



**Universidad Autónoma de Querétaro**  
**Facultad de Ciencias Naturales**  
**Maestría en Recursos Bióticos**

**“BIOLOGÍA REPRODUCTIVA Y SÍNDROME DE POLINIZACIÓN DE TRES  
ESPECIES SIMPÁTRICAS DE *CESTRUM* (SOLANACEAE)”**

Tesis

Que como parte de los requisitos para obtener el grado de  
Maestro en Ciencias - Recursos Bióticos

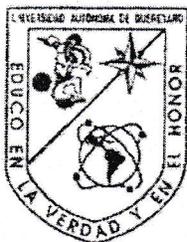
Presenta:

**OLIVA RAMÍREZ SEGURA**

Dirigido por:

**DRA. MAHINDA MARTÍNEZ Y DÍAZ DE SALAS**

Centro Universitario  
Octubre 2013  
Querétaro, Qro.,  
México



# Universidad Autónoma de Querétaro

## Facultad de Ciencias Naturales

### Maestría en Recursos Bióticos

**"BIOLOGÍA REPRODUCTIVA Y SÍNDROME DE POLINIZACIÓN DE TRES ESPECIES SIMPÁTRICAS DE *CESTRUM* (SOLANACEAE)"**

Tesis

Que como parte de los requisitos para obtener el grado de  
Maestro en Ciencias - Recursos Bióticos

Presenta:  
**OLIVA RAMÍREZ SEGURA**

Dirigido por:  
**DRA. MAHINDA MARTÍNEZ Y DÍAZ DE SALAS**

Sinodales

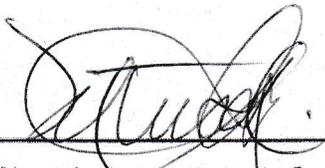
Dra. Mahinda Martínez y Díaz de Salas  
Presidente

Dr. Rubén Pineda López  
Secretario

Dra. María del Coro Arizmendi Arriaga  
Vocal

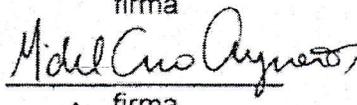
Dr. Juan Carlos Montero Castro  
Suplente

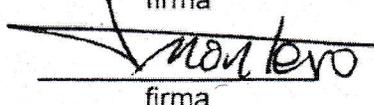
Dr. Israel G. Carrillo A.  
Suplente

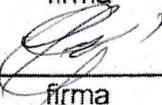
  
\_\_\_\_\_  
Dra. Margarita Teresa de Jesús García Gasca  
Director de la Facultad

  
\_\_\_\_\_  
firma

  
\_\_\_\_\_  
firma

  
\_\_\_\_\_  
firma

  
\_\_\_\_\_  
firma

  
\_\_\_\_\_  
firma

  
\_\_\_\_\_  
Dr. Irineo Torres Pacheco  
Director de Investigación y Posgrado

## RESUMEN

El género *Cestrum* perteneciente a la familia Solanaceae, está dividido en las secciones *Cestrum* y *Habrothamnus*. La investigación acerca de la polinización en el género se ha enfocado a las especies de la primera sección, mientras que para la segunda se ha propuesto a los colibríes como principales polinizadores, sin embargo, son escasas las observaciones en campo que validen esta afirmación. Los objetivos de este trabajo fueron 1) describir la biología reproductiva de *C. oblongifolium*, *C. roseum* y *C. uhdei* (*Habrothamnus*), especies endémicas de México, cercanas filogenéticamente y que crecen simpátricamente en el municipio de Xichú, Guanajuato; 2) enlistar sus visitantes florales y 3) proponer su síndrome de polinización. De cada especie se estudió: 1) fenología, con observaciones en campo a nivel de flor, individuo y población; 2) morfología y anatomía floral, se midieron 14 variables y se hicieron cortes histológicos; 3) néctar, se midió la cosecha en pie (volumen y concentración de azúcar disponible a los visitantes); 4) sistema reproductivo, mediante la relación polen-óvulo (P/O) y experimentos de polinización manual; y 5) los visitantes florales, con observaciones en campo. Las tres especies presentaron anthesis diurna y compartieron floración por cuatro meses (enero a abril). *C. oblongifolium* presentó el mayor despliegue floral. Las flores de las tres especies presentaron filamentos adheridos a la corola, nectarios en la base del ovario con estomas como mecanismo de secreción del néctar y mostraron diferencias significativas en la longitud del tubo floral. El néctar disponible a los visitantes es semejante en las tres especies con cerca de 1  $\mu$ l y está relativamente concentrado (29.7-43%). La relación (P/O) en las tres especies mostró valores correspondientes a xenogamia y los experimentos de polinización confirmaron que sólo se producen frutos bajo polinización cruzada lo que denota la importancia de los polinizadores para estas especies. Los visitantes florales más frecuentes fueron diez especies de mariposas diurnas y ocasionalmente se observó a tres especies de colibríes. Se propone psicofilia como síndrome de polinización y a los colibríes como polinizadores secundarios y robadores de néctar.

**(Palabras clave:** *Habrothamnus*, *Cestrum*, biología reproductiva, psicofilia)

## ABSTRACT

The genus *Cestrum* which belongs to the Solanaceae family is divided in two sections: *Cestrum* and *Habrothamnus*. Research on pollination in this genus has focused on the species of the former section. For the latter hummingbirds have been proposed as the main pollinators, however, there are few field observations to validate this affirmation. The aim of this work is to describe the reproductive biology of *C. oblongifolium*, *C. roseum* and *C. uhdei* (*Habrothamnus*), endemic to Mexico, phylogenetically close and growing sympatrically in the township of Xichú, Guanajuato, as well as list their floral visitors and propose its pollination syndrome. For each species the following characters were studied: 1) phenology, with field observations at flower, individual and population levels; 2) floral morphology and anatomy, 14 variables were measured and histological sections were made; 3) nectar, standing crop (volume and concentration of sugar available to visitors) was measured; 4) reproductive system, using the pollen-ovule ratio (P/O) and hand pollination experiments; and 5) floral visitors, with field observations. The three species had diurnal anthesis and flowering shared by four months (january to april). *C. oblongifolium* had the highest floral display. Flowers of the three species had filaments attached to the corolla, nectarines in the base of the ovary with stomata as nectar secretion mechanism, and showed significant differences in the length of the flower tube. The nectar available to visitors is similar in all three species with about 1  $\mu$ l and is relatively concentrated (29.7 – 43.0%). The P/O ratio in the three species showed values for xenogamy and pollination experiments confirmed that fruits are only produced under cross-pollinated, which denotes the importance of pollinators for these species. The most common flower visitors were ten species of butterflies and occasionally three species of hummingbirds. Psychophily is proposed as the pollination syndrome and hummingbirds as secondary pollinators and nectar robbers.

**(Key words:** *Habrothamnus*, *Cestrum*, reproductive biology, psychophily)

**A Alejandro**

**A mi hermano Abraham**

## AGRADECIMIENTOS

A la Universidad Autónoma de Querétaro, por mi formación académica. A mis maestros de la Licenciatura en Biología y de la Maestría, en especial a la M. en C. Maricela Gómez Sánchez, a la Dra. Mahinda Martínez y el Dr. Luis Hernández Sandoval por mostrarme que las plantas son organismos fascinantes.

A la Dra. Mahinda Martínez quien me dio su apoyo en todo momento para llevar a cabo esta tesis. Gracias por todo el conocimiento y apoyo que me ha otorgado, por su dedicación y paciencia, por lo mucho que ha hecho en mi formación académica y personal.

Agradezco al Dr. Rubén Pineda por brindarme su apoyo y tiempo para llevar a cabo este trabajo, a la Dra. María del Coro Arizmendi por sus valiosos comentarios que me ayudaron a mejorar mi trabajo, al Dr. Juan Carlos Montero Castro, por sus comentarios y ayuda en la determinación de las especies de *Cestrum* estudiadas, en particular *C. uhdei* y al Dr. Israel G. Carrillo por sus observaciones que me ayudaron a mejorar el escrito final de la tesis.

Al Biól. Alejandro Reyes De la Torre por su invaluable ayuda con el trabajo de campo.

Agradezco al CONACYT por la beca (26192) otorgada para llevar a cabo esta tesis y por la beca mixta (290748) que me permitió hacer una estancia académica nacional. Al CONCYTEQ por los apoyos otorgados para la difusión de este trabajo en dos congresos nacionales.

Al Dr. Robert Jones, director de la Maestría en Recursos Bióticos y a la Dra. Teresa García Gasca, directora de la Facultad de Ciencias Naturales por brindarme su apoyo.

Al Biól. Aldo Téllez por su ayuda en la identificación de las especies de *Drosophila*. A la técnico Lucia Tovar por su asistencia en la obtención de las imágenes del MEB.

Un agradecimiento muy especial al Dr. Enrique Arturo Cantoral Uriza quien me apoyó parcialmente en el financiamiento de las salidas de campo.

# ÍNDICE

	Página
Resumen	i
Abstract	ii
Dedicatorias	iii
Agradecimientos	iv
Índice	v
Índice de Tablas	vi
Índice de Figuras	vii
I. INTRODUCCIÓN	1
II. ANTECEDENTES	2
Grupo de estudio	2
Especies de estudio	3
Síndromes de polinización en <i>Cestrum</i>	8
<i>Drosophila</i> y su interacción con las flores de <i>Cestrum</i>	10
Biología reproductiva de <i>Cestrum</i>	10
Morfología y anatomía floral de <i>Cestrum</i>	11
Néctar de <i>Cestrum</i>	13
III. HIPÓTESIS	16
IV. OBJETIVOS	17
V. METODOLOGÍA	18
Sitio de estudio	18
Fenología	19
Morfología y anatomía floral	20
Néctar	22
Sistema de apareamiento	23
Visitantes florales	25
VI. RESULTADOS	26
Fenología	26
Morfología floral y anatomía floral	32
Néctar	47
Sistema de apareamiento	49
Visitantes florales	53
VII. DISCUSIÓN	61
VIII. CONCLUSIONES	74
LITERATURA CITADA	75
APÉNDICE	84

## ÍNDICE DE TABLAS

<b>Tabla</b>		<b>Página</b>
1	Criterios para medir la floración a nivel de población (Dafni, 1992).	20
2	Tratamientos para evaluar el sistema de entrecruza de <i>C. oblongifolium</i> , <i>C. roseum</i> y <i>C. uhdei</i> .	24
3	Media de los caracteres morfológicos de la flor (mm) ± error estándar de la media.	35
4	Relación polen/óvulo (P/O) de <i>C. oblongifolium</i> , <i>C. roseum</i> y <i>C. uhdei</i> .	49
5	Porcentaje de frutos producidos en los experimentos de polinización controlada.	50
6	Visitantes florales de <i>C. oblongifolium</i> (Co), <i>C. roseum</i> (Cr) y <i>C. uhdei</i> (Cu) en la localidad de Charco Azul.	54

## ÍNDICE DE FIGURAS

Figura		Página
1	Especies de estudio. A. <i>Cestrum oblongifolium</i> . B. <i>Cestrum roseum</i> . C. <i>Cestrum uhdei</i> .	4
2	Distribución de <i>C. oblongifolium</i> , <i>C. roseum</i> y <i>C. uhdei</i> con base en colectas de herbario (ver Apéndice).	6
3	Filogenia de las especies de <i>Cestrum</i> . Las especies en itálicas negritas pertenecen a la sección <i>Habrothamnus</i> , las especies de la sección <i>Cestrum</i> se muestran en itálicas (Tomada de Montero-Castro <i>et al.</i> , 2006). Nótese la posición de <i>C. oblongifolium</i> y <i>C. roseum</i> (flecha ancha).	7
4	Sitio de estudio. Charco Azul se localiza en el municipio de Xichú, al norte del estado de Guanajuato.	18
5	Se ilustra el tamaño de los botones y tipos de flores que se usaron para probar la receptividad del estigma, verificar presencia de néctar y dehiscencia de las anteras. A-B. Botones florales de <i>C. roseum</i> . C. Flor recién abierta de <i>C. roseum</i> . D. Flor de <i>C. uhdei</i> en proceso de marchitamiento. Escala en mm.	19
6	Flor de <i>C. roseum</i> . Variables morfológicas que fueron medidas en las flores de las especies de estudio. a= longitud del cáliz, b, c= ancho y longitud de los lóbulos del cáliz, d= longitud del tubo floral, e= diámetro de la corola, f, g = longitud y ancho de los lóbulos de la corola, h = longitud del filamento, i, j = longitud y ancho de la antera, k= diámetro del estigma, l = longitud del estilo, m= diámetro del ovario, n= distancia antera-estigma.	22
7	Desdoblamiento de los lóbulos durante la apertura de la flor. A-C. Flores de <i>C. oblongifolium</i> . D-F. Flores de <i>C. roseum</i> . G-I. Flores de <i>C. uhdei</i> .	27
8	Dehiscencia de las anteras y receptividad del estigma. A-B. Flor de <i>C. roseum</i> (A) y de <i>C. uhdei</i> , se observan las anteras abriendo a diferentes tiempos. C. Flor de <i>C. roseum</i> , apariencia húmeda del	27

	estigma.	
9	Media de inflorescencias que presentaron los individuos de <i>C. oblongifolium</i> (amarillo), <i>C. roseum</i> (rosa) y <i>C. uhdei</i> (anaranjado) durante el periodo de floración. Las barras representan el error estándar de la media.	28
10	Número de flores producidas por inflorescencia en <i>C. oblongifolium</i> (Co), <i>C. roseum</i> (Cr) y <i>C. uhdei</i> (Cu) (*P<0.05). Las barras representan el error estándar de la media.	28
11	Fenología a nivel poblacional de <i>C. oblongifolium</i> (Co), <i>C. roseum</i> (Cr) y <i>C. uhdei</i> (Cu) en Charco Azul, Xichú. n= número total de individuos de cada especie.	30
12	Fenología floral a nivel nacional de <i>C. oblongifolium</i> , <i>C. roseum</i> y <i>C. uhdei</i> con base a ejemplares de herbario (el eje Y se refiere al número de ejemplares que presentaron flor).	31
13	Frutos inmaduros y maduros de las especies de estudio. A, B. <i>Cestrum oblongifolium</i> , C, D. <i>C. roseum</i> y E, F. <i>C. uhdei</i> .	32
14	Algunas de las variaciones morfológicas en las flores de <i>Cestrum</i> . A, B. Flores de <i>C. oblongifolium</i> con cuatro y seis lóbulos de la corola respectivamente. C, D. Flores de <i>C. roseum</i> con seis y siete lóbulos del tubo floral. E, F. Flores de <i>C. uhdei</i> con cuatro y seis lóbulos. G. Dos flores de <i>C. roseum</i> desarrollándose en el mismo cáliz (flecha). H. Dos frutos de <i>C. roseum</i> desarrollándose en el mismo cáliz.	33
15	Perianto. A. Sépalo de <i>Cestrum uhdei</i> . B. Pétalo de <i>C. uhdei</i> . C. Detalle de los lóbulos de la corola de <i>C. roseum</i> . ep = epidermis, epp = epidermis papilosa, m = mesófilo, tr = tricoma, la flecha señala los engrosamientos helicoidales del xilema.	38
16	Estambre. A. Sección longitudinal de un botón de <i>Cestrum roseum</i> , se muestran los estambres unidos a la corola por el filamento. B. Detalle del punto de inserción del filamento a la corola de <i>C. uhdei</i> . co =	38

