaron diferencias significativas entre orientaciones (Tabla 2). Dicha proporción fue 37.2% mayor para los granos de polen de botones con orientación sur respecto a los del norte (Fig. 16B). La longitud del tubo polínico fue 85.61% mayor en granos de polen de botones con orientación sur comparados con aquellos con orientación norte (Tabla 2, Fig. 17).

Tabla 2. Valor promedio ( $\pm$  e.e.) y pruebas de  $t_{(1)}$ -pareadas de los caracteres masculinos de botones de *Myrtillocactus geometrizans* con orientaciones contrastantes. Sólo en el caso de la germinación de los granos de polen y longitud del tubo polínico se utilizaron pruebas de  $t_{(1)}$  para dos muestras independientes.

Caracter floral	Orientación		$t_{(1)}$ [g.l.]	$p$
	Norte	Sur		
Número de anteras por botón	75.31 $\pm$ 2.74	83.53 $\pm$ 2.68	3.96 [28]	0.0002
Longitud de la anteras (mm)	1.60 $\pm$ 0.03	1.62 $\pm$ 0.031	0.73 [28]	0.2300
Ancho de la anteras (mm)	0.61 $\pm$ 0.013	0.62 $\pm$ 0.016	0.67 [28]	0.2500
Longitud x ancho de la antera (mm <sup>2</sup> )	0.99 $\pm$ 0.033	1.01 $\pm$ 0.036	0.86 [28]	0.1900
Número de granos de polen/antera	642.50 $\pm$ 18.43	692.30 $\pm$ 17.96	3.41 [28]	0.0009
Número de granos de polen/botón	48547.87 $\pm$ 2245.38	57488.6 $\pm$ 1947.6	4.81 [28]	< 0.0001
Diámetro de los granos de polen ( $\mu$ m)	47.81 $\pm$ 0.813	51.05 $\pm$ 0.72	5.43 [28]	< 0.0003
Proporción de viabilidad de los granos de polen	0.853 $\pm$ 0.040	0.946 $\pm$ 0.013	2.44 [28]	0.0100
Proporción de germinación de los granos de polen	25.5 $\pm$ 4.01	35 $\pm$ 2.90	2.08 [18]	0.0330
Longitud del tubo polínico ( $\mu$ m)	196.99 $\pm$ 24.90	365.65 $\pm$ 177.89	3.07 [18]	0.0060

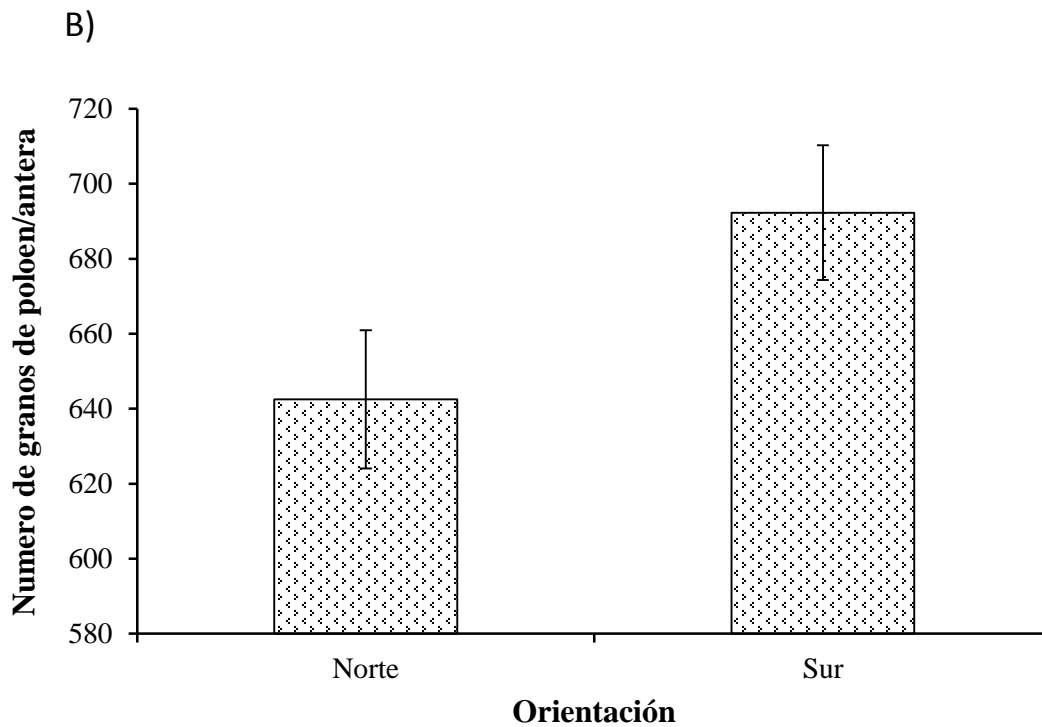
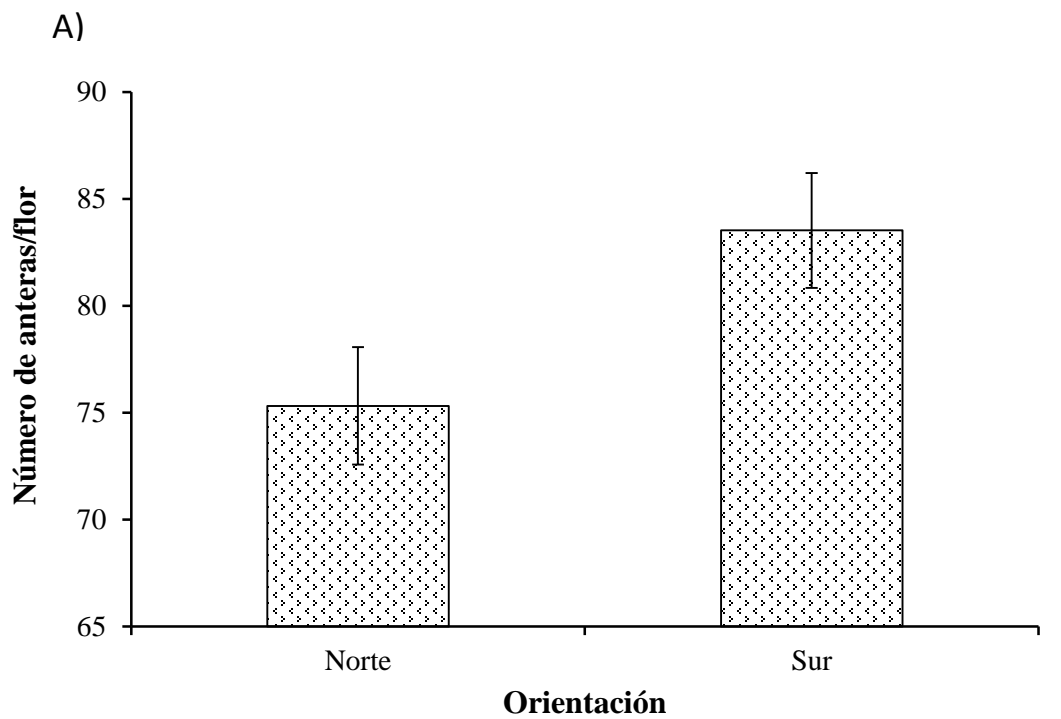


Figura 13. Valores promedio del número de anteras (A) y número de granos de polen por antera (B) de *Myrtillocactus geometrizans* con orientaciones contrastantes. Las líneas representan el error estándar.