- corola, ep = epidermis, pa = parénquima, pi = punto de inserción.
- 17 Filamentos. A. Filamentos de *Cestrum uhdei*, punto de unión a la corola, se observan los tricomas multicelulares. B. Detalle de un filamento de *C. uhdei*. C-D. Detalle de los tricomas del filamento en *C. oblongifolium* y *C. roseum* respectivamente. 39
- 18 Antera. A. Sección longitudinal de antera de *Cestrum oblongifolium*. B. Sección longitudinal de antera de *C. roseum*. C. Sección transversal de antera de *C. roseum*. D. Detalle de la antera de *C. roseum*, se muestra el estomio (flecha). E. Sección longitudinal de antera de *C. uhdei*. F. Detalle de la antera de *C. uhdei*, se muestra la epidermis papilosa y endotecio. co = conectivo, en = endotecio, hv = haz vascular, p = polen, rt = remanentes del tapetum, t = teca. Flecha ancha = engrosamiento helicoidal del xilema. 40
- 19 Antera vista al MEB. A. Antera de *Cestrum oblongifolium*, se observa la dehiscencia longitudinal, lateral. B. Detalle de la superficie de la antera de *C. oblongifolium*. C. Anteras de *C. roseum*, se muestra la epidermis papilosa y dehiscencia longitudinal. D. Papilas de la antera de *C. roseum*. E. Superficie de la antera de *C. uhdei*. F. Detalle de la epidermis papilosa de la antera de *C. uhdei*. 41
- 20 Polen visto al microscopio óptico. A-C. *C. oblongifolium*. D-F. *C. roseum*. G-I. *C. uhdei*. A, D, G. Vista polar. B, E, H. Corte óptico a nivel de la exina, se observa el ámbito circular. C, F, I. Vista ecuatorial, (escala = 10  $\mu$ m). 42
- 21 Polen de *C. oblongifolium*, *C. roseum* y *C. uhdei*, imágenes del MEB. A-C. Polen de *C. oblongifolium*. D-F. Polen de *C. roseum*. G-I. Polen de *C. uhdei*. A, D y G. Vista polar, se observan las tres aperturas. B, E y H. Apertura en vista ecuatorial. C, F e I. Detalle de la ornamentación rugulada, se observa la membrana granulosa del colpo (flecha). 43
- 22 Estigma y estilo. A. Sección longitudinal del estigma de *Cestrum oblongifolium*. B. Sección longitudinal del estigma de *C. roseum*. C. Sección longitudinal del 44

	estigma de <i>C. uhdei</i> . D. Sección transversal del estilo de <i>C. roseum</i> . epp = epidermis papilosa, hv = haz vascular, pa = parénquima, tt = tejido de transición.	
23	Estigma y estilo, vistos al MEB. A. Superficie del estigma de <i>C. oblongifolium</i> . B. Papilas del estigma de <i>C. oblongifolium</i> . C. Vista de la superficie del estigma de <i>C. uhdei</i> , se observa la secreción del estigma. D. Detalle del estigma de <i>C. uhdei</i> . E. Sección transversal del estilo de <i>C. roseum</i> . I. Estilo y estigma de <i>C. uhdei</i> . F. Detalle de la superficie del estilo de <i>C. uhdei</i> .	45
24	Ovario y nectario. A. Sección longitudinal de ovario de <i>C. oblongifolium</i> . B. Sección longitudinal del ovario de <i>C. roseum</i> . C. Detalle del nectario de <i>C. roseum</i> , se señala un estoma por el que es secretado el néctar. D. Sección longitudinal del ovario de <i>C. uhdei</i> . n = nectario	46
25	Nectario visto al MEB. A. Ovario y nectario de <i>Cestrum roseum</i> . B. Epidermis del nectario de <i>C. roseum</i> mostrando la posición de los estomas (flechas). C-D. Detalle de los estomas del nectario de <i>C. roseum</i> y <i>C. uhdei</i> respectivamente.	47
26	Volumen (A) y concentración (B) del néctar disponible a los visitantes (cosecha en pie) de <i>C. oblongifolium</i> , <i>C. roseum</i> y <i>C. uhdei</i> , (*P<0.05). La barra representa una desviación estándar de la media.	48
27	Producción de frutos por infrutescencia. Co= <i>Cestrum oblongifolium</i> , Cr= <i>C. roseum</i> , Cu= <i>C. uhdei</i> . Las barras representan el error estándar de la media (*P<0.05).	51
28	Semillas. A. Semillas maduras y abortadas de un fruto de <i>C. oblongifolium</i> , nótese la diferencia en su tamaño. Semilla de <i>C. roseum</i> , se muestra el resultado de la prueba con azul Evans, con la cual los tejidos muertos o dañados se tiñen de azul, mientras que las células vivas permanecen sin colorearse. Se observa el embrión sin teñir indicando que es tejido vivo.	52
29	Media de óvulos por flor y semillas totales, maduras y	52

abortadas por fruto. Co= *Cestrum oblongifolium*, Cr= *C. roseum*, Cu= *C. uhdei*. Las barras representan el error estándar de la media. + = Diferencias significativas en el número de óvulos entre *C. roseum* y *C. uhdei* (P<0.05). \* = Diferencias significativas en el número de semillas maduras de *C. roseum* (P<0.05). ++ = Diferencias significativas en el número de semillas abortadas por fruto entre *C. oblongifolium* y *C. roseum* (P<0.05).

- 30 Especies de mariposas que visitaron las flores de *Cestrum*. A. *Battus philenor*. B. *Anteos clorinde*. C. *Phoebis* sp. D. *Zerene cesonia*. E-F. *Catantix nimbice*. G-H. *Dione moneta*. I. *Urbanus proteus*. J. *Phocides urania*. K. *Papilio multicaudata*. Las flechas señalan la carga polínica. 55-56
- 31 Carga polínica en tres mariposas visitantes. A. Cabeza de *D. moneta*, la carga polínica es llevada en la probóscide. B. Detalle de la probóscide de *D. moneta* donde se aprecia el polen de *Cestrum*. C-D. Probóscide de *U. proteus*, se observa la carga de polen. E. Detalle de la probóscide de *U. proteus*, en su mayoría lleva granos de polen de *Cestrum* y algunos granos de Asteraceae (flecha). F. Cabeza y probóscide de *C. nimbice*. G. Detalle de la probóscide de *C. nimbice* con sólo un par de granos de polen de Asteraceae. 57-58
- 32 *Hylocharis leucotis*. A. Visitando flores de *C. oblongifolium* y *C. roseum*. B. Alimentándose de insectos de la corteza de los árboles. 58
- 33 *Drosophila* hallada en las flores de *Cestrum*. A. Larva (flecha) de *Drosophila* en una flor de *C. oblongifolium*. B. Pupa de *Drosophila* hallada en una flor de *C. oblongifolium*. C. *Drosophila ananassae* encontrada en las flores de *C. oblongifolium*. D. *D. ananassae* visitó flores de *C. roseum* (escalas en mm). 60
- 34 Otros organismos que mostraron interacción con las especies de *Cestrum*. A. Hormigas del género *Liometopum*. B. Avispa *Polybia*? C. Díptero. D. Trip (Thysanoptera) en una flor de *C. uhdei*, también se encontraron en flores de *C. oblongifolium* y *C.* 60

*roseum*. E. Homóptero en el cáliz de *C. roseum*. F.  
Coleóptero.

## I. INTRODUCCIÓN

México es uno de los sitios de mayor diversidad y endemismo de *Cestrum* (Nee, 2001), un género de solanáceas conocidas como “huele de noche” de las cuales se sabe poco sobre su biología reproductiva y polinización. Los estudios en dicha materia dentro del género *Cestrum* se han enfocado a las especies que presentan flores blancas o verdosas, en particular a las que se distribuyen en Centroamérica, las cuales son visitadas por mariposas nocturnas (Haber y Frankie, 1989; Castro-Laportte y Ruíz-Zapata, 2000a), sin embargo, de las especies de *Cestrum* con flores rojas o amarillas y en especial de las que se encuentran en México se desconoce a sus polinizadores, fenología y biología floral.

Se estudia a *Cestrum oblongifolium* Schltd., *Cestrum roseum* Kunth, especies endémicas de México (Nee, 2001) y *Cestrum uhdei* Dammer ex Francey, endémica del centro de México, debido al vacío de conocimiento sobre su biología reproductiva y a la necesidad de tener mayor información que valide las propuestas de organismos polinizadores. Dichas especies crecen de forma simpátrica en al menos una población de Guanajuato lo que representa una oportunidad para observar las estrategias de reproducción y atracción de polinizadores en competencia interespecífica. En este trabajo se analizaron características morfológicas y ecológicas que aportaron información sobre su síndrome de polinización y contribuye al conocimiento de su biología reproductiva.

## II. ANTECEDENTES

### Grupo de estudio

La familia Solanaceae es una de las familias de plantas más grandes con 96 géneros y cerca de 2300 especies (D'Arcy, 1991). *Cestrum* es el segundo género más diverso de la familia (Nee, 2001), con 150 a 250 especies distribuidas en América (D'Arcy, 1999; Nee, 2001). Varias de las especies del género *Cestrum* presentan compuestos con actividad antibiótica, antifúngica y pesticida (Bhattacharjee *et al.*, 2005; Hernández-Albíter *et al.*, 2007, Ikbál *et al.*, 2007; Barrera-Necha y Bautista-Baños, 2008; Reza *et al.*, 2010; Khan *et al.*, 2011; Patil *et al.*, 2011), algunas son tóxicas para el ganado (Cid *et al.*, 2003; Henrique Furlan *et al.*, 2008), son utilizadas en la medicina tradicional (Martín, 1983; Nee, 1986; Andrade-Cetto, 2008; Giovannini y Heinrich, 2009; Alonso-Castro *et al.*, 2012) y recientemente se ha demostrado que presentan compuestos con acción espermatocida (Chenni *et al.*, 2011). Además, son usadas como plantas de ornato, principalmente las especies de flores rojas (Nee, 1986) y se ha visto que bajo condiciones de cultivo algunas especies pueden llegar a formar híbridos (Griesel, 1966; Nee, 2001; Cullen *et al.*, 2011).

El género *Cestrum* está dividido en las secciones *Cestrum* Schltld., con 229 especies (Francey, 1935) que se caracteriza por tener flores con fragancia, polinizadas por mariposas nocturnas, y *Habrothamnus* (Endl.) Schltld., con 28 especies (Francey, 1935) de flores diurnas inodoras y de colores brillantes (Nee, 1986). De las especies de la sección *Habrothamnus* no se conoce a sus polinizadores y se ha propuesto que son colibríes (D'Arcy, 1999), sin embargo, no se cuenta con observaciones que confirmen dicha propuesta. Todas las especies de la sección *Habrothamnus* están restringidas a las montañas del centro de México y Centroamérica, entre los 1000-2500 msnm (Montero-Castro *et al.*, 2006). El centro de México es una de las regiones de mayor diversidad y endemismo del género, con cerca de 14 especies endémicas (Nee, 2001), la mayoría de ellas de flores amarillas, entre ellas *C. oblongifolium* y sólo cuatro presentan flores rojas,

*Cestrum elegans* (Brongn.) Schltld., *Cestrum endlicheri* Miers, *Cestrum fasciculatum* (Schltld.) Miers y *C. roseum* (D'Arcy, 1999).

### **Especies de estudio**

*Cestrum oblongifolium* (Figura 1A), es una especie arbustiva de 2 a 3.5 m de altura, con inflorescencias axilares racemosas con 5 a 10 flores. La flor es sésil, el cáliz es verde con venación conspicua en el exterior de color verde oscuro, internamente pubérulo, de 3.5 a 4 mm de largo, la corola es amarillo oscura o anaranjado amarillenta opaca, de 1.8 a 2.2 cm de longitud, angosta en la parte basal, glabra, lóbulos triangulares a ovados de 3.5 a 4 mm de largo y 2 a 3 mm de ancho, puberulentos en el margen; los filamentos están insertos en la parte media del tubo, geniculados, de 5 a 6 mm de largo en su parte libre, glabros, las anteras son redondeadas, el ovario es glabro con 10 a 16 óvulos, el estilo es de 2 mm de longitud y el estigma es verde, capitado. El fruto es una baya blanca ovoide o globosa de 1 cm de largo con 5 semillas. Florece de diciembre a abril (Nee, 1986; Pérez-Hernández, 2001).

*Cestrum roseum* (Figura 1B), es un arbusto de hasta 2 m con inflorescencias fasciculadas formadas por 4 a 10 flores. La flor presenta cáliz verde o verde con guinda, cilíndrico, tomentoso interna y externamente de 0.9 a 1.4 cm de longitud; la corola es de color rosado o guinda de 2 a 2.8 cm de longitud, infundibuliforme, lóbulos triangulares a lanceolados de 4.5 a 7 mm de longitud, glabra a pilosa o tomentosa; los filamentos están adheridos a la corola en sus primeros 1 a 1.3 cm, en esta parte son pubescentes, después geniculados y de 7 a 8 mm de longitud libre; anteras glandulosas; ovario globoso con 12 a 20 óvulos, sobre un disco glanduloso, estilo un poco más largo que los estambres; estigma capitado, papiloso, poco exerto. El fruto es una baya morada o negra, globosa a ovalada con 5 a 6 semillas maduras (Pérez-Hernández, 2001).

*Cestrum uhdei* (Figura 1C), es una especie arbustiva con inflorescencias fasciculadas de 3-6 flores. Las flores son sésiles con cáliz verde a púrpura de 7 mm de longitud, glabro; corola infundibuliforme de 24 mm de longitud, de color amarillo-anaranjado a rojizo (y en ejemplares secos se ven púrpuras, obs. pers.; el cual es el color que Francey (1935) usa en su descripción original), glabra, con lóbulos triangulares de 6 mm de largo tomentosos en los márgenes; filamentos de 6.5 mm de longitud en su parte libre, anteras redondeadas de 1 mm de diámetro, ovario ovoide con 12 óvulos, disco obcónico; estilo de 15.5 mm de largo, estigma capitado, exerto. El fruto es una baya de 6.5 mm de largo con 8 semillas maduras (Francey, 1935).



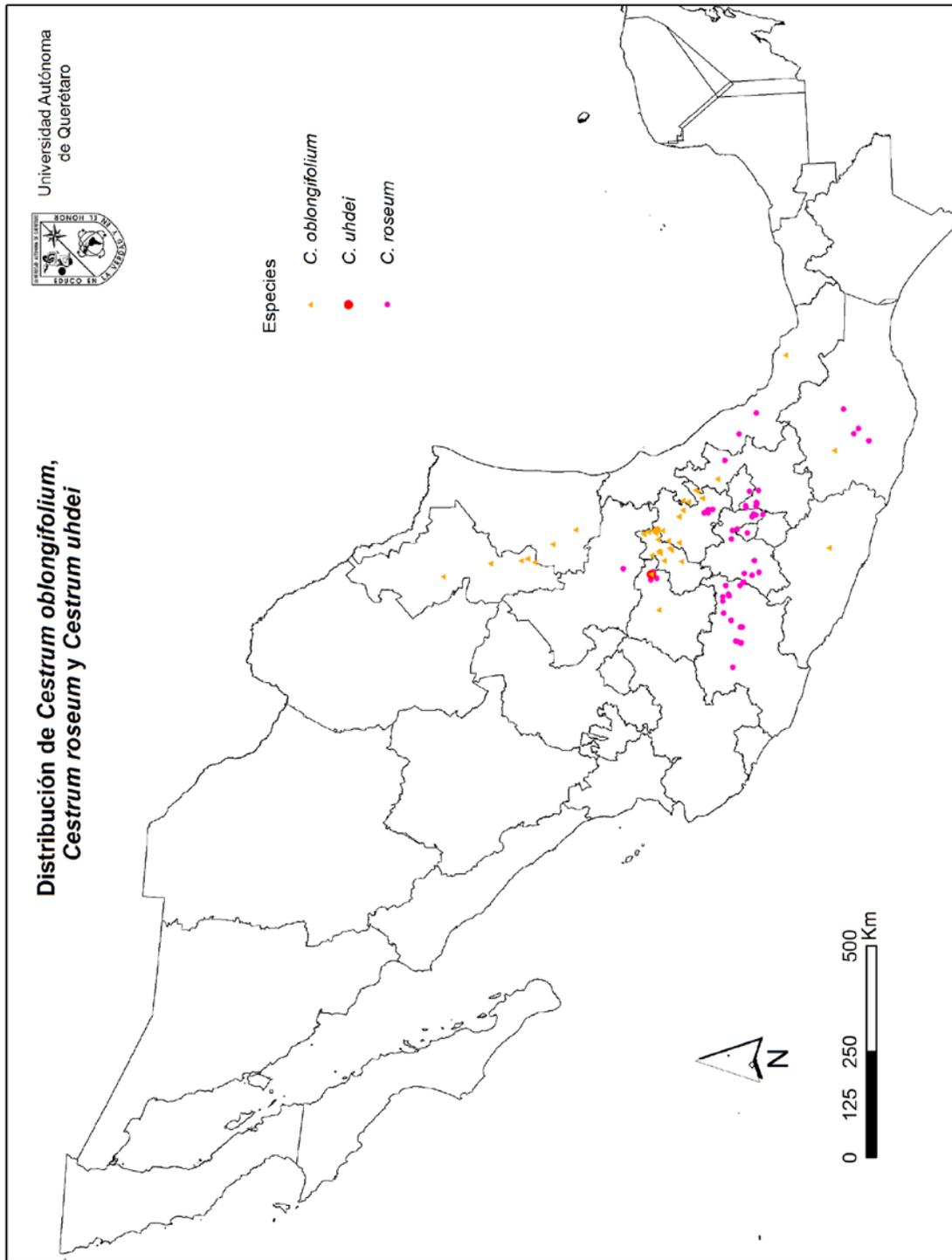
**Figura 1.** Especies de estudio. A. *Cestrum oblongifolium*. B. *Cestrum roseum*. C. *Cestrum uhdei*

De acuerdo a las colectas depositadas en los herbarios nacionales ENCB, IEB, MEXU, QMEX y XAL (ver Apéndice), *Cestrum oblongifolium* se distribuye desde el norte del país en Nuevo León y Tamaulipas, en la parte centro en Querétaro, Hidalgo, Guanajuato, Puebla, hasta el sur en Guerrero, Veracruz y Oaxaca; *C. roseum* se encuentra principalmente en el Eje Neovolcánico Transversal en los estados de Michoacán, Estado de México, Distrito Federal, Hidalgo, Guanajuato, Puebla, Tlaxcala, Veracruz, al norte en San Luis Potosí y al sur en Oaxaca. Además, *C. roseum* fue introducida a Europa como especie ornamental desde el siglo XIX (Nee, 1986). *C. uhdei* tiene una distribución restringida, encontrándose sólo al norte del estado de Guanajuato en el municipio

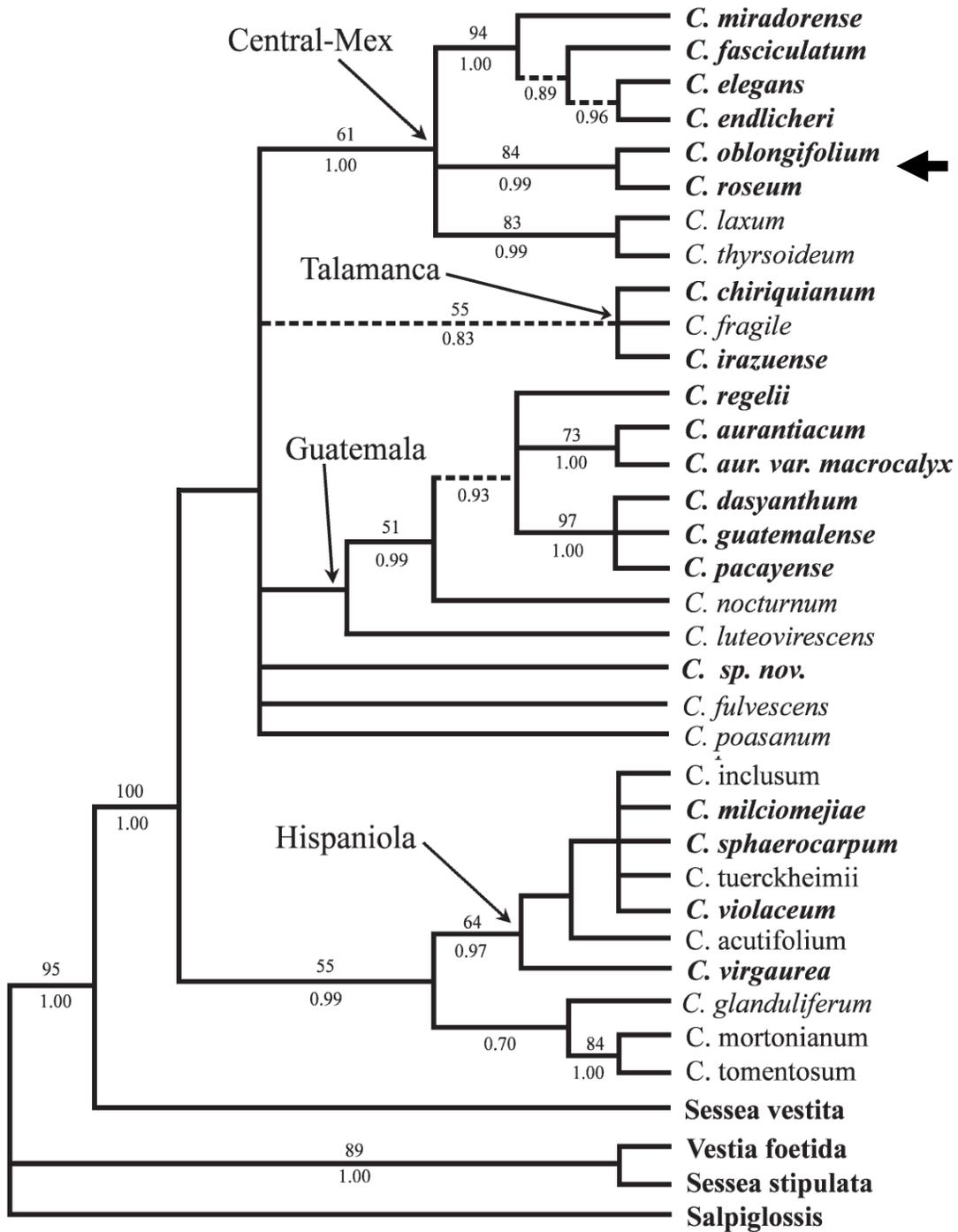
de Xichú (Figura 2, ver Apéndice), aunque el ejemplar tipo fue colectado en Angangueo, Michoacán (Francey, 1935).

*Cestrum oblongifolium* se encuentra en bosque caducifolio, encinar y bosque de pino-encino. *C. roseum* habita en los bosques mesófilo de montaña, de *Pinus*, de *Abies*, de *Quercus* y en bosque mixto y se encuentra preferentemente en áreas perturbadas (Pérez-Hernández, 2001). *C. uhdei* habita en bosque de pino-encino. Las tres especies que se estudian tienen una distribución restringida a sitios altos, *C. oblongifolium* se encuentra de los 1800 a 2300 msnm, *C. roseum* de los 1760 a 3500 msnm y *C. uhdei* de 2250 a 2500 msnm.

*Cestrum oblongifolium* y *C. roseum* son especies cercanas filogenéticamente (ver Figura 3, Montero-Castro *et al.*, 2006). *C. uhdei* descrita por Francey (1935), es una especie escasamente colectada (ver Apéndice) y se conoce poco sobre su distribución y biología. Las tres especies mencionadas crecen simpátricamente en un bosque de pino-encino en Guanajuato, México (Figuras 2 y 4).



**Figura 2.** Distribución de *Cestrum oblongifolium*, *C. roseum* y *C. uhdei* con base en colectas de herbario (ver Apéndice).



**Figura 3.** Filogenia de las especies de *Cestrum*. Las especies en itálicas negritas pertenecen a la sección *Habrothamnus*, las especies de la sección *Cestrum* se muestran en itálicas (Tomada de Montero-Castro *et al.*, 2006). Nótese la posición de *C. oblongifolium* y *C. roseum* (flecha ancha).

## **Síndromes de polinización en *Cestrum***

Un síndrome de polinización es un conjunto de rasgos florales, incluyendo recompensas, asociadas con la atracción y utilización de un grupo específico (grupo funcional, o grupo de visitantes que ejerce la misma presión selectiva) de animales como polinizadores (Fenster *et al.*, 2004). Así por ejemplo, el síndrome de polinización ornitofilia (polinización por colibríes) abarca flores vistosas con colores contrastantes con el medio (generalmente rojas), tubulares, diurnas, sin olor, con néctar diluido y rico en sacarosa (Stiles, 1976; Stiles, 1981).

Los trabajos sobre polinización en *Cestrum* se han enfocado a las especies de la sección homónima, de flores nocturnas, blanco-verdosas, fragantes y que son polinizadas por mariposas nocturnas. Overland (1960) estudió la producción de fragancia en *Cestrum nocturnum* L. e identificó que es polinizada por insectos nocturnos atraídos por el olor. Bawa *et al.*, (1985) observaron que las flores de *Cestrum megalophyllum* Dunal son nocturnas y proponen como sus polinizadores a esfíngidos. Haber y Frankie (1989) estudiaron a *Cestrum alternifolium* (Jacq.) O.E. Schulz, *C. nocturnum* y *Cestrum scandens* Thib. ex Dunal, las cuales fueron visitadas por 14 especies de esfíngidos. Castro-Laportte y Ruíz-Zapata (2000a) estudiaron la biología floral y síndrome de polinización de cinco especies de *Cestrum* de Venezuela con floración nocturna y producción de fragancia, las cuales fueron visitadas por 19 especies de mariposas nocturnas de las familias Artidae, Crambidae, Geometridae y Noctuidae, y debido a que las flores son nocturnas, tubulares de color verde, pequeñas (menos de 3 cm) y a que no fueron visitadas por mariposas de la familia Sphingidae, las autoras sugieren que el síndrome de polinización para estas especies es falenofilia. Por lo anterior, las especies de *Cestrum* con floración nocturna presentan dos síndromes de polinización: esfingofilia y falenofilia. Sin embargo, se sabe poco del síndrome de polinización de las especies con floración diurna (sección *Habrothamnus*).