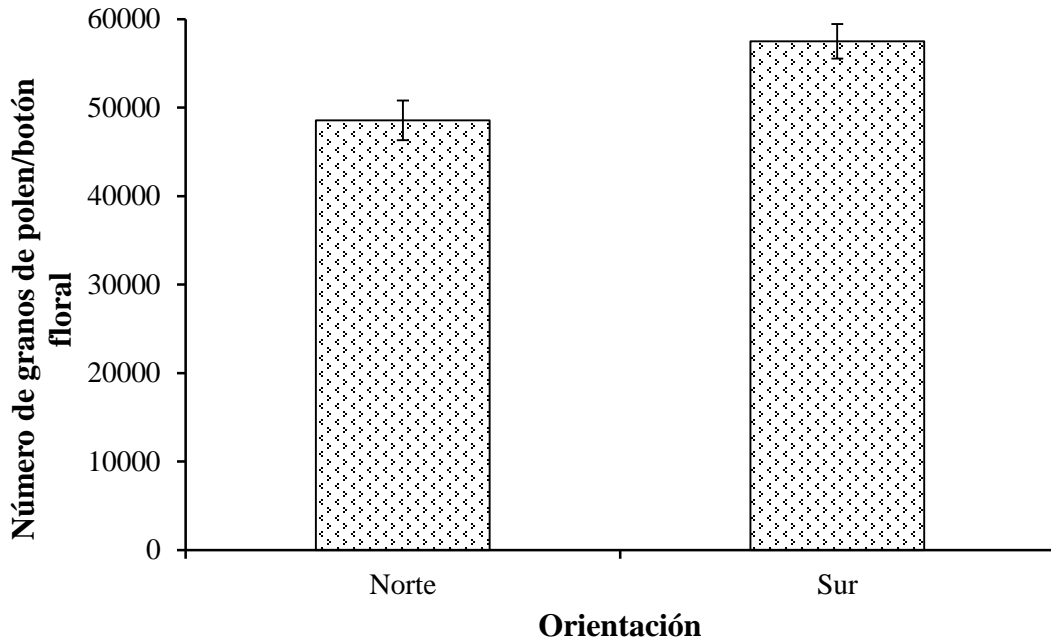


Figura 14. Valores promedio del número de granos de polen botón floral de *Myrtillocactus geometrizans* con orientaciones contrastantes. Las líneas representan el error estándar.

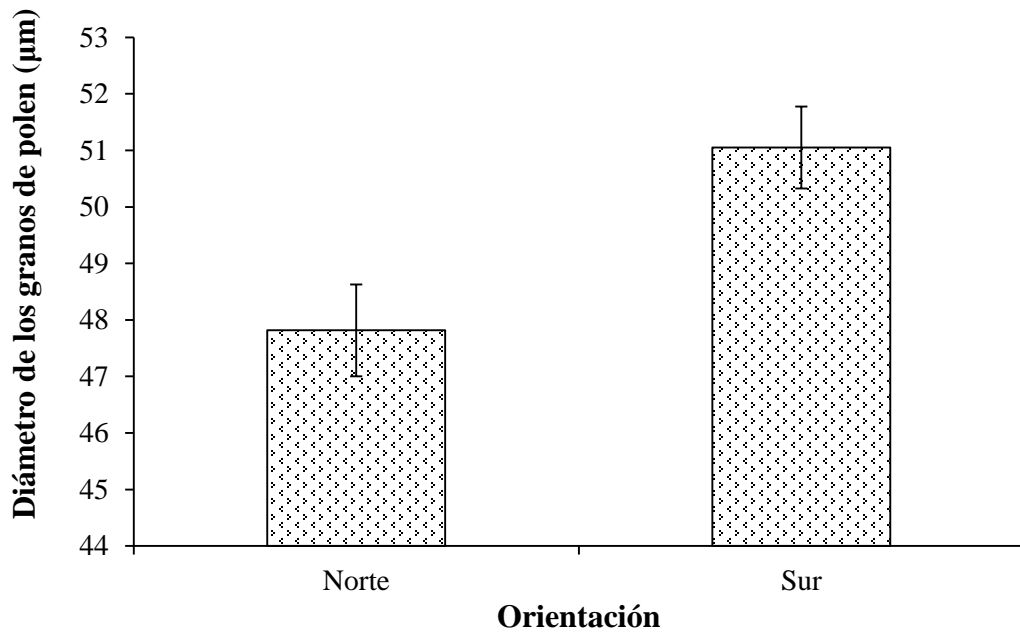


Figura 15. Valores promedio del diámetro de los granos de polen de *Myrtillocactus geometrizans* con orientaciones contrastantes. Las líneas representan el error estándar.

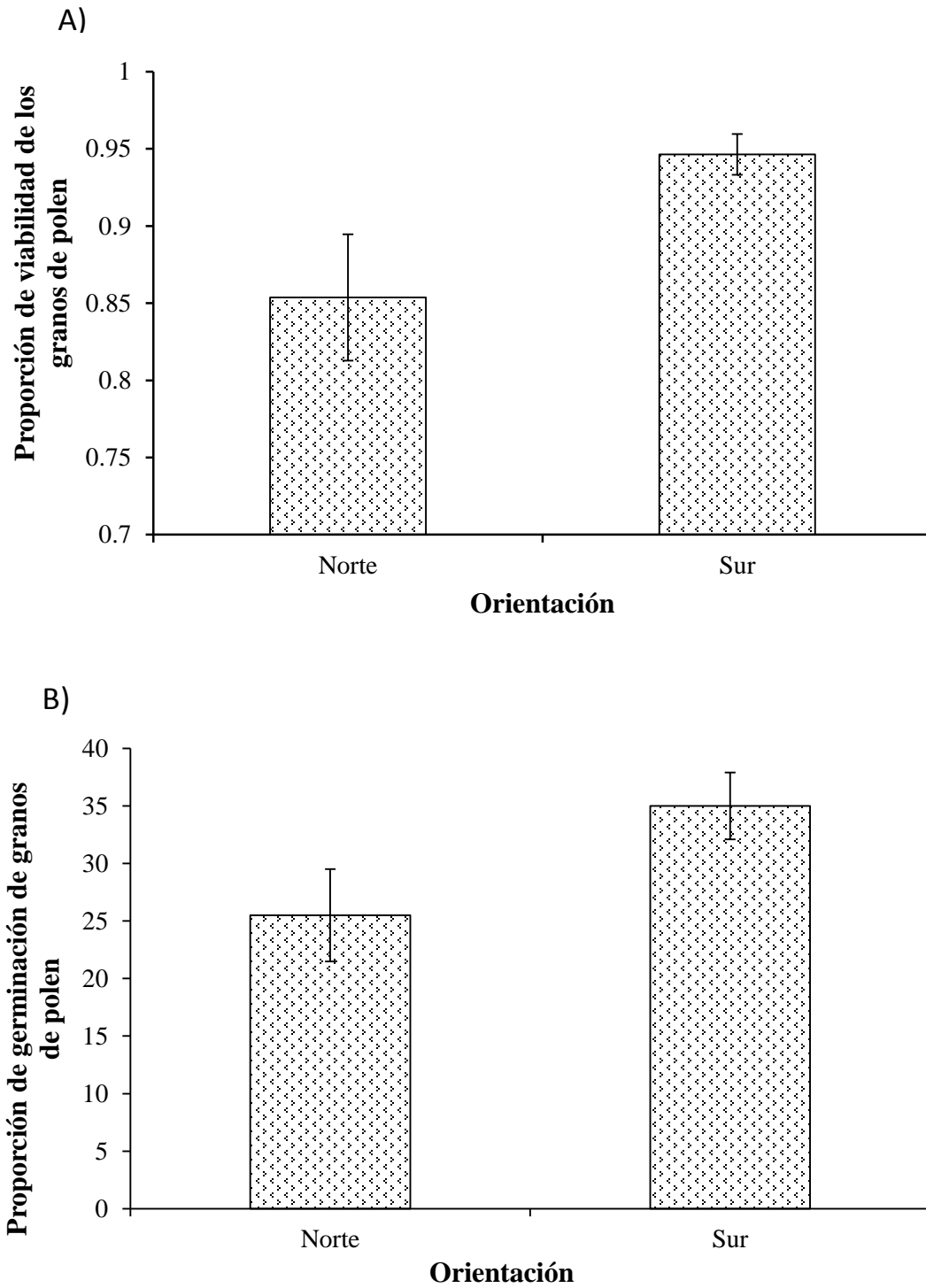


Figura 16. Valores promedio de la proporción de viabilidad de granos de polen (A) y de germinación de granos de polen (B) de botones de *Myrtillocactus geometrizans* con orientaciones contrastantes. Las líneas representan el error estándar.