D'Arcy (1999) basado en 1) caracteres de la morfología floral (e.g. cáliz grande y engrosado para evitar robo de néctar), 2) la coincidencia espacio-

temporal entre la ruta migratoria de *Selasphorus rufus* y *Archilochus colubris* y la distribución y fenología de las especies de la sección *Habrothamnus*, 3) la preferencia de estas aves por flores de color rojo para la toma de néctar, y 4) evidencia de altas concentraciones de sacarosa en el néctar de *C. elegans*, propuso que las especies de la sección *Habrothamnus* en México son polinizadas por colibríes y evolucionaron bajo presión de selección de *S. rufus* y *A. colubris*.

Algunas observaciones de campo apoyan lo propuesto por D'Arcy. Montero-Castro (2006) reportó que las especies *Cestrum elegans*, *C. endlicheri* y *C. fasciculatum* de flores rojas fueron visitadas por colibríes (uno fue identificado como *Atthis ellioti*) al igual que las especies *Cestrum aurantiacum* Lindl. y *C. oblongifolium* de flores amarillas. Arizmendi (2001), menciona la visita de las especies de colibríes *Eugenes fulgens*, *Hylocharis leucotis*, *Selasphorus platycercus* y *S. rufus* a una especie de *Cestrum* de flores amarillas. Díaz-Valenzuela y Ortiz-Pulido (2011) observaron vistas de *H. leucotis* a flores de *C. roseum* en el estado de Hidalgo. Estas observaciones son valiosas como un precedente de lo que se puede observar en campo, sin embargo, ninguno de estos trabajos estaba enfocado a la polinización de *Cestrum*. Además, se ha indicado que algunas especies de *Cestrum* son polinizadas por insectos y colibríes, tal es el caso de *Cestrum potaliifolium* Dunal que presenta floración nocturna y en el último día de la floración la flor cambia de color y permanece abierta más horas, lo que permite que sea visitada por colibríes en las primeras horas de la mañana (Castro-Laportte y Ruíz-Zapata, 2000a; Arizmendi, 2001). Montero-Castro (2006) observó que *Cestrum sotonunezii* Mont.-Castro de flores anaranjadas fue visitada por una mariposa identificada como *Pterourus pilumnus* Boisduval, 1836. Por lo que es necesario considerar a otros organismos como los lepidópteros y a los colibríes residentes (México cuenta con 57 especies de colibríes, Torres y Navarro-Sigüenza, 2000) como polinizadores potenciales.

### ***Drosophila* y su interacción con las flores de *Cestrum***

Algunas especies de moscas del género *Drosophila* utilizan las flores como alimento y sitios de reproducción (Carson, 1971). Estadios pre-adultos de varias especies del género *Drosophila* pertenecientes al grupo *flavopilosa* han sido encontrados viviendo dentro de las flores de especies de *Cestrum* de Sudamérica como *Cestrum parqui*, *C. tomentosum* y *C. intermedium* Sendtn., los cuales se desarrollan dentro de las flores y se alimentan de polen. Se ha señalado que esta relación puede ser altamente específica (Brncic, 1966; Ribeiro-Vilela, 1984; Hunter, 1992; Oliveira dos Santos y Ribeiro-Vilela, 2005).

### **Biología reproductiva de *Cestrum***

Dafni (1992) define el sistema reproductivo de una planta como todos aquellos aspectos de su sexualidad que afecten las contribuciones genéticas relativas a la siguiente generación de individuos dentro de una especie. Las plantas que se reproducen de forma sexual pueden presentar polinización cruzada con otros individuos (xenogamia), entre flores diferentes del mismo individuo (geitonogamia) o autopolinizarse (autogamia). Las plantas con flores hermafroditas tienen diversas estrategias para evitar la autogamia y favorecer la xenogamia tales como la separación espacial (hercogamia) o temporal de los órganos sexuales (dicogamia, en donde las anteras liberan el polen antes de la maduración del estigma –protandria- o el estigma está receptivo antes de la liberación del polen –protoginia-). Además, puede presentarse la reproducción asexual o apomixis que consiste en la producción de semillas a partir de tejidos maternos del óvulo, evitando el proceso de la meiosis y fertilización, lo que lleva al desarrollo del embrión (Dafni, 1992; Richards, 1996; Bicknell y Koltunow, 2004). La polinización no necesariamente implica una fertilización exitosa, hay mecanismos de reconocimiento o rechazo que llevan a la compatibilidad o incompatibilidad (Charlesworth *et al.*, 2005). En estudios de polinización bajo condiciones naturales,

evaluar el sistema reproductivo de un taxa es fundamental para evaluar la dependencia de producción de semillas de la tasa de polinización (Dafni, 1992).

En la familia Solanaceae existen géneros autocompatibles como *Lycium* L. e incompatibles como *Nicotiana* L. y *Solanum* L. (Brewbaker, 1957; Fryxell, 1957). Sobre la biología reproductiva de *Cestrum*, se ha observado que las especies *Cestrum bigibbosum* Pittier., *C. megalophyllum*, *Cestrum microcalix* Francey, *C. potaliifolium* y *Cestrum salicifolium* Jacq, de Venezuela (Castro-Laportte y Ruíz-Zapata, 2000b) y *Cestrum parqui* L'Hér en Argentina (Aguilar y Galetto, 2004) son autoincompatibles y por tanto son xenógamas obligadas. De las cinco especies mencionadas de Venezuela también se estudió su eficiencia reproductiva y se encontró que presentan aborto en etapas tempranas de desarrollo, es decir, hay aborto de óvulos y no se encontraron semillas abortadas (Castro-Laportte y Ruíz-Zapata, 2001). También se han estudiado los efectos de la fragmentación del hábitat en el éxito reproductivo masculino (remoción de polen, carga de polen, y crecimiento del tubo polínico) y femenino (producción de frutos y semillas) de *C. parqui*, encontrándose que en fragmentos pequeños (5-14 ha) su éxito reproductivo es bajo (Aguilar y Galetto, 2004).

### **Morfología y anatomía floral de *Cestrum***

La morfología de la flor es uno de los factores que determina el acceso a las recompensas florales y con ello favorece o restringe a los visitantes, por ejemplo, diferentes longitudes y/o curvaturas de los tubos de la corola pueden afectar la eficiencia de extracción del néctar en las especies de colibríes en relación a la morfología del pico, influyendo en la elección de flor (Stiles, 1981). Las flores de las especies de *Cestrum* de la sección *Habrothamnus* son hermafroditas, pentámeras, pediceladas, y bracteoladas, con el cáliz inflado, la corola es tubular constreñida en el ápice, de colores llamativos rojo-purpura o amarillo (Montero-Castro, 2006). Es necesario ampliar la información sobre caracteres de la

morfología floral de *C. roseum*, *C. oblongifolium* y *C. uhdei* que aporten información para describir su síndrome de polinización.

Otro aspecto que es importante estudiar en dichas especies y que no se ha abordado antes, es la anatomía floral, en especial de los nectarios. Los nectarios son estructuras glandulares multicelulares que pueden presentarse en órganos vegetativos o reproductivos (Nepi, 2007). Son diversos en su estructura, localización y mecanismo de secreción. Las estructuras pueden ser conspicuas o no tener estructura externa visible, pueden estar localizados en la base del ovario, los filamentos, los pétalos o en la superficie de los sépalos y la salida del néctar ocurre por estomas modificados o por tricomas especializados (Pacini y Nicolson, 2007; Heil, 2011). Se ha sugerido que los caracteres morfológicos de los nectarios pueden estar correlacionados con la cantidad (pero no la calidad) del néctar secretado (Galletto y Bernardello, 2004; Nepi, 2007) y como se ha mencionado anteriormente el volumen de néctar es importante para la atracción de polinizadores.

Hasta ahora los trabajos sobre la anatomía de *Cestrum* se han enfocado a las especies de Sudamérica, y en particular a las estructuras vegetativas (Colares *et al.*, 1999; Benítez y Ferrarotto, 2000; Jáuregui *et al.*, 2000; Jáuregui *et al.*, 2001; Liscovsky y Cosa, 2005) y son pocos los estudios que han tratado la anatomía floral e igualmente los que se tienen son sobre especies de Sudamérica. D'Arcy *et al.* (1996) analizaron la anatomía de anteras de solanáceas, entre ellas las de dos especies de *Cestrum* (*C. aurantiacum* y *C. elegans*) que destacaron por la ausencia de paquetes de cristales de oxalato de calcio, los cuales funcionan como recompensa para los polinizadores de acuerdo a dichos autores. Castro-Laporte *et al.* (1999) describieron la anatomía del androceo de cinco especies de *Cestrum* de Venezuela. Carrizo-García (2002) describió la formación de la pared de la antera de *Cestrum lorentzianum* Griseb., una especie de Argentina. Castro Laporte y Galati (2012) estudiaron el desarrollo de la antera y polen de *C. bigibbosum*, especie endémica de Colombia y Venezuela. Hamed y Mourad (2004) describieron la venación del cáliz de *C. parqui*, *C. diurnum* L. y *C. nocturnum*.

El polen de varias especies de *Cestrum* ha sido descrito, el cual es isopolar, de tamaño mediano, tricolporado, con ornamentación estriada o rugulada (en algunas especies perforada-escábrida, verrugosa o lisa) de forma prolato-esferoidal o subprolato (González-Quintero, 1969; Gentry 1986; Polo y Diez 1986; Alvarado, 1990; Silva *et al.*, 2003; Barthe y Duarte, 2008; Castro Laportte y Galati, 2012). Se ha señalado que el polen de *Cestrum* presenta menor variación en su estructura, comparado con el polen de otros géneros de Cestreae como *Nierembergia* y *Nicotiana* (Gentry, 1986). De las especies de *Cestrum* en México se ha estudiado el polen de 15 especies de Veracruz, entre ellas *C. oblongifolium* (Alvarado, 1990), sin embargo, es necesario ampliar la información palinológica sobre otras especies del género.

No se conoce la anatomía de las especies de *Cestrum* que se distribuyen en México y en particular de las que trata este trabajo. Analizar la anatomía floral podría mostrar rasgos que apoyen la caracterización de su síndrome de polinización y ampliar la información sobre su biología floral.

### **Néctar de *Cestrum***

El néctar es una secreción acuosa que se compone de carbohidratos (sacarosa, glucosa y fructosa) aminoácidos, lípidos, iones y moléculas atrayentes y tóxicas (asociados a la resistencia a la herbivoría) que sirve principalmente de recompensa a los polinizadores (es la única ofrecida a las aves, Stiles, 1981; Pacini y Nicolson, 2007). El volumen, concentración, viscosidad, composición de azúcares y aminoácidos son las características del néctar que determinan la elección de flores de los polinizadores (Johnson y Nicolson, 2008; Cronk y Ojeda, 2008). El néctar entonces, resulta importante para sugerir los organismos que podrían visitar a una especie dada, debido a que existen diferencias en la elección de la recompensa.

Las flores polinizadas por insectos generalmente producen poco néctar relativamente concentrado (Hainsworth y Wolf, 1976). Las mariposas prefieren néctar con una concentración del 25% al 40%, con niveles altos de sacarosa y evitan el néctar con glucosa, esto se ha observado en mariposas diurnas de la familia Papilionidae como *Battus philenor* Linneo, 1771, y se ha sugerido que las mariposas prefieren néctar rico en aminoácidos (Boggs, 1988; Erhardt, 1991; Erhardt, 1992). Los colibríes prefieren grandes volúmenes de néctar (aproximadamente 10-30  $\mu$ l) relativamente diluido (aproximadamente 15-25%), alto en sacarosa (40-60% del azúcar total, Baker, 1975; Johnson y Nicolson, 2008; Cronk y Ojeda, 2008). Stiles (1976) propuso que los colibríes eligen la flor de la que se alimentarán con base en una jerarquía de factores, prefieren los parámetros energéticos (volumen de néctar), sobre sabor (composición de azúcares) sobre color. Por lo anterior, conocer las características del néctar de *Cestrum oblongifolium*, *C. roseum* y *C. uhdei* será útil para proponer qué organismos podrían polinizarlas.

Se tienen algunos datos sobre el néctar de las especies de *Cestrum*, por ejemplo el néctar de *Cestrum aurantiacum*, *C. bracteatum* Link et Otto, *C. elegans*, *C. fasciculatum*, *C. newellii* (J.H. Veitch) G. Nicholson y *C. parqui* presenta glucosa, fructosa y sacarosa, este último es el carbohidrato dominante en todos los casos (Percival, 1961; Bahadur *et al.*, 1986; Bernardello *et al.*, 1994; D'Arcy, 1999). La concentración de azúcar del néctar de *Cestrum* es variable. Benítez y D'Arcy (1998) mencionan que ocho especies de *Cestrum* bajo condiciones de invernadero presentaron néctar con 11% a 40% de azúcar. En *C. elegans* (también bajo condiciones de invernadero) la producción de néctar es más abundante en la mañana y tiene 11% a 19% de azúcar (D'Arcy, 1999). El néctar de *C. bracteatum* tiene 9% de azúcar (Bernardello *et al.*, 1994), el de *Cestrum warscewiczii* Klotzsch 16% (Baker, 1975) y el de *C. nocturnum* 20% (Haber y Frankie, 1989). Otros componentes que se han detectado en el néctar de *Cestrum* son aminoácidos, por ejemplo en *C. corymbosum* Schltdl. y *C. fasciculatum* (Gottesberger *et al.*, 1984; Bahadur *et al.*, 1986), y lípidos y fenoles en *C.*

*bracteatum* (Bernardello *et al.*, 1994). Sobre la cantidad de néctar producido, Haber y Frankie (1989) mencionan que las flores de *C. alternifolium* producen 0.04 µl de néctar en promedio e indican que de 26 flores muestreadas sólo 11 contenían néctar. Aunque no proporcionan el volumen exacto, Benítez y D'Arcy (1998) señalan que seis especies de *Cestrum* de Venezuela presentan cantidades indetectables de néctar bajo condiciones de invernadero.

A excepción de *C. aurantiacum*, *C. fasciculatum* y *C. elegans* que se encuentran en México, el resto de las especies mencionadas se distribuyen en Sudamérica, por lo que es necesario ampliar la información sobre el néctar de las especies de *Cestrum* de México como *C. endlicheri*, *Cestrum miradorensis* Francey, *C. oblongifolium*, *C. roseum* y *C. uhdei* de la sección *Habrothamnus*. Parte de la información del néctar de *Cestrum* se ha obtenido de plantas bajo condiciones controladas, sin embargo, es necesario indagar sobre lo que ocurre con esta recompensa en condiciones silvestres. El conocimiento sobre el néctar de *C. oblongifolium*, *C. roseum* y *C. uhdei* permitirá entender mejor su síndrome de polinización.

### III. HIPÓTESIS

- I. Al ser especies cercanamente emparentadas entre sí *C. oblongifolium*, *C. roseum* y *C. uhdei* presentarán biología reproductiva semejante (morfología floral, recompensa, sistema de apareamiento y fenología).
- II. Al tratarse de especies con floración diurna, de flores tubulares con colores contrastantes con el medio, que ofrecen como recompensa néctar, se esperan vistas de colibríes (síndrome ornitofilia).
- III. Si las condiciones anteriores se cumplen y debido a que las tres especies crecen simpátricamente, entonces *C. oblongifolium*, *C. roseum* y *C. uhdei*, compartirán polinizadores.

## IV. OBJETIVOS

### Objetivo general

Describir la biología reproductiva y síndrome de polinización de *Cestrum oblongifolium*, *Cestrum roseum* y *Cestrum uhdei*.

### Objetivos particulares

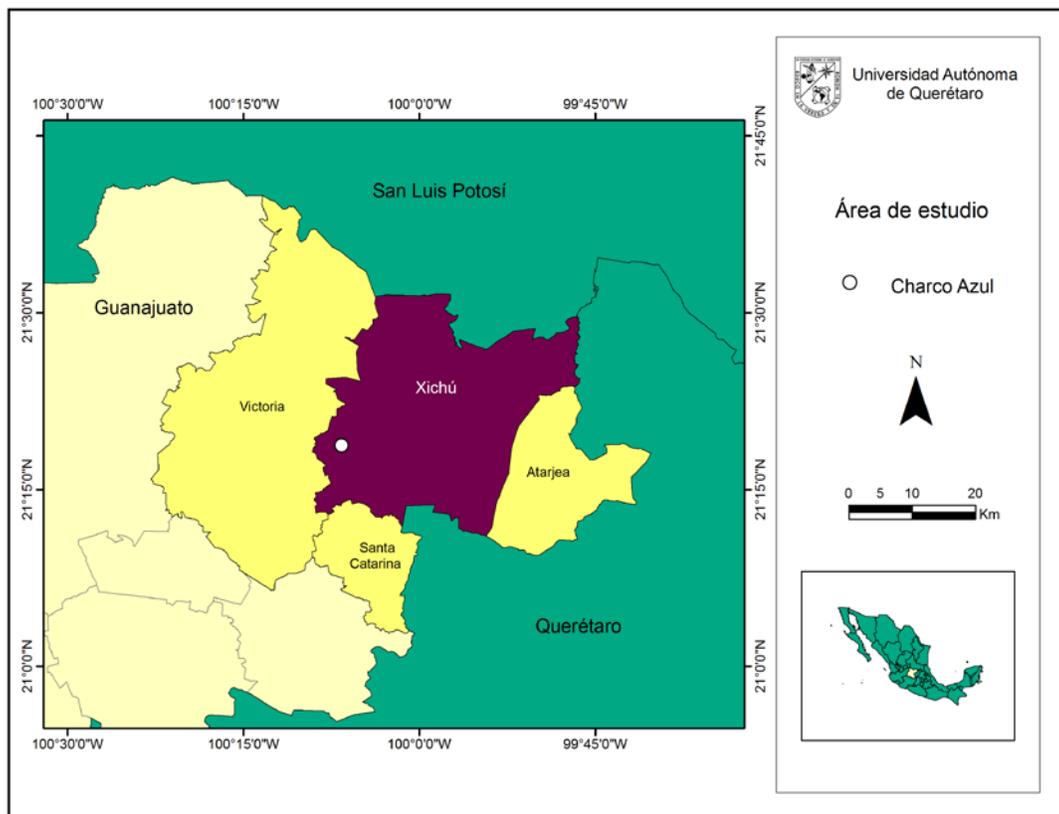
Para las tres especies de *Cestrum* que se estudian en este trabajo:

1. Describir la fenología floral, incluyendo los procesos que ocurren en la flor, el despliegue floral de los individuos y la dinámica de la floración en la población.
2. Describir la morfología y anatomía floral
3. Evaluar la cosecha en pie, es decir, volumen y concentración de néctar disponible a los visitantes florales.
4. Identificar el sistema reproductivo (sistema de entrecruza) y evaluar el éxito reproductivo.
5. Enlistar los visitantes florales

## V. METODOLOGÍA

### Sitio de estudio

El trabajo de campo se llevó a cabo de marzo del 2012 a agosto del 2013 en el sitio de Charco Azul, que se localiza a  $21^{\circ} 18' 45.4''$  N,  $100^{\circ} 06' 39.7''$  O, a 2320 msnm, sobre el kilómetro 40 de la carretera 110 de Guanajuato en la localidad de El Ocotero, municipio de Xichú, Guanajuato (Figura 4). La vegetación de Charco Azul es un bosque de encino, la temperatura media anual registrada para el sitio más cercano (Xichú) es de  $21^{\circ}\text{C}$  con una precipitación media anual de 583 mm (CONAGUA, 2010). Charco Azul es parte de la Reserva de la Sierra Gorda de Guanajuato y es usada como área ecoturística. Los habitantes de la localidad tienen ganado de cabras y ovejas que es transitado con regularidad por los caminos del área.



**Figura 4.** Sitio de estudio. Charco Azul se localiza en el municipio de Xichú, al norte del estado de Guanajuato.

## Fenología floral

El estudio de la fenología floral de *C. oblongifolium*, *C. roseum* y *C. uhdei* incluyó la observación de los eventos que ocurren durante la antesis de la flor, el despliegue floral, es decir, el número de inflorescencias con flores abiertas por individuo y la dinámica de la floración en la población. De forma complementaria se hizo una revisión de 157 ejemplares de herbarios nacionales (IEB, MEXU, QMEX, XAL, ver Apéndice) para obtener un patrón de la fenología de las especies a nivel nacional.

Las observaciones en campo se hicieron una vez al mes, y dos veces por mes cuando se presentó floración. Los eventos que se observaron en la flor fueron: momento de apertura, presencia de néctar, dehiscencia de las anteras y momento de receptividad del estigma, lo cual se hizo en cinco flores marcadas de cinco plantas tomadas al azar. La receptividad del estigma se comprobó por medio de la presencia de peroxidasa y la observación de secreción estigmática. Estigmas provenientes de flores de diferentes edades: botones de 1cm de longitud, flores previas a antesis, flores recién abiertas y senescentes (ver Figura 5), se sumergieron en peróxido de hidrógeno, aquellos estigmas en los que ocurrió actividad enzimática (burbujeo) se consideraron receptivos (Kearns e Inouye, 1993).



**Figura 5.** Se ilustra el tamaño de los botones y tipos de flores que se usaron para probar la receptividad del estigma, verificar presencia de néctar y dehiscencia de las anteras. A-B. Botones florales de *C. roseum*. C. Flor recién abierta de *C. roseum*. D. Flor de *C. uhdei* en proceso de marchitamiento. Escala en mm.

El despliegue floral se midió en seis plantas marcadas de *Cestrum oblongifolium* y *C. roseum*, y cinco de *C. uhdei*. De cada individuo se contó el número de inflorescencias con flores abiertas y se obtuvo el número promedio de flores por inflorescencia mediante el conteo directo en 27 inflorescencias de cada especie tomadas al azar. Para detectar diferencias en dicha variable entre especies, se utilizó la prueba no paramétrica Kruskal-Wallis (debido a que los datos obtenidos no mostraron distribución normal), seguida de una prueba de Tukey. Para evaluar la floración a nivel de población se contó el número total de individuos por especie que presentaron flores y se estimó el porcentaje de la población en floración. Se usó el criterio de Dafni (1992, Tabla 1) para describir la floración en la población.

**Tabla 1.** Criterios para medir la floración a nivel de población (Dafni, 1992).

Etapa	Criterio
Antes de la floración	25% de los individuos floreciendo
Floración	25-50% de individuos floreciendo, el resto con botones cerrados
	>50% o más individuos floreciendo
Fin de la floración	<50% en floración
	25-50% de individuos floreciendo, el resto con flores marchitas
Floración completada	<25% de individuos floreciendo
	<10% de flores abiertas

### Morfología y anatomía floral

Las descripciones de la morfología floral se hicieron mediante la colecta y preservación en alcohol etílico al 70% de 20 flores maduras procedentes de cinco individuos de cada especie. Las flores se observaron al microscopio estereoscópico y se tomaron medidas de 14 variables: longitud del cáliz, ancho y longitud de los lóbulos del cáliz, longitud del tubo floral, diámetro de la corola, longitud y ancho de los lóbulos, longitud del filamento, longitud y ancho de la antera, diámetro del estigma, longitud del estilo, diámetro del ovario y la distancia antera-estigma (Figura 6). Para detectar diferencias en los caracteres florales

entre especies se utilizó un análisis de varianza de una vía o la prueba no paramétrica Kruskal-Wallis en caso de que el carácter floral no mostrara distribución normal y cuando fue necesario se usó la prueba *post hoc* de Tukey.

Para la descripción anatómica, las flores se fijaron con Navashin por 24 horas (Johansen, 1940) que se reemplazó con alcohol etílico al 70%. Se hicieron cortes histológicos transversales y longitudinales para lo cual los tejidos fueron deshidratados en una serie ascendente de alcohol terbutílico y posteriormente se incluyeron en paraplast. Los cortes fueron hechos en un micrótopo de rotación Leica (modelo RM2125) a 10-12  $\mu\text{m}$  y se tiñeron con safranina y verde rápido (Ruzin, 1999). El polen se acetolizó siguiendo la metodología de Moore *et al.* (1991, con modificaciones), para su descripción se analizaron 20 granos de cada especie y se utilizó la terminología de Sáenz-Laín (2004) y Punt *et al.* (2007).

Para observar la venación de la corola y cáliz se hicieron diafanizados con alcohol 80%-hidróxido de sodio 10% y se tiñeron con fucsina (Fuchs, 1963). Los cortes y preparaciones fueron observados con un microscopio óptico (Leica, Standard 25 y Olympus) para hacer las descripciones. Las fotografías fueron tomadas con la cámara Evolution MP (MediaCybernetics, Bethesda, EUA). Para observar detalles de las estructuras florales y polen, se fijaron flores con FAA (Martínez y Hernández, 1997) por 24 horas, posteriormente fueron deshidratadas en una serie ascendente de alcoholes etílicos, se secaron a punto crítico y se recubrieron con oro para ser observadas al microscopio electrónico de barrido (MEB, Zeiss EVO50). Las preparaciones se encuentran depositadas en el Laboratorio de Botánica de la Facultad de Ciencias Naturales, UAQ.



**Figura 6.** Flor de *Cestrum roseum*. Variables morfológicas que fueron medidas en las flores de las especies de estudio. a= longitud del cáliz, b, c= ancho y longitud de los lóbulos del cáliz, d= longitud del tubo floral, e= diámetro de la corola, f, g = longitud y ancho de los lóbulos de la corola, h = longitud del filamento, i, j = longitud y ancho de la antera, k= diámetro del estigma, l = longitud del estilo, m= diámetro del ovario, n= distancia antera-estigma.

## Néctar

Para conocer la cantidad de recompensa ofrecida a los visitantes por las tres especies de *Cestrum* se estimó la cosecha en pie, es decir, la cantidad de néctar presente en una flor en un momento dado, que es una medida de la cantidad de recurso disponible para los visitantes en un punto en el tiempo (Pleasants y

Zimmerman, 1983; Possingham, 1989; Corbet, 2003). La cosecha en pie fue medida en 111 flores de *C. oblongifolium*, 132 flores de *C. roseum* y 93 flores de *C. uhdei*, se usaron flores sin excluir de los visitantes y se midió el volumen y concentración del néctar.

El volumen de néctar por flor se obtuvo con el uso de microcapilares calibrados de 5  $\mu$ l y una regla. El microcapilar se colocó dentro del tubo floral hasta agotar el contenido de néctar. La concentración de azúcar de cada muestra de néctar se determinó con un refractómetro de mano de un rango de concentración de 0-32°Brix (Sper Scientific, modelo 300001). Si el volumen de néctar era reducido y no podía tomarse la lectura de la concentración del refractómetro se usó un volumen conocido de agua destilada (10  $\mu$ l) y se mezcló con el néctar encontrado, posteriormente se hizo el ajuste de dicha dilución. Para detectar diferencias en el volumen y concentración de néctar entre las especies se utilizó la prueba no paramétrica Kruskal-Wallis debido a que los datos no presentaron normalidad y la prueba *pos hoc* de Dunn's.

### **Biología reproductiva**

El sistema de entrecruza de los individuos de *Cestrum oblongifolium*, *C. roseum* y *C. uhdei* fue evaluado mediante dos metodologías: la relación polen-óvulo (P/O) y experimentalmente en campo.

La producción de polen y óvulos por flor de cada especie, así como P/O se obtuvo de acuerdo a la metodología de Cruden (1977). La relación P/O refleja el sistema de apareamiento o tipo de entrecruza de los individuos de una especie, por ejemplo, plantas con menor número de granos de polen por óvulo indican cleistogamia en cambio aquellas plantas que se reproducen por polinización cruzada (xenogamia) tienden a producir mayor número de granos de polen por óvulo (Cruden, 1977).