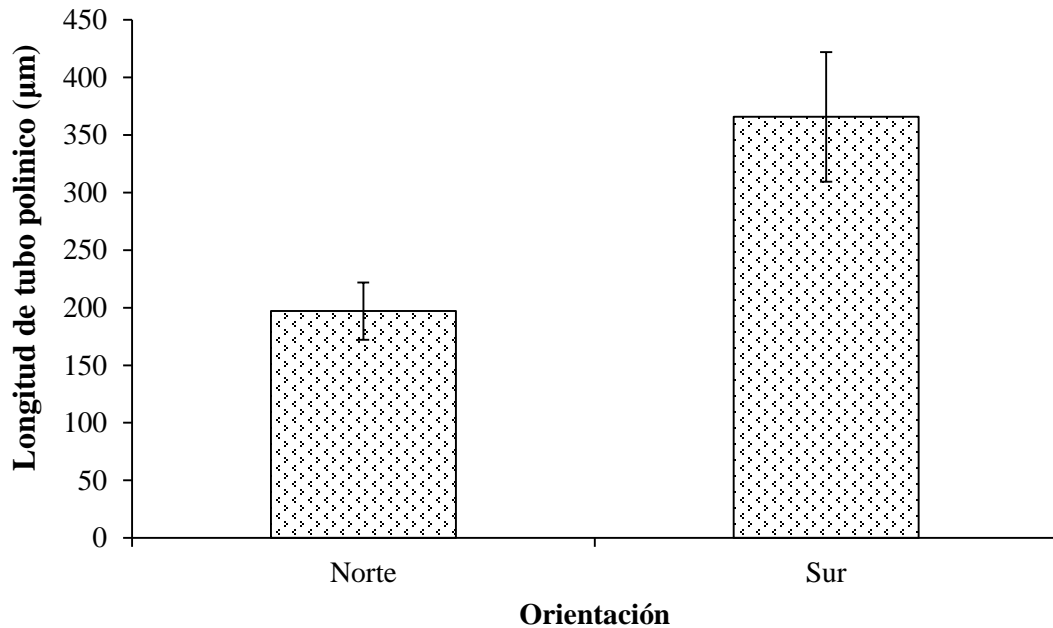


Figura 17. Valores promedio de la longitud del tubo polínico ( $\mu\text{m}$ ), en botones de *Myrtillocactus geometrizans* con orientaciones contrastantes. Las barras representan error estándar.

El análisis de regresión para determinar cuál de las dimensiones de la antera explica mejor la variabilidad en la proporción de viabilidad del polen, mostró que el ancho de la antera es la variable que mejor predice la proporción de viabilidad. La relación entre estas dos variables fue significativa y positiva ( $F_{1, 58} = 4.97$ ,  $P = 0.029$ ,  $r^2 = 0.07$ ); esto es, en anteras más anchas hay mayor proporción de granos de polen viables. La ecuación de la recta que describe esta relación es:  $\text{arcoseno} = \text{ancho de la antera} \cdot 0.492 + 0.601$  (Fig. 18).

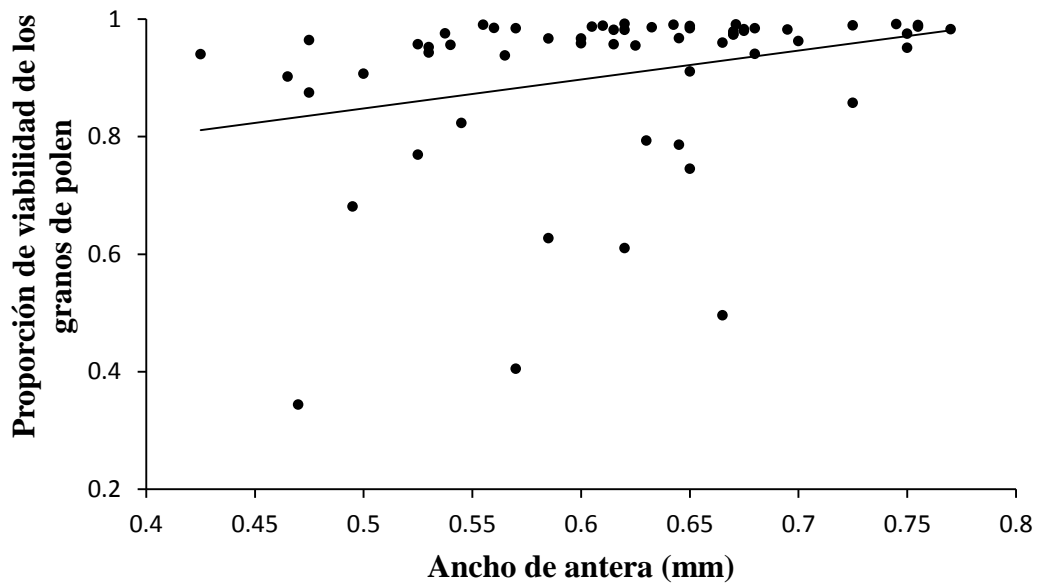


Figura 18. Regresión lineal entre el ancho de la antera y proporción de viabilidad de los granos de polen de *Myrtillocactus geometrizans*.

## 9.2. Efecto de la orientación floral sobre la función femenina

De los caracteres femeninos evaluados, sólo la longitud y el área del ovario (longitud x ancho) mostraron diferencias significativas entre orientaciones contrastantes, siendo 14.1% (Fig. 19A) y 14.31% (Fig. 19B) mayores en los botones con orientación sur, respectivamente (Tabla 3).