En campo se evaluó el sistema de entrecruza y la polinización bajo condiciones naturales en tres a seis plantas por especie elegidas al azar dependiendo de la disponibilidad de individuos y se llevaron a cabo los siguientes tratamientos: polinización natural (control), autopolinización, geitonogamia y apomixis (ver Tabla 2), siguiendo la metodología de Dafni (1992). En cada tratamiento se utilizó una inflorescencia por planta, las cuales se eligieron al azar en cuanto a su posición en la planta y sólo se usaron flores previas a la antesis. Se contó el número inicial de flores en cada inflorescencia. Todas las inflorescencias de los tratamientos, excepto las del grupo control fueron aisladas con bolsas de tul para asegurar la exclusión de visitantes y evitar que se depositara polen, además del experimental. Las bolsas de tul permanecieron en la planta hasta observar producción de frutos o marchitamiento de las flores y se contó el número de frutos en relación a las flores observadas (Dafni, 1992). Los tratamientos de entrecruza se midieron con base al porcentaje de frutos producidos. Se usó la metodología de Zapata y Arroyo (1978) para estimar el índice de autoincompatibilidad (IA).

$$A = \frac{\text{Número de frutos producidos por autopolinización}}{\text{Número de frutos producidos por polinización cruzada}}$$

Donde el valor de IA puede ser:

>1 = Autoincompatible

>0.2 < 1 = Parcialmente autoincompatible

<0.2 = Mayoritariamente autoincompatible

0 = Completamente autoincompatible

**Tabla 2.** Tratamientos para evaluar el sistema de entrecruza de *C. oblongifolium*, *C. roseum* y *C. uhdei*.

Tratamiento	Aislar	Emascular	Fuente del polen	Objetivo
Polinización natural (control)			Del visitante	Evaluar la tasa de polinización bajo condiciones naturales
Autopolinización	✓		De la misma flor	Medir la necesidad de polinizadores e indicación de sistemas de auto-
Geitonogamia	✓	✓	Otra flor de la misma planta	compatibilidad/incompatibilidad. Evaluación de la tasa de reproducción no sexual
Apomixis	✓	✓	Ninguna	

La producción de frutos por infrutescencia se estimó por medio de un conteo directo de frutos en 25 infrutescencias de cada especie y se obtuvo el número de semillas por fruto en cada especie (*Cestrum oblongifolium*, n = 11; *C. roseum*, n= 6; *C. uhdei*, n =7). Para detectar diferencias en dichas variables entre especies se utilizó un análisis de varianza de una vía o la prueba no paramétrica Kruskal-Wallis cuando los datos no presentaron normalidad, seguido de la prueba de Tukey. También se comprobó que los embriones estuvieran vivos mediante el uso del colorante azul Evans. Las semillas se cortaron para exponer el embrión, se sumergieron en una solución al 0.5% de azul Evans durante 15 minutos y se enjuagaron con agua destilada. Con esta técnica los tejidos muertos o dañados se tiñen de azul mientras que los tejidos vivos no se tiñen (Peterson *et al.*, 2008).

### **Visitantes florales**

La observación de visitantes florales se hizo en plantas de las tres especies que presentaron el mayor despliegue floral. El registro de visitantes florales fue hecho por dos observadores de las 8:00 a 17:00 hrs durante 14 días no consecutivos a lo largo del periodo de floración (2012-2013), que suman un total de cerca de 252 horas/hombre. La identificación de los visitantes se hizo mediante observación directa, fotografía y video, con la ayuda de guías taxonómicas especializadas (De la Maza-Ramírez, 1987; Sibley, 2000; Williamson, 2001; Garwood y Lehman, 2005). Se capturaron individuos de mariposas que visitaron a las flores de *Cestrum* para verificar la presencia de carga polínica y las partes del cuerpo a las que se adhiere, para ello se observaron los especímenes al MEB.

## VI. RESULTADOS

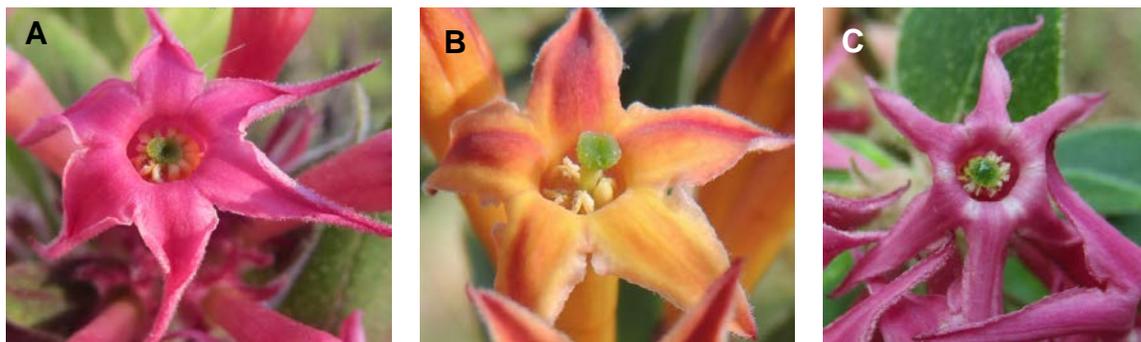
### Fenología

La longevidad de las flores de *Cestrum oblongifolium*, *C. roseum* y *C. uhdei* es de cuatro días. El inicio de la anthesis se registró desde las 8 am hasta las 11 am, tiempo en el que los lóbulos de la corola se separan y extienden hasta quedar en posición horizontal, en los días sucesivos los lóbulos se doblan hacia abajo, quedando paralelos al tubo floral (Figura 7). La dehiscencia de las anteras y la receptividad del estigma ocurren una vez que la flor está abierta. Inicialmente abren una o dos anteras, el resto lo va haciendo durante la vida de la flor (Figura 8A y B), por lo que el tiempo de exposición de polen es de hasta cuatro días. El estigma presenta apariencia húmeda mientras está receptivo (Figura 8C). Las flores permanecen abiertas durante todo el día (no se observó el periodo nocturno). Sólo en algunos individuos de *C. oblongifolium* se observó que algunos botones florales abrían por la tarde. La producción de néctar inicia desde que son botones florales próximos a abrir (botones con el tamaño de una flor ya desarrollada, con anteras cerradas y estigma no receptivo) y no se detectó fragancia en las flores. La flor es persistente hasta las primeras etapas de desarrollo del fruto. Las flores dentro de una inflorescencia abren en diferentes días, por lo que en una inflorescencia pueden encontrarse flores de diferentes etapas.

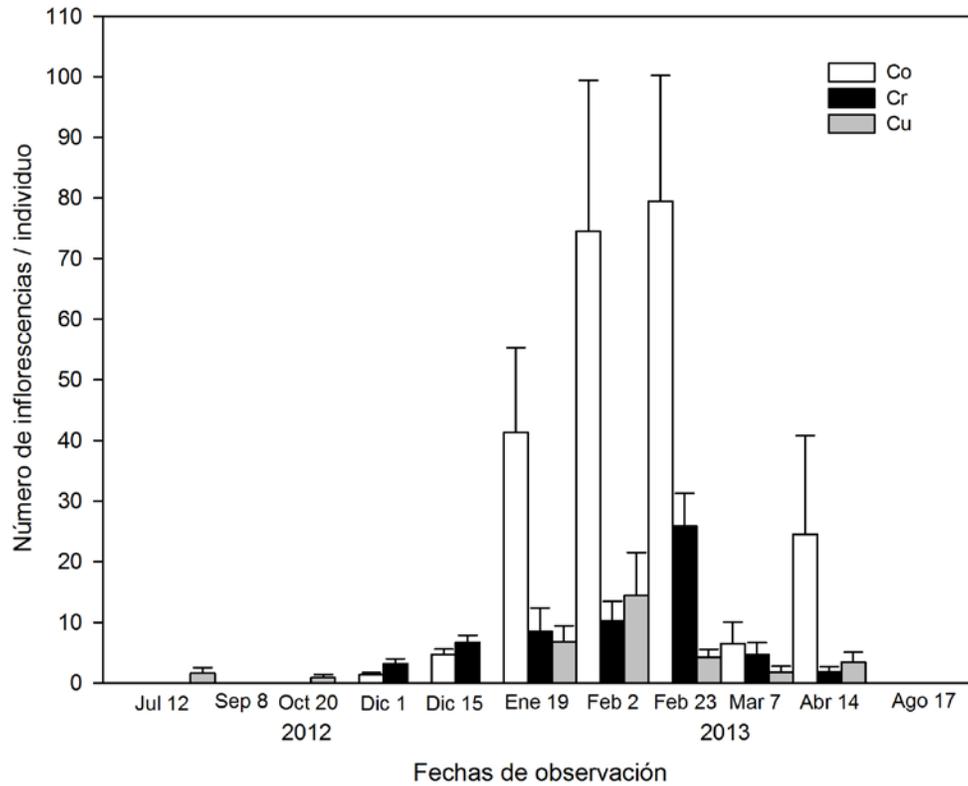
El despliegue floral (número de inflorescencias por individuo) fue variable entre las especies (Figura 9). Los individuos de *Cestrum oblongifolium* presentaron mayor cantidad de inflorescencias con hasta 79.5 ( $\pm 20$ ) inflorescencias durante el pico de floración, mientras que los individuos de *C. roseum* y *C. uhdei* presentaron 25.8 ( $\pm 5.4$ ) y 14 ( $\pm 1.3$ ) inflorescencias respectivamente. Las inflorescencias de *C. oblongifolium* además, son las más densas con 10.6 ( $\pm 0.8$ ) flores que es significativamente diferente ( $H= 12.418$ ,  $gl= 2$ ,  $P= 0.002$ ) al número de flores por inflorescencia de *C. roseum* y *C. uhdei* que tienen 7.5 ( $\pm 0.3$ ) y 6.8 ( $\pm 0.2$ ) flores respectivamente (Figura 10).



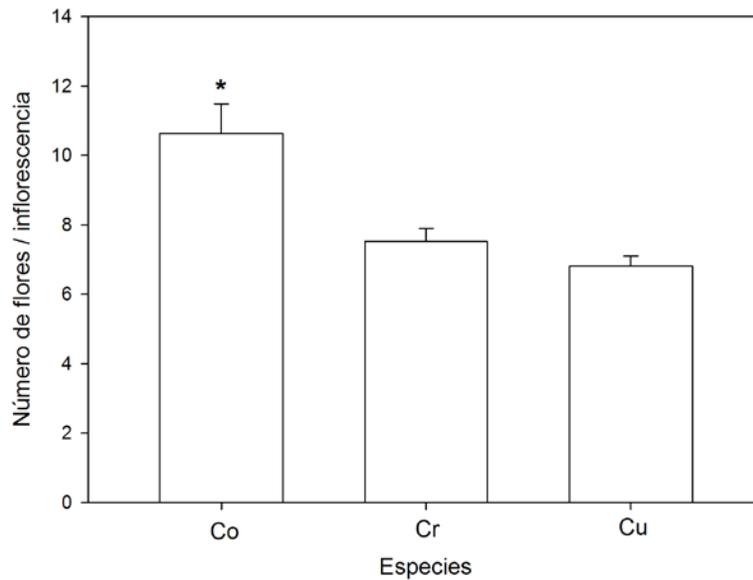
**Figura 7.** Desdoblamiento de los lóbulos durante la apertura de la flor. A-C. Flores de *C. oblongifolium*. D-F. Flores de *C. roseum*. G-I. Flores de *C. uhdei*.



**Figura 8.** Dehiscencia de las anteras y receptividad del estigma. A-B. Flor de *C. roseum* (A) y de *C. uhdei* (B), se observan las anteras abriendo a diferentes tiempos. C. Flor de *C. roseum*, apariencia húmeda del estigma.



**Figura 9.** Media de inflorescencias que presentaron los individuos de *C. oblongifolium* (Co), *C. roseum* (Cr) y *C. uhdei* (Cu) durante el periodo de floración. Las barras representan el error estándar de la media.



**Figura 10.** Número de flores producidas por inflorescencia en *C. oblongifolium* (Co), *C. roseum* (Cr) y *C. uhdei* (Cu) (\* $P < 0.05$ ). Las barras representan el error estándar de la media.

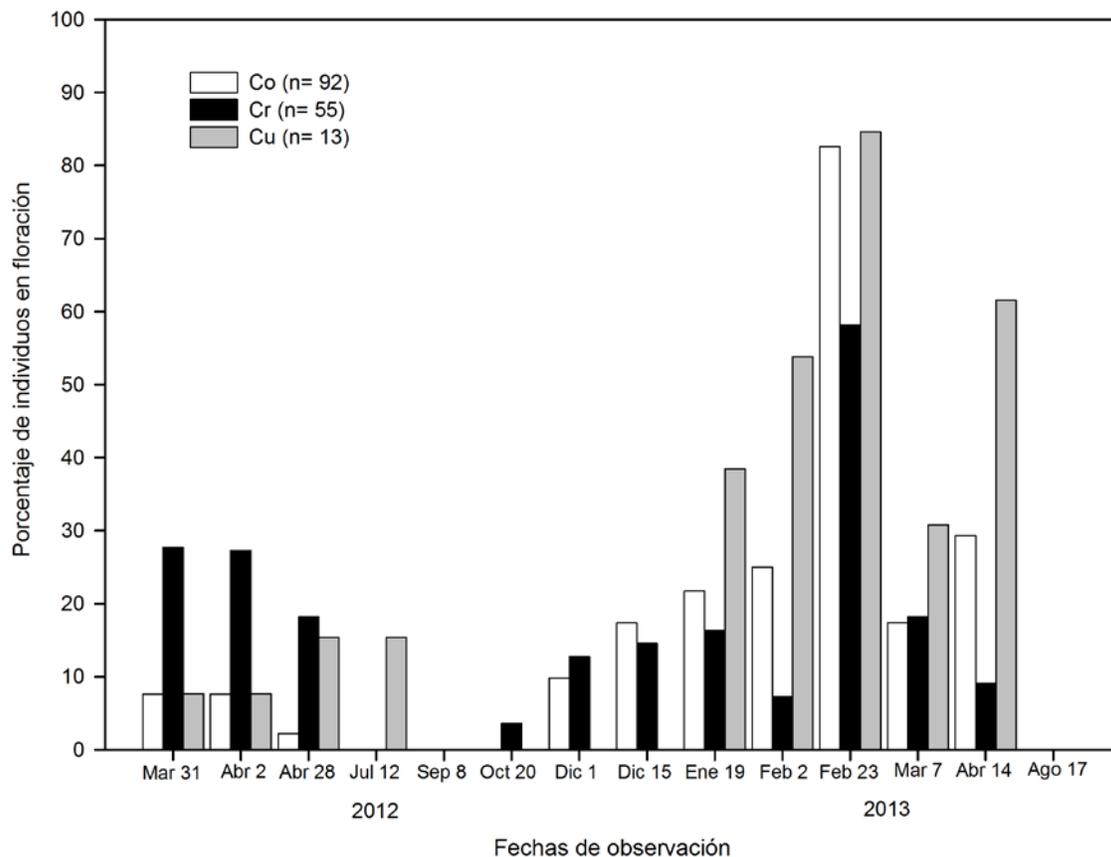
Las poblaciones de Charco Azul de *Cestrum* que se monitorearon durante dos periodos de floración, estaban constituidas de 55, 92 y 13 individuos de *C. oblongifolium*, *C. roseum* y *C. uhdei* respectivamente. El primer periodo de floración ocurrió en los meses de marzo a abril del 2012, tiempo en que los individuos ya habían comenzado la floración. El segundo evento de floración se registró completo y comenzó en octubre del 2012 y terminó en abril del 2013 (Figura 11).