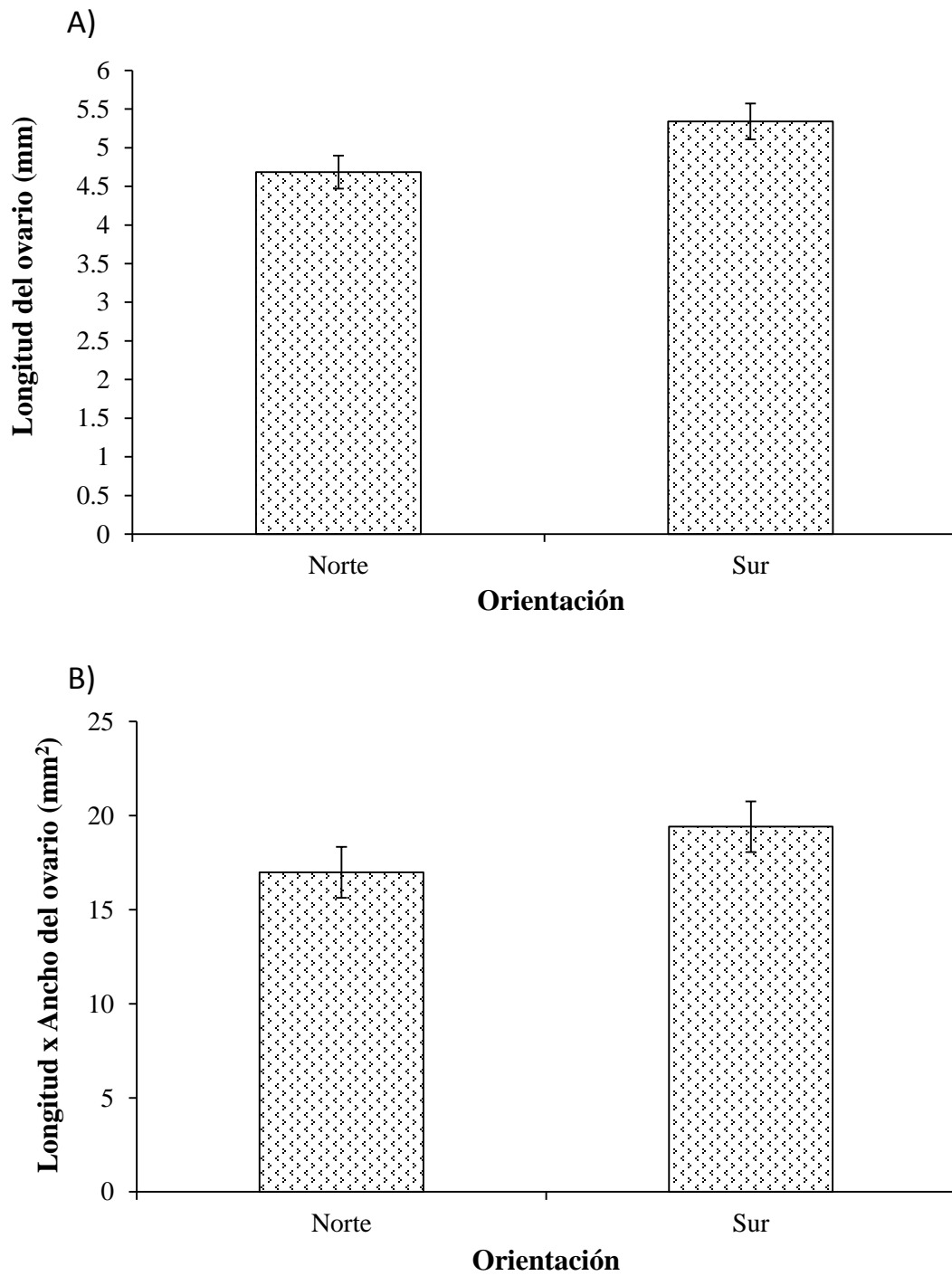


Figura 19. Valores promedio de la longitud del ovario (A) y el área del ovario (longitud x ancho) (B), de botones de *Myrtillocactus geometrizans* con orientaciones contrastantes. Las barras representan error estándar.

Tabla 3. Valores promedio ( $\pm$  e.e.) y **pruebas de  $t_{(1)}$ -pareadas** de caracteres femeninos de botones florales de *Myrtillocactus geometrizans* con orientaciones contrastantes.

Caracter floral	Orientación			
	NORTE	SUR	$t_{(1)}$ [g.l.]	$p$
Número de óvulos	70.18 $\pm$ 3.31	70.41 $\pm$ 2.90	0.20 [28]	0.4100
Longitud del ovario (mm)	4.68 $\pm$ 0.21	5.34 $\pm$ 0.23	5.06 [28]	< 0.0001
Ancho del ovario (mm)	3.49 $\pm$ 0.14	3.54 $\pm$ 0.11	0.41 [28]	0.3400
Área del ovario (mm <sup>2</sup> )	16.98 $\pm$ 1.35	19.41 $\pm$ 1.35	2.86 [28]	0.0030

### 9.3. Sistema reproductivo

Las estructuras reproductivas orientadas hacia el sur tuvieron una relación P/O significativamente mayor que las orientadas hacia el norte (850.29  $\pm$  39.47; 727.01  $\pm$  43.75, respectivamente);  $t = 3.40$ , g.l. = 28  $p = 0.0009$ ) (Fig. 20). De acuerdo con la clasificación de Cruden (1977), *M. geometrizans* tiene un sistema reproductivo xenógamo facultativo para ambas orientaciones.

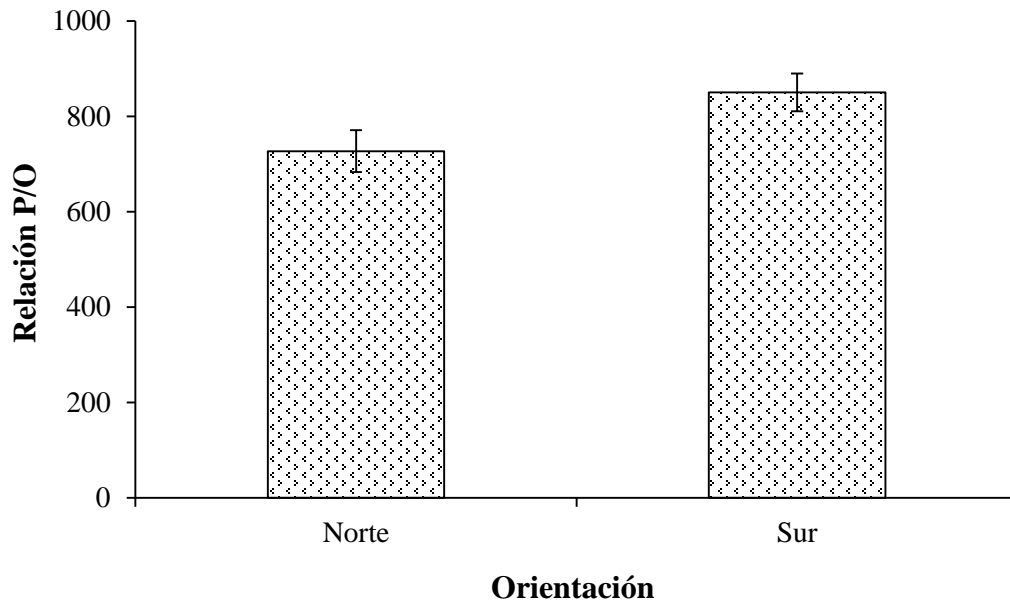


Figura 20. Valores promedio de la relación polen/óvulos de botones florales de *Myrtillocactus geometrizans* con orientaciones contrastantes. Las líneas representan el error estándar.

## 10. DISCUSIÓN

### 10.1. Efecto de la orientación floral sobre las funciones masculina y femenina

*Myrtillocactus geometrizans* es un cacto arborescente que se ha empleado como modelo de estudio para explorar el fenómeno de la orientación preferencial de estructuras vegetativas y reproductivas (Rosas-García, 2010, Valencia-Mendoza, 2014). Estudios previos realizados en poblaciones de esta especie en la Barranca de Metztitlán (Hidalgo) han demostrado la existencia de una orientación preferencial en estructuras vegetativas y reproductivas (flores y frutos) (Rosas-García, 2010). Asimismo, en la misma región se ha observado que la producción de anteras y óvulos, así como el tamaño del ovario, son mayores en flores de las costillas sur de las ramas más sureñas, que son aquellas que recibe mayor RFA (Valencia-Mendoza, 2014). Sin embargo, no hay reportes del efecto de la orientación sobre los caracteres florales masculinos ni sobre el sistema reproductivo de la especie.

En el presente estudio se encontró que la orientación de botones y flores tiene un efecto significativo en la mayoría de los caracteres florales, tanto masculinos como femeninos estudiados en *M. geometrizzans* en Zapotitlán Salinas, Puebla. Tal y como se esperaba, el número de anteras por botón, así como de granos de polen por antera y por botón, el diámetro de los granos de polen y las dimensiones del ovario (longitud y área) fueron significativamente mayores en flores orientadas hacia el sur. Estos resultados son, en general, consistentes con los reportados para *M. geometrizzans* en la Barranca de Metztitlán (Valencia-Mendoza, 2014). Además de lo anterior, Aguilar-García (2012) también encontró que el número de anteras/botón es mayor en las flores con orientación sur en *Pachycereus weberi*. En relación al tamaño del ovario, Polowick y Sawhney (1985) reportan que el ovario del chile (*Capsicum annuum* L.) es mayor en flores expuestas a temperaturas más altas. Esto representa un escenario similar al experimentado por las estructuras reproductivas de *M. geometrizzans* orientadas hacia el sur. En relación a las diferencias detectadas en las dimensiones de las anteras (longitud, ancho y área), el número de óvulos y el ancho del ovario, aunque fueron en el sentido de lo esperado, no fueron distintas estadísticamente entre orientaciones contrastantes. En este sentido un estudio reciente en dos poblaciones norteñas de *Pachycereus pecten-arboriginum* en Sonora, Aguilar-Gastelum y Molina-Freaner, (2015) no encontraron diferencias significativas en el número de óvulos de flores entre costillas de diferente orientación (este, sur y oeste), por lo que dicho resultado no apoya la hipótesis de que las flores de orientación ecuatorial tienen mayor potencial reproductivo (Aguilar-Gastelum y Molina-Freaner, 2015). Al menos en el caso del número de óvulos, estos resultados contrastan con los reportados previamente para *P. weberi* (Figueroa-Castro y Valverde, 2011) y *M. geometrizzans* en la Barranca de Metztitlán (Valencia-Mendoza, 2014). En relación a este último, es posible que las diferencias encontradas para los resultados de número de óvulos entre el trabajo de Valencia-Mendoza (2014) y el presente estudio pueden deberse a la variación latitudinal que existe entre los sitios de estudio (Meztitlán, Hidalgo y Zapotitlán Salinas, Puebla, respectivamente). Si la radiación solar interceptada por las costillas de los tallos varía con la latitud y la estación del año (Nobel, 1988), es posible que la cantidad de recursos para invertir en los caracteres reproductivos difieran por esta razón. Por otro lado, hay que destacar que en el caso del estudio de Aguilar-Gastelum y Molina-Freaner (2015) con *P.*

*pecten-aboriginum*, los autores sólo compararon flores de costillas con acimut este, sur y oeste debido a que no hubo flores orientadas hacia el norte. Por esta razón, tales resultados deben tomarse con reserva hasta que la evaluación incluya flores de todas las orientaciones.

Las diferencias observadas en la mayoría de los caracteres florales masculinos y femeninos entre estructuras reproductivas con orientación contrastante pueden ser resultado de las diferencias en los regímenes de intercepción de RFA que experimentan las costillas con distinto acimut, siendo las de orientación sur las que reciben mayor incidencia de RFA (Figueroa-Castro y Valverde, 2011). Lo anterior está asociado con una mayor captura de CO<sub>2</sub> y mayor disponibilidad de recursos (Lajtha *et al.*, 1997; Nobel y Quero, 1986), disponibles para la reproducción. En estudios con pimiento se menciona que a baja temperatura se producen menos granos de polen, debido a que en la antera no se acumulan carbohidratos suficientes para la maduración del polen (Pressman *et al.*, 1998; Shaked *et al.*, 2004). Dentro de las anteras, el arqueporio es el tejido responsable de la producción de granos de polen. El arqueporio está rodeado por el tapete o tejido nutricional, mismo que provee de nutrimentos a los granos de polen (Jaramillo, 2006). Por lo tanto, si las costillas orientadas hacia el sur cuentan con más recursos, el tapete de las anteras de estructuras reproductivas con dicha orientación dispone de más recursos para nutrir al arqueporio y, por lo tanto, formar más granos de polen como aquí se reporta.

## **10.2. Viabilidad de los granos de polen**

Los resultados obtenidos indican que los granos de polen de flores de *M. geometrizans* orientadas hacia el sur presentan mayor viabilidad que los de flores orientadas hacia el norte. De igual forma, la orientación afecta significativamente la proporción de germinación de los granos de polen y el tamaño del polen, siendo mayores en las flores orientadas hacia el sur. Si partimos del supuesto de que mayor intercepción de RFA supone un aumento en la temperatura de las costillas orientadas hacia el sur, este incremento en la temperatura no afectó negativamente la producción de polen, su viabilidad, o el crecimiento del tubo polínico, como lo plantea Bamberg (1995). Por el contrario, los resultados obtenidos en el presente estudio indican que las diversas medidas de viabilidad del polen no se ven disminuidas en las estructuras reproductivas producidas en las costillas con

orientación sur. Más aún, los resultados de viabilidad de polen reportados en este estudio son similares a los obtenidos por Aguilar-García (2012), quien encontró que los granos de polen de *P. weberi* de flores orientadas al sur tiene una proporción de viabilidad marginalmente mayor que las del norte. Esto sugiere que la recepción de RFA y la producción de carbohidratos podrían estar determinando, en mayor medida, la calidad de los granos de polen (viabilidad y germinación) en flores con orientaciones contrastantes. Si el lado sur del tallo recibe más RFA (Figuroa-Castro y Valverde, 2011) y esto se asocia positivamente con la producción de carbohidratos (Tinoco-Ojanguren y Molina-Freaner, 2000), entonces en ese lado del tallo habrá más carbohidratos disponibles para la maduración del polen, ya que estos constituyen el principal nutriente para el desarrollo y maduración del polen (Pacini, 1996). Ante esto, la cantidad de recursos disponibles en cada lado del tallo parece estar determinando la calidad diferencial de los granos de polen de flores con orientaciones contrastantes. Por otro lado, también se ha sugerido que las plantas que se encuentran expuestas a altas temperaturas cuentan con un mecanismo que les permite conservar el contenido de carbohidratos apropiado bajo estrés térmico y así mantener la concentración de azúcares solubles en los granos de polen maduros (Shaked *et al.*, 2004; Firona *et al.* 2006), que constituyen las principales sustancias metabólicas para la germinación de los granos de polen (Stanley, 1971). Además, los granos de polen expuestos a un alto riesgo de desecación, contienen una gran cantidad de sacarosa, la cual protege la membrana y le confiere mayor longevidad (Hoekstra *et al.*, 1989). Por otro lado se ha reportado que las bajas temperaturas, interfieren con la acumulación de almidón, disminuyendo la concentración de azúcares en los granos de polen maduros (Shaked *et al.*, 2004). Esta disminución de carbohidratos puede ocasionar una disminución en la cantidad de nutrientes presentes en la antera y la degeneración temprana del *tapetum*, limitando así la cantidad de nutrientes disponibles para el desarrollo de los granos de polen (Dafni y Firmage, 2000). Por ejemplo, en ensayos de germinación de granos de polen *in vitro*, si la concentración de sacarosa es demasiado baja, la germinación es pobre y los tubos de polen serán cortos (Mortenson *et al.*, 1964; Pandey y Sharma, 1984; Muñoz y Devesa, 1987). Además, a concentraciones de sacarosa extremadamente altas o bajas, el polen estalla o encoge (Kearns e Inouye, 1993).

De acuerdo a lo anterior, es posible que los granos de polen de estructuras reproductivas de *M. geometrizzans* orientadas hacia el sur presenten un alto contenido de azúcares, lo que favorece su viabilidad. Además, dicha diferencia en el contenido de carbohidratos puede ocasionar un aumento en la cantidad de nutrientes disponibles para las anteras de estructuras reproductivas orientadas hacia el sur, lo que en cierta forma evita la degeneración temprana del *tapetum* y favorece la inversión de una mayor cantidad de nutrientes en la formación de los granos de polen (Dafni y Firmage, 2000; Domínguez, 2000).

Los diferentes métodos utilizados en el presente estudio para determinar la calidad del polen evidencian resultados contrastantes. La proporción de viabilidad de los granos de polen de *M. geometrizzans* estimado con el método de tinción fue de 83.5 - 94%, mientras que a través de los ensayos de germinación *in vitro* se obtuvo una proporción de viabilidad de 29.6 - 36.1%. Un patrón similar se ha observado en especies de papa (*Solanum sp.*) cuya proporción de viabilidad por tinción fue de 51% - 93%, mientras que por ensayos de germinación fue de 30 - 80% (González *et al.*, 2002). De esta forma, parecería que la técnica de tinción, aunque es más rápida y sencilla que los ensayos de germinación, sobreestima la proporción de viabilidad de los granos de polen. Por lo que los ensayos de germinación proporcionan una estimación de la viabilidad de los granos de polen más confiable y cercana a la realidad (Heslop-Harrison, *et al.*, 1984; Parfitt y Ganeshan, 1989; Rejón *et al.*, 2010; Sulusoglu y Cavusoglu, 2014).