Durante la floración de marzo-abril del 2012, las tres especies presentaron individuos con producción de flores. En este periodo, 27% (15 individuos) de la población de *Cestrum roseum* floreció mientras que *C. oblongifolium* y *C. uhdei* presentaron menos del 10% de su población en floración. De junio a septiembre no se presentó floración, excepto en julio dos individuos de *C. uhdei* tuvieron flores (Figura 11).

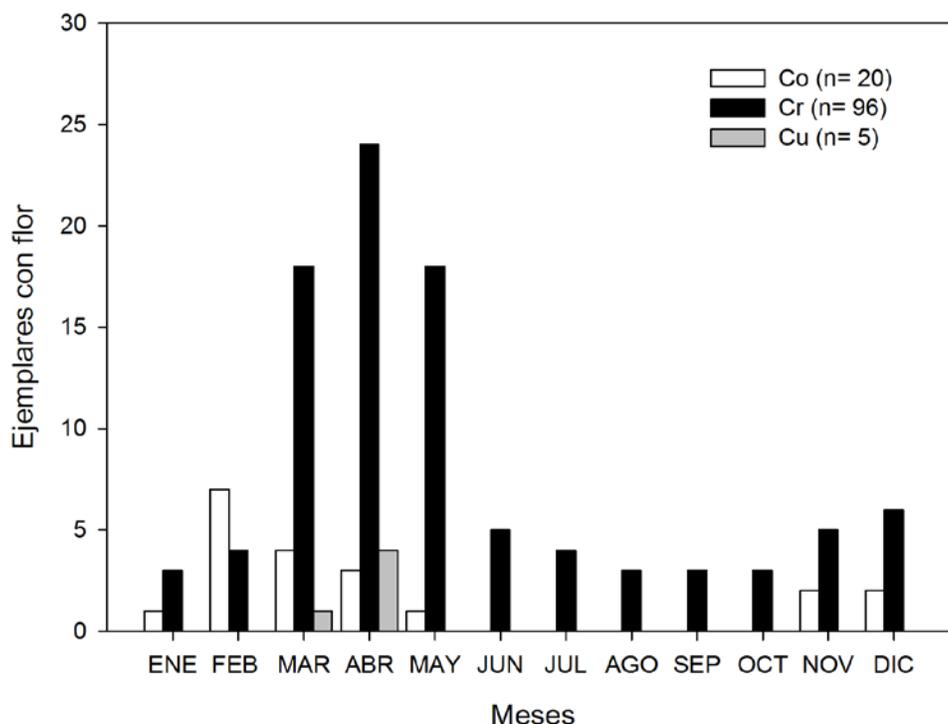
El segundo periodo de floración estudiado inició en octubre del 2012 y concluyó en abril del 2013 (Figura 11). *Cestrum oblongifolium* floreció cinco meses, de diciembre del 2012 a abril del 2013, con el pico de floración en febrero del 2013 con 82% (76 individuos) de la población en floración. *C. roseum* presentó floración temprana en comparación con las otras dos especies, e inició con el 3% (2 individuos) de la población en octubre, y floreció hasta abril del 2013, el pico de floración fue en febrero del 2013 con 58% (32 individuos) de la población, el resto del tiempo menos del 20% de sus individuos presentaron flores. La floración de *C. uhdei* duró cuatro meses, de enero a abril de 2013 y al igual que las otras dos especies de *Cestrum* en Charco Azul, el pico de floración fue en febrero, con 84% (11 individuos) de la población en floración. El periodo de floración compartido entre las tres especies fue de cuatro meses, de enero a abril, que incluye el pico de la floración y un mes (diciembre) en el sólo que florecieron *C. oblongifolium* y *C. roseum*.

Sobre la floración de las especies de estudio en otros sitios de México, se obtuvo el siguiente patrón a través de ejemplares de herbario que presentaron

estructuras florales (ver Apéndice). *Cestrum oblongifolium* florece de enero a mayo y en noviembre a diciembre, con el pico de la floración en el mes de febrero y el resto del año no hay floración. La floración de *C. roseum* ocurre durante todo el año y principalmente en los meses de marzo a mayo, con el pico de floración en abril y sobre *C. uhdei* sólo se tienen datos de cinco ejemplares de herbario (incluyendo las colectas hechas en este trabajo), cuatro de ellos con floración en abril y uno en marzo (Figura 12).

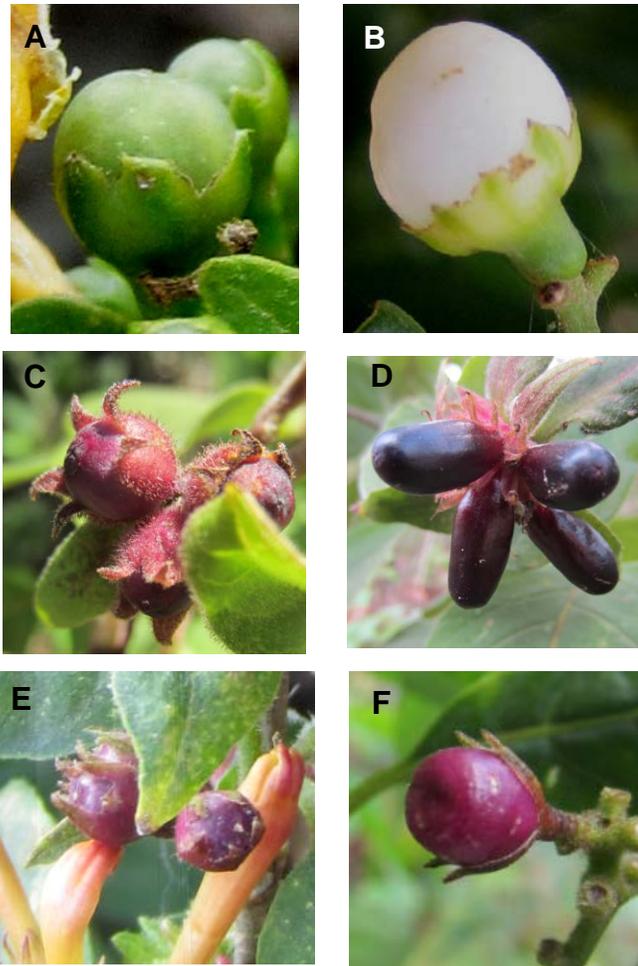


**Figura 11.** Fenología a nivel poblacional de *C. oblongifolium* (Co), *C. roseum* (Cr) y *C. uhdei* (Cu) en Charco Azul, Xichú. n= número total de individuos de cada especie.



**Figura 12.** Fenología floral a nivel nacional de *C. oblongifolium* (Co), *C. roseum* (Cr) y *C. uhdei* (Cu), con base a ejemplares de herbario. n= número de ejemplares que presentaron flores.

La producción de frutos en 2013 comenzó en algunos individuos de *Cestrum oblongifolium* desde el mes de enero, sin embargo, fue hasta finales de abril cuando todos los individuos de la población de las tres especies presentaron infrutescencias. Los frutos inmaduros de *C. oblongifolium* son verdes y de menos de un centímetro de diámetro y cuando maduran son de color blanco y de un centímetro de diámetro (Figura 13A y B). *C. roseum* produce bayas de color rojo redondas de un centímetro o menos y cuando maduran son ovoides y alcanzan los dos centímetros de largo, siendo de color más oscuro (Figura 13C y D). Los frutos de *C. uhdei* son de color rojizo-purpura y redondos, cuando maduran miden cerca de un centímetro (Figura 13E y F).



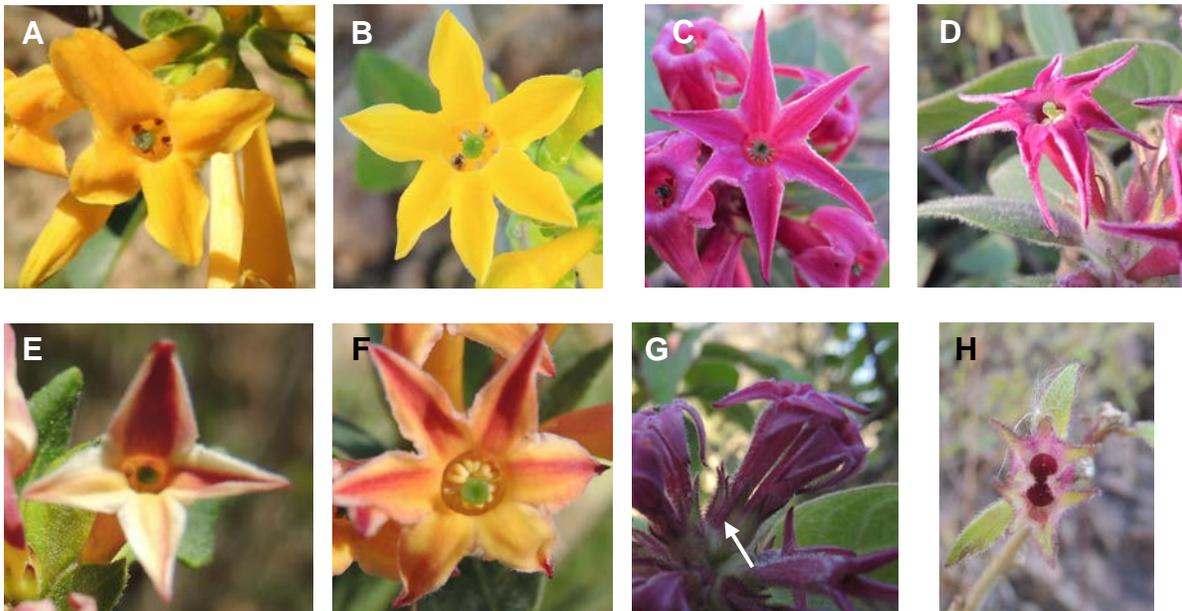
**Figura 13.** Frutos inmaduros y maduros de las especies de estudio. A, B. *Cestrum oblongifolium*, C, D. *C. roseum* y E, F. *C. uhdei*.

### Morfología y anatomía floral

Las flores de las tres especies estudiadas son tubulares de color amarillo en *Cestrum oblongifolium*, rojizo en *C. roseum* y anaranjado con marcas rojizas en los lóbulos en *C. uhdei*. La forma y número de los lóbulos de la corola varía entre las especies. *C. oblongifolium* tiene lóbulos triangulares a ovados, mientras que en *C. roseum* y *C. uhdei* la forma es triangular a lanceolada. *C. oblongifolium* y *C. uhdei* presentan cuatro a seis lóbulos, y las flores de *C. roseum* muestran mayor variación al tener de cuatro hasta siete lóbulos (Figura 14). La pubescencia de la flor es otro rasgo variable entre especies y entre individuos de la población. Las

flores de *C. oblongifolium* y *C. uhdei* son glabras, excepto en la región de los lóbulos donde presentan ligera pubescencia a diferencia de las flores de *C. roseum* que son pilosas en todo el tubo floral y densamente pubescentes en los lóbulos de la corola.

Otras variaciones morfológicas fueron observadas en algunas flores de *C. roseum*, el número de estambres fue variable, a veces tenían seis en lugar de cinco y en una ocasión se observó a los filamentos completamente unidos a la corola con las anteras libres (petalostémonos). Se encontró dentro de una flor la presencia de dos filamentos con sus estigmas. En varios individuos de *C. roseum* se observó que se desarrollaban dos flores en un sólo cáliz y ambos ovarios formaron frutos (Figura 14G y H).



**Figura 14.** Algunas de las variaciones morfológicas en las flores de *Cestrum*. A, B. Flores de *C. oblongifolium* con cuatro y seis lóbulos de la corola respectivamente. C, D. Flores de *C. roseum* con seis y siete lóbulos del tubo floral. E, F. Flores de *C. uhdei* con cuatro y seis lóbulos. G. Dos flores de *C. roseum* desarrollándose en el mismo cáliz (flecha). H. Dos frutos de *C. roseum* desarrollándose en el mismo cáliz.

Sobre las variables de la morfología floral que fueron medidas a las tres especies de *Cestrum*, se encontraron diferencias significativas en el tamaño del cáliz, corola, filamentos, diámetro del estigma y longitud del estilo (Tabla 3). *C. oblongifolium* tienen el cáliz más pequeño con una longitud de 4.5 ( $\pm$  0.1) mm y fue la única especie con diferencias significativas tanto en la longitud (H= 43.814, gl= 2, P<0.001), como en ancho (F= 13.012, gl= 2, 59; P<0.001) y largo (H= 38.728, gl= 2, P<0.001) de los lóbulos. El cáliz de mayor tamaño fue el de *C. roseum* con 9.5 ( $\pm$  0.2) mm de longitud, mientras que el de *C. uhdei*, presentó un tamaño medio, con una longitud de 7.8 ( $\pm$  0.3) mm, sin embargo, entre estas dos últimas especies no se encontraron diferencias significativas (Tabla 3).