En cuanto al tamaño de los granos de polen, éste es un carácter considerado relativamente constante dentro de cada especie vegetal, y ha sido utilizado como un carácter taxonómico (Bravo-Hollis y Sánchez-Mejorada, 1978, Pire *et al.*, 2004). Sin embargo, Aguilar-García (2012) y Aguilar-García *et al.* (2012) reportan una gran variabilidad en el tamaño de los granos de polen de *P. weberi*. Además, dichos autores reportan que el tamaño de los granos de polen de estructuras reproductivas orientadas hacia el norte es significativamente mayor que el de estructuras con orientación sur. Sin embargo, en el presente estudio se encontró el patrón opuesto, es decir, que los granos de polen provenientes de estructuras reproductivas con orientación norte fueron de menor tamaño que los que provenían de estructuras orientadas hacia el sur. El diámetro de los granos de polen es una medida de la cantidad de recursos disponibles para la germinación y

crecimiento del tubo polínico, e indirectamente proporciona información sobre el éxito para llevar a cabo la fecundación (Pressman *et al.*, 1998; Dafni y Firmage, 2000). Además, la longitud del tubo polínico se correlaciona con el diámetro del polen y/o la longitud del estilo (Aizen *et al.*, 1990). De esta forma, los granos de polen más grandes son más exitosos para germinar y tendrán tubos polínicos de mayor tamaño, debido a que en ellos se encuentran almacenados más carbohidratos. (Brewbaker y Kwack, 1963). Esto concuerda con los resultados obtenidos en el presente estudio, en el que los granos de polen de *M. geometrizzans* provenientes de estructuras reproductivas del lado sur del tallo, no sólo presentaron un mayor tamaño en general, sino que sus tubos polínicos fueron de mayor longitud en comparación con los granos de polen provenientes de estructuras reproductivas con orientación norte.

Por lo tanto, los resultados obtenidos sugieren la posibilidad que los granos de polen de las estructuras reproductivas orientadas hacia el sur sean más exitosos en fecundar óvulos, esto debido, entre otros aspectos, a que presentan una mayor viabilidad y a que desarrollan tubos polínicos más largos. De esta forma, las flores orientadas hacia el sur tendrían un mayor éxito en la función masculina que aquellas con orientación norte.

### **10.3. Efecto de la orientación floral sobre el sistema reproductivo**

En plantas de la Familia Cactaceae predomina el sistema reproductivo por entrecruzamiento, también denominado xenogamia obligada (Gibson y Nobel, 1986; Godínez-Álvarez *et al.*, 2003). En el presente estudio, la estimación de la relación P/O indica que *M. geometrizzans* presenta un sistema reproductivo xenogámico facultativo (Cruden, 1977), es decir, que presenta una alta relación polen:óvulos. Entre flores con orientaciones contrastantes los resultados mostraron que, en promedio, la relación P/O fue más baja en las flores del lado norte del tallo. De acuerdo con Cruden (1977), se puede observar una ligera tendencia hacia la autogamia facultativa. Este hallazgo plantea la necesidad de realizar estudios más detallados sobre la variación en el sistema reproductivo entre orientaciones contrastantes, diseñando experimentos de cruza controladas, determinando *seed-set*, *fruit-set* y establecer si existe limitación por recursos o por polen.



## 11. CONCLUSIÓN

Los resultados obtenidos en este estudio muestran que la orientación floral tuvo un efecto significativo en la gran mayoría de los caracteres florales reproductivos masculinos (número de anteras, número de granos de polen por antera y por estructura reproductiva, proporción de viabilidad y de germinación del polen, diámetro del polen y longitud del tubo polínico), así como algunos caracteres florales femeninos (longitud y área del ovario) y el sistema reproductivo de *M. geometrizzans* inferido a partir del cociente polen/óvulos..

Los resultados muestran que en *M. geometrizzans* la disponibilidad de recursos en lados opuestos del tallo influyen positivamente, tanto en los rasgos florales masculinos como en los femeninos de las estructuras reproductivas, por lo que también puede tener un efecto sobre el éxito reproductivo de flores con diferentes orientaciones.

## 12. LITERATURA CITADA

Aguilar-García, S.A. 2012. Caracterización del polen de *Pachycereus weberi* (Cactaceae): efecto de la orientación de las flores. Tesis de licenciatura. Benemérita Universidad Autónoma de Puebla, Puebla, México.

Aguilar-García, S.A., D.M. Figueroa-Castro y C. Castañeda-Posadas. 2012. Pollen morphology of *Pachycereus weberi* (Cactaceae): an evaluation of variation in pollen size. *Plant Systematics and Evolution* 298:1845–1850.

Aguilar-Gastelum, I. y F. Molina-Freaner. 2015. Orientación de las flores de dos poblaciones Norteñas de *Pachycereus pecten-aboriginum* (Cactaceae). *Botanical sciences* 93: 1-7.

Aizen, M.A., K.B. Searcy, D.L. Mulcahy. 1990. Among and within-flower comparisons of pollen tube growth, following self and cross pollinations in *Dianthus chinensis* L. (Caryophyllaceae). *American Journal of Botany* 77: 671-676.

Alcorn, S.M., S.E. McGregor y G. Olin. 1961. Pollination of saguaro cactus by doves, nectar-feeding bats, and honey bees. *Science* 133:1594–1595.

Andrés, M.V; J. Rodríguez y J.M. Durán. 1999. Viabilidad del polen del albaricoquero (*Prunus armeniaca* L.). *Investigación agraria, producción y protección vegetal* 14: 25-32.

Arias, M.S., L.S. Gama y C.L. Guzmán. 1997. Flora del Valle de Tehuacán-Cuicatlán. Fascículo 14. Cactaceae A. L. Juss. Instituto de Biología, Universidad Nacional Autónoma de México, México, D.F.

Badano, E. y B. Schlumberger. 2001. Sistema de cruzamiento y estimaciones en la eficiencia de polinización sobre *Trichocereus pasacana* (Cactaceae) en dos poblaciones del noroeste argentino. *Gayana Botanical* 58:115-122.

Baker, J.R. 1958. Principles of biological microtechnique; a study of fixation and dyeing. Methuen, Londres.

Bamberg, J.B. 1995. Screening potato (*Solanum*) species for male fertility under stress. *American Potatoe Journal* 72: 23-33.

Bravo-Hollis, H. y R.H. Sánchez-Mejorada. 1978. Las cactáceas de México. Vol. 1. Universidad Nacional Autónoma de México, México, D.F.

Brewbaker, J.L y B.H. Kwack. 1963. The essential role of calcium ion in pollen germination and pollen tube growth. *American Journal of Botany* 50: 859-865.

Calzada-López, S. G., C. L. Jiménez-Sierra y L. Matias-Palafox. 2007. Biología floral de *Mammillaria longimamma* DC. En la Reserva de la Biósfera Barranca de Metztitlán, Hidalgo. En: Pulido-Flores, G. y A. L. López-Escamilla. 2007. IV foro de investigadores por la conservación y II simposio de Áreas Naturales Protegidas del Estado de Hidalgo. UAEH.

Córdova-Acosta, E., M.A. Pérez-Hernández, P.L. Valverde y F. Vite. 2007. Orientación de estructuras reproductivas en *Pachycereus weberi* (J. Coulter) Backeb. en la región de Tehuacán-Cuicatlán. En: Memorias del XVII Congreso Mexicano de Botánica, Zacatecas, pp. 213.

Córdova-Acosta, E. 2011. Efecto de la orientación y caracteres de las flores en el éxito reproductivo de *Pachycereus weberi* en la región de Tehuacán-Cuicatlán. Tesis de Maestría. Universidad Autónoma Metropolitana, México, D.F.

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

Dafni, A. y D. Firmage. 2000. Pollen viability and longevity: practical, ecological and evolutionary implications. *Plant Systematics and Evolution* 222: 113-132.

Dávila, P., M.C. Arizmendi, A. Valiente-Banuet, J.L. Villaseñor, A. Casas y R. Lira. 2002. Biological diversity in the Tehuacan-Cuicatlan Valley, Mexico. *Biodiversity and Conservation* 11: 421-442.

Domínguez, C.E.M. 2000. Mejora genética de la fertilidad del polen de tomate (*Lycopersicon* Mill, spp) a bajas temperaturas: Aprovechamiento de la selección gametofítica. Tesis de Licenciatura. Universidad de Málaga, Málaga.

Drezner, T.D. 2003. Saguaro (*Carnegiea gigantea*, Cactaceae) age–height relationships and growth: the development of a general growth curve. *American Journal of Botany* 90: 911-914.

Ehleringer, J.R., H.A. Money, S.L. Gulmon y P. Rundel. 1980. Orientation and its consequences for *Copiapoa* (Cactaceae) in Atacama Desert. *Oecologia* 46: 63-67.

Erdtman, G. 1986. Pollen morphology and plant taxonomy: Angiosperms (an introduction to palynology). Volumen 1. Almqvist y Wiksell. Estocolmo, Suecia.

Figueroa-Castro, D.M. y P.L. Valverde. 2011. Flower orientation in *Pachycereus weberi* (Cactaceae): effects on ovule production, seed production and seed weight. *Journal of Arid Environments* 75: 1214-1217.

Firona, N., R. Shakeda, M.M. Peetb, D.M Pharrb, E. Zamskic, K. Rosenfelda, L. Althana y E. Pressmana. 2006. Pollen grains of heat tolerant tomato cultivars retain higher carbohydrate concentration under heat stress conditions. *Scientia Horticulturae* 109: 212–217.

Flores-Martínez, A., M.G.I. Manzanero, J. Golubov y M.C. Mandujano. 2013. Biología floral de *Mammillaria huitzilopochtli*, una especie rara que habita acantilados. *Botanical Sciences* 91: 349-356.

Geller, G.N. y P.S. Nobel. 1986. Branching patterns of columnar cacti: influences on PAR interception and CO<sub>2</sub> uptake. *American Journal of Botany* 73: 1193-1200.

Geller, G.N. y P.S. Nobel. 1987. Comparative cactus architecture and PAR interception. *American Journal of Botany* 74: 998-1005.

Gibson, A.C. y P.S. Nobel. 1986. *The Cactus Primer*. Harvard University Press. Cambridge.

- Godínez-Álvarez, H., T. Valverde y P. Ortega-Baes. 2003. Demographic trends in the Cactaceae. *The Botanical Review* 69:173-203.
- González, D.A., L.M.E. Riojas y N.H.J. Arreola. 2001. El género *Opuntia* en Jalisco. Guía de Campo. Universidad de Guadalajara-CONABIO, México, D.F.
- González-Quintero, L. 1969. Morfología polínica: la flora del valle del Mezquital Hidalgo. Instituto Nacional de Antropología e Historia, México, DF.
- González, M.E., A. Estévez, J. Castillo, J. Salomón, O. Moré y MA. M. Hernández. 2002. La calidad del polen: Requisito indispensable del mejoramiento tradicional de la papa en Cuba. *Revista Latinoamericana de la Papa* 13: 75-94.
- Herce, M.F., C. Martorell, C. Alfonso-Fernández, L. F. V. V. Boullosa y J.A. Meave. 2014. Stem tilting in the inter-tropical cactus *Echinocactus platyacanthus*: an adaptive solution to the trade-off between radiation acquisition and temperature control. *Plant Biology* 16: 571-577.
- Hernández, H.M. y H.A. Godínez. 1994. Contribución al conocimiento de las cactáceas mexicanas amenazadas. *Acta Botánica Mexicana* 26: 33-52.
- Heslop-Harrison, J.S., Y. Heslop-Harrison y K.R. Shivanna. 1984. The evaluation of pollen quality and a further appraisal of the flourochromatic (FCR) test procedure. *Theoretical and Applied Genetics* 67: 367-375.
- Hoekstra, F.A., L.M., Crowe y J.H. Crowe. 1989. Differential desiccation sensitivity of corn and *Pennisetum* pollen linked to sucrose content. *Plant Cell and Environment* 12: 83-91.
- Jaramillo, P.J. 2006. La flor y otros órganos derivados. Editorial Universidad de Caldas, Colombia.
- Jiménez-Sierra, C.L., M.L. Matias-Palafox y M. G. Jiménez-Sánchez. 2009. Aspectos demográficos y reproductivos de *Pachycereus weberi* (J.M.Coult.) Backeb. (Cactaceae) en una nueva localidad en el Estado de Hidalgo, México. *Cactáceas y Suculentas Mexicanas* 54: 36-47.

Johnson, D.S. 1924. The influence of insolation on the distribution and on the developmental sequence of the flowers of the giant cactus of Arizona. *Ecology* 5: 70-82.

Kakani, V.G., P.V.V. Prasad, P.Q. Craufurd y T. R. Wheeler. 2002. Response of in vitro pollen germination and pollen tube growth of groundnut (*Arachis hypogaea* L.) genotypes to temperature. *Plant, Cell and Environment* 25: 1651–1661.

Kakani, V.G., K.R. Reddy, S. Koti, T.P. Wallace, P.V.V. Prasad, V.R. Reddy y D. Zhao. 2005. Differences in *in vitro* pollen germination and pollen tube growth of cotton cultivars in response to high temperature. *Annals of Botany* 96: 59–67.

Kearns, C.A. y D.W. Inouye. 1993. Techniques for pollination biologists. University Press of Colorado, Niwot, Colorado.

Kiachn, F.V. y R.L. Neu. 1960. Hardwood Pollen Study. *Silvae Genetics* 9: 44-48.

Lajtha, K., K. Kolberg y J. Getz. 1997. Ecophysiology of the saguaro cactus (*Carnegiea gigantea*) in the Saguaro National Monument: relationship to symptoms of decline. *Journal of Arid Environments* 36: 579-590.

Maneval, W.E. 1936. Lactophenol preparations. *Journal Stain Technology* 11: 9-11.

Metz, C., A. Nerd y Y. Mizrahi. 2000. Viability of pollen of two fruit crop cacti of the genus *Hylocereus* is affected by temperatura and duration of storage. *HortScience* 35: 22-24.

Mondragon-Jacobo, C. y B.B. Bordelon. 1996. Cactus Pear (*Opuntia* spp. Cactaceae) breeding for fruit production. *Journal of the Professional Association for Cactus Development* 39:19-35.

Mortenson, R., S.J. Lorraine, Peloquin y R.W. Hougas. 1964. Germination of *Solanum* pollen on artificial media. *American Potato Journal* 41: 322-328.

Muñoz, A. y J.A. Devesa. 1987. Contribución al conocimiento de la biología floral del género *Lavandula* L. II. *Lavandula stoechas* L. subsp. *stoechas*. *Anales del jardín botánico de Madrid* 44: 63-78.

- Nassar, J.M. y N. Ramírez. 2004. Reproductive biology of the *Melocactus curvispinus* (Cactaceae). *Plant Systematics and Evolution* 248: 31-44.
- Nobel, P.S. 1980. Interception of photosynthetically active radiation by cacti of different morphology. *Oecology* 45: 160-166.
- Nobel, P.S. 1981. Influences of photosynthetically active radiation on cladode orientation stem tilting, and height of cacti. *Ecology* 62: 982-990.
- Nobel, P.S. 1982. Orientation, PAR interception, and nocturnal acidity increases for terminal cladodes of a widely cultivated cactus, *Opuntia ficus-indica*. *American Journal of Botany* 69: 1462-1469.
- Nobel, P.S. 1984. Extreme temperatures and thermal tolerances for seedlings of desert succulents. *Oecología* 62: 310-317.
- Nobel, P.S. 1985. PAR, water, and temperature limitations on the productivity of cultivated *Agave fourcroydes* (Henequen). *Journal of Applied Ecology* 22: 157-173.
- Nobel, P.S. 1988. Environmental biology of agave and cacti. Cambridge University Press, Nueva York.
- Nobel, P.S. 1994. Remarkable agaves and cacti. Oxford University Press, Nueva York.
- Nobel, P.S y E.Quero.1986. Environmental Productivity Indices for a Chihuahuan Desert Cam Plant, Agave Lechuguilla. *Ecology* 67: 1-11.
- Pacini, E. 1996 .Types and meaning of pollen carbohydrate reserves. *Sex. P1. Rep.* 9: 362-366.
- Pandey, I.R., y S.D. Sharma. 1984. Studies on flowering and pollination in wild peach (*Prunus persica* Batsch.). *Punjab Hort. J.* 24: 96-100.
- Pares-Martínez, J., C. Basso, D. Jauregui y L. Meléndez. 2006. Cantidad, viabilidad y germinabilidad de los granos de polen de *Carica Papaya* L. *Revista de la Facultad de Agronomía* 23: 172-180.

- Parfitt, D. E., y S. Ganeshan. 1989. Comparison of procedures for estimating viability of *Prunus* pollen. *Scientia Horticulturae* 24: 354-356.
- Patiño, S., C. Jeffree, y J. Grace. 2002. The ecological role of orientation in tropical *convolvulaceous* flowers. *Oecologia* 130:373-379.
- Pire, S. M., L. M. Anzótegui y G. A. Cuadrado. 2004. Estudios palinológicos en el litoral fluvial argentino. *Miscelánea* 12:139–146
- Polowick, P.L y V. K. Sawhney .1985. Temperature effects on male fertility and flower and fruit development in *Capsicum annuum* L. *Scientia Horticulturae* 25: 117-127.
- Pressman, E., H. Moshkovitch, K. Rosenfeld, R. Shaked, B. Gamliel y B. Aloni. 1998. Influence of low night temperatures on sweet pepper flower quality and effect of repeated pollinations, with viable pollen, on fruit setting. *Journal of Horticultural Science and Biotechnology* 73: 131-136.
- Rosas-García, E.M. 2010. Efecto de la orientación preferencial sobre las estructuras reproductivas y vegetativas en *Myrtillocactus geometrizans*. Tesis de Maestría. Universidad Autónoma Metropolitana, México, D.F.
- Rejón, J.D, C.G. Suárez, J.D. Alché, A.J. Castro y M.I. Rodríguez-García. 2010. Evaluación de diferentes métodos para estimar la calidad del polen para distintos cultivares de Olivo (*Olea europaea* l.). *Ediciones Universidad de Salamanca, España* 20: 61-72.
- Rzedowski, J. 2006. Vegetación de México. Comisión nacional para el conocimiento y uso de la biodiversidad. 1ra. Edición digital. México.
- Servicio Meteorológico Nacional (SMN). 2010. México, D.F.
- Shaked, R., K. Rosenfeld y E. Pressman. 2004. The effect of low night temperatures on carbohydrates metabolism in developing pollen grains of pepper in relation to their number and functioning. *Scientia Horticulturae* 102: 29-36.
- Sulusoglu, M. y A. Cavusoglu. 2014. In Vitro Pollen Viability and Pollen Germination in Cherry Laurel (*Prunus laurocerasus* L.). *The Scientific World Journal* 1-7.



Suzán, H., G.P. Nabhan y D.T. Patten. 1994. Nurse plant and floral biology of a rare night-blooming cereus, *Peniocereus striatus* (Brandege) F.Buxbaum. *Conservation Biology* 8:461-470.

Tinoco-Ojanguren, C. y F. Molina-Freaner. 2000. Flower orientation in *Pachycereus pringlei*. *Canadian Journal of Botany* 78: 1489-1494.

Tejeda, H.T, M. Roger, J. Malcolm, M.D.L. de la Isla, J.V. Hernández, A.V. Martínez y D. A. Rosales. Hernández. 2001. Impacto del ozono sobre el polen de *Pinus hartwegii* Lindl. *Revista Ciencia Forestal en México* 26: 5-18.

Totland, O. 1996. Flower heliotropism in an alpine population of *Ranunculus acris* (Ranunculaceae): effects on flower temperature, insect visitation and seed production. *American Journal of Botany* 83: 452-458.

Tovar-Alvarez, A.L., M.D. Martínez y L. del Real. 2009. Memorias del Programa Verano de la Ciencia. Universidad Autónoma de Querétaro, México.

Ushimaru, A., Kawase, D. e Imamura, A. 2006. Flowers adaptatively face down-slope in ten forest floor herbs. *Functional Ecology* 20: 585-591

Valencia-Mendoza, C.M. 2014. Efecto de la orientación de las flores en el éxito de la polinización en *M. geometrizzans* (Cactaceae). Tesis de Maestría. Universidad Autónoma Metropolitana, México, D.F.

Valiente-Banuet, A., A. Rojas-Martínez, A. Casas, M.C. Arizmendi y P. Dávila. 1997. Pollination biology of two winter-blooming giant columnar cacti in the Tehuacan Valley, Central Mexico. *Journal of Arid Environments* 37: 331-341.

Valverde, P.L., F. Vite y Y. Rodríguez-Salinas. 2006. Evaluación de la función termorreguladora del pseudocefalio en *Cephalocereus columna-trajani* (Kart. ex Pfeiff.) K. Schum. *Cactáceas y Suculentas Mexicanas* 51: 52-63.

Valverde, P.L., F. Vite., M.A. Pérez-Hernández y J.A. Zavala-Hurtado. 2007. Stem tilting, pseudocephalium orientation, and stem allometry in *Cephalocereus columna-trajani* along a short latitudinal gradient. *Plant Ecology* 188: 17-27.

Weiss, J, A. Nerd y Y. Mizrahi.1993. Vegetative parthenocarpy in the Cactus pear *Opuntia ficus-indica* (L) Mill. *Annals of Botany* 72: 521-526.

Weiss, J, A. Nerd y Y. Mizrahi.1994. Flowering behavior and pollination requirements in climbing cacti with fruit crop potential. *HortScience* 29: 1487-1492.

Woodhouse, R.M., J.G. Williams y P.S. Nobel. 1980. Leaf orientation, radiation interception, and nocturnal acidity increases by the CAM plant *Agave deserti* (Agavaceae). *American Journal of Botany* 67: 1179-1185.

Yates, I.E., D. Sparks, K. Connor, and L. Towill. 1991. Reducing pollen moisture simplifies long term-storage of pecan pollen. *Journal of the American Society for Horticultural Science* 116: 430-434.

Zar, J.H. 1999. Biostatistical Analysis. Prentice-Hall, Nueva Jersey.

Zavala-Hurtado, J.A. 1982. Estudios ecológicos en el valle semiárido de Zapotitlán, Puebla. I. Clasificación numérica de la vegetación basada en atributos binarios de presencia o ausencia de las especies. *Biotica* 7: 99-120.

Zavala-Hurtado, J.A., F. Vite y E. Ezcurra. 1998. Stem tilting and pseudocephalium orientation in *Cephalocereus columna-trajani* (Cactaceae): functional interpretation. *Ecology* 79: 340-348.