La corola de las tres especies difiere en la longitud del tubo y la longitud de los lóbulos (Tabla 3). La longitud de la corola fue significativamente diferente en las tres especies (F= 20.063, gl= 2, 59; P<0.001). *C. oblongifolium* presentó el tubo floral más pequeño con una longitud de 19.1 ( $\pm$  0.3) mm, en *C. roseum* el tubo floral midió 20.7 ( $\pm$  0.3) mm y *C. uhdei* presentó la corola más larga con 22.4 ( $\pm$  0.4) mm. El diámetro de la corola en las tres especies es mayor a 3 mm (ver Tabla 3) y no presentó diferencias significativas entre las especies (F= 2.910, gl= 2, 59; P= 0.063). Las flores de *C. oblongifolium* tienen los lóbulos de la corola más pequeños con 5 ( $\pm$  0.1) mm de longitud y difieren significativamente (F= 45.468, gl= 2, 59; P<0.001) a los de *C. roseum* y *C. uhdei* que miden 8 ( $\pm$  0.2) mm y 7.8 ( $\pm$  0.2) mm de longitud, respectivamente (Tabla 3).

Del androceo sólo se hallaron diferencias significativas (F= 29.211, gl= 2, 59; P<0.001) en la longitud de la parte libre del filamento (Tabla 3). *Cestrum oblongifolium* presentó los filamentos más cortos con 5.7 ( $\pm$  0.1) mm de longitud, mientras que *C. roseum* y *C. uhdei* presentaron filamentos de 7.4 ( $\pm$  0.2) mm y 6.9 ( $\pm$  0.1) mm respectivamente. Las anteras en las tres especies tienen un tamaño constante de 1 mm de longitud y cerca de 1 mm de ancho y no se encontraron diferencias significativas (longitud: H= 1.240, gl= 2, P= 0.538; diámetro: H= 2.574, gl= 2, P= 0.276).

El gineceo difirió en las especies de *Cestrum* en el diámetro estigmático y la longitud del estilo (Tabla 3). *C. roseum* y *C. uhdei* mostraron diferencias significativas ( $H= 18.493$ ,  $gl= 2$ ,  $P<0.001$ ) en el diámetro del estigma que fue de  $0.96 (\pm 0.02)$  mm y  $0.76 (\pm 0.05)$  mm respectivamente. Las flores de *C. uhdei* tienen estilos más largos con  $19.4 (\pm 0.3)$  mm de longitud y difieren significativamente ( $F= 13.880$ ,  $gl= 2$ ,  $59$ ;  $P<0.001$ ) a los de las otras dos especies, los cuales midieron  $16.8 (\pm 0.3)$  mm en *C. oblongifolium* y  $17.6 (\pm 0.3)$  mm en *C. roseum*. El diámetro del ovario en las tres especies es de 1 mm aproximadamente. No se encontraron diferencias significativas ( $H= 2.466$ ,  $gl= 2$ ,  $P= 2.91$ ) en la distancia entre anteras y estigma y en los tres casos en promedio fue menor a 1 mm (Tabla 3).

**Tabla 3.** Media de los caracteres morfológicos de la flor (mm)  $\pm$  error estándar de la media

Caracteres florales	<i>C. oblongifolium</i>	<i>C. roseum</i>	<i>C. uhdei</i>
Longitud del cáliz	$4.5 \pm 0.1^*$	$9.5 \pm 0.2$	$7.8 \pm 0.3$
Longitud de los lóbulos del cáliz	$0.8 \pm 0.07^*$	$3.0 \pm 0.1$	$2.1 \pm 0.1$
Ancho de los lóbulos del cáliz	$0.7 \pm 0.05^{**}$	$1.1 \pm 0.06$	$1.0 \pm 0.06$
Longitud de la corola	$19.1 \pm 0.3^*$	$20.7 \pm 0.3^*$	$22.4 \pm 0.4^*$
Diámetro de la corola	$3.2 \pm 0.09$	$3.6 \pm 0.08$	$3.4 \pm 0.1$
Longitud de los lóbulos de la corola	$5.0 \pm 0.1^{**}$	$8.0 \pm 0.2$	$7.8 \pm 0.2$
Ancho de los lóbulos de la corola	$2.1 \pm 0.1$	$2.4 \pm 0.1$	$2.7 \pm 0.1$
Longitud del filamento (parte libre)	$5.7 \pm 0.1^*$	$7.4 \pm 0.2$	$6.9 \pm 0.1$
Longitud de la antera	$1.0 \pm 0.02$	$1.0 \pm 0.04$	$1.0 \pm 0.03$
Diámetro de la antera	$0.9 \pm 0.04$	$0.8 \pm 0.04$	$0.91 \pm 0.04$
Diámetro del estigma	$0.8 \pm 0.03$	$0.9 \pm 0.02^*$	$0.7 \pm 0.05^*$
Longitud del estilo	$16.8 \pm 0.3$	$17.6 \pm 0.3$	$19.4 \pm 0.3^{**}$
Diámetro del ovario	$1.0 \pm 0.01$	$1.0 \pm 0.04$	$1.1 \pm 0.02$
Distancia anteras-estigma	$0.7 \pm 0.1$	$0.6 \pm 0.1$	$0.3 \pm 0.07$

\*  $P<0.05$ , \*\*  $P<0.001$

Debido a que la anatomía floral de *Cestrum oblongifolium*, *C. roseum* y *C. uhdei* es semejante, las descripciones corresponden a las tres especies a menos que se indique lo contrario.

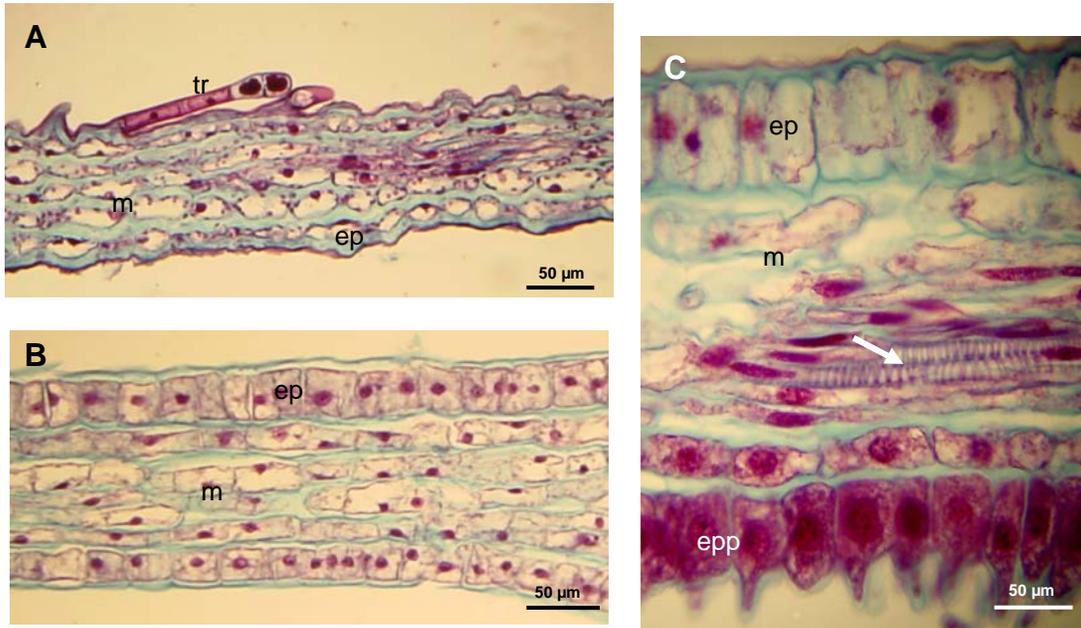
Perianto. Los sépalos y pétalos están formados por una epidermis uniestratificada de células rectangulares a ovoides de 25  $\mu\text{m}$  de diámetro, con cutícula delgada o ausente. La epidermis es papilosa en los lóbulos de la corola (Figura 15). Presentan tricomas multicelulares, que en el caso de *Cestrum roseum* son abundantes dentro y fuera del cáliz y en la parte externa de la corola, especialmente en los lóbulos. *C. oblongifolium* y *C. uhdei* presentan tricomas sólo en la parte apical interna del cáliz y en los lóbulos de la corola y son menos abundantes. El mesófilo de sépalos y pétalos está formado por células de parénquima de tamaño y forma variable, con pocos espacios intercelulares en la base y aumentan hacia la parte apical. Los engrosamientos del xilema son de tipo helicoidal (Figura 15). La venación del cáliz y corola es eucamptodroma, es decir, con venas secundarias que no llegan al margen.

Androceo. Los filamentos están adheridos a la corola (adnados) en el primer centímetro de longitud (Figura 16), en esta región presentan tricomas multicelulares (Figura 17), después se encuentran libres y glabros. La epidermis del filamento es simple y está formado por tejido parenquimatoso (Figura 16). Las anteras son tetrasporangidas, es decir con dos tecas, cada una con dos sacos polínicos, presentan epidermis simple papilosa (Figuras 18 y 19), de células de 32.5-50  $\mu\text{m}$ , con cutícula conspicua. Bajo la epidermis se encuentra el endotecio, formado por una capa de células rectangulares de 40  $\mu\text{m}$  de longitud, desapareciendo en la zona del estomio. El tejido conectivo está formado por células de parénquima de tamaño y forma irregular y presenta un haz vascular al centro. En las anteras con granos de polen maduros se observan capas remanentes del tapetum adyacentes al endotecio (Figura 18). La dehiscencia es longitudinal, lateral y el estomio (zona de dehiscencia) está formado por células distintas del resto de la epidermis por ser de menor tamaño (Figuras 18 y 19).

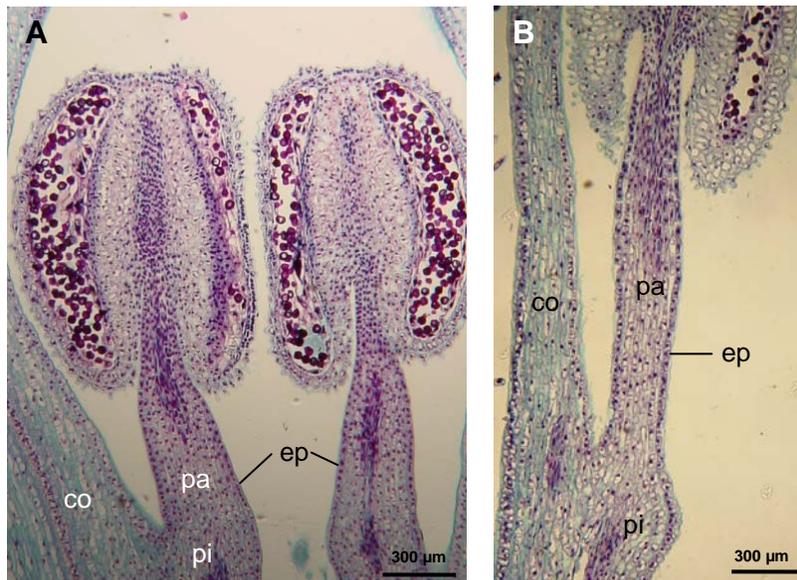
El polen de las tres especies (Figuras 20 y 21) es isopolar, con ámbito circular, de tamaño mediano en *Cestrum oblongifolium* y *C. roseum* y grande en *C. uhdei*, subprolato (diámetro polar/diámetro ecuatorial = P/E, de 1.2  $\mu\text{m}$  en *C. oblongifolium* y *C. roseum* y 1.3  $\mu\text{m}$  en *C. uhdei*), tricolporado. Colpos de 27 (33.1) 45 X 3 (4) 6  $\mu\text{m}$  en *C. oblongifolium*, 26 (37) 46 X 2 (3.4) 5  $\mu\text{m}$  en *C. roseum* y 35 (41.1) 45 X 3 (3.6) 5  $\mu\text{m}$  en *C. uhdei*. Membrana del colpo granulosa vista al MEB. Poros de 4 (4.8) 6  $\mu\text{m}$  en *C. oblongifolium*, 3 (3.8) 5  $\mu\text{m}$  en *C. roseum* y 3 (3.3) 5  $\mu\text{m}$  en *C. uhdei*. El ancho del mesocolpio es igual a 16.9  $\mu\text{m}$  en *C. oblongifolium*, 17.1  $\mu\text{m}$  en *C. roseum* y 15.9  $\mu\text{m}$  en *C. uhdei*; es semitectado con exina de 2.2  $\mu\text{m}$  en *C. oblongifolium*, 2.8  $\mu\text{m}$  en *C. roseum* y 2.6  $\mu\text{m}$  en *C. uhdei*; de ornamentación rugulada vista al MO y MEB.

Gineceo. El estigma presenta epidermis provista de largas papilas de 70 a 100  $\mu\text{m}$  de longitud (Figuras 22 y 23) y visto al MEB, se observa una capa de secreción estigmática sobre las mismas (Figura 23). El estilo está formado por tejido parenquimatoso de células rectangulares vistas en corte longitudinal, rodeadas por una epidermis uniestratificada papilosa (Figuras 22 y 23). En corte transversal se aprecia la epidermis papilar seguida de tejido parenquimatoso y al centro el tejido de transición con células de menor tamaño (Figura 22D). El ovario es globoso y bicarpelar, con placentación axilar (Figura 24). La pared del ovario presenta epidermis simple tanto interna como externa con células de hasta 27.5  $\mu\text{m}$  y se compone de parénquima de células isodiamétricas de 15 a 25  $\mu\text{m}$  de diámetro. Las zonas de la placenta y tabique muestran el mismo tipo de células. El nectario es un anillo en la base del ovario formado por 14 a 18 estratos de células de parénquima. Aunque el tejido del nectario es continuo al del ovario se distingue por sus células con abundantes contenidos (Figura 24). La epidermis del nectario es simple y continua a la del ovario, presenta grandes estomas de tipo anomocítico (sin células subsidiarias, Figuras 24 y 25). Dichos estomas se encargan de secretar el néctar, están formados por células oclusivas arriñonadas que forman poros de 18.7  $\mu\text{m}$  en *Cestrum oblongifolium*, 14.4  $\mu\text{m}$  en *C. roseum* y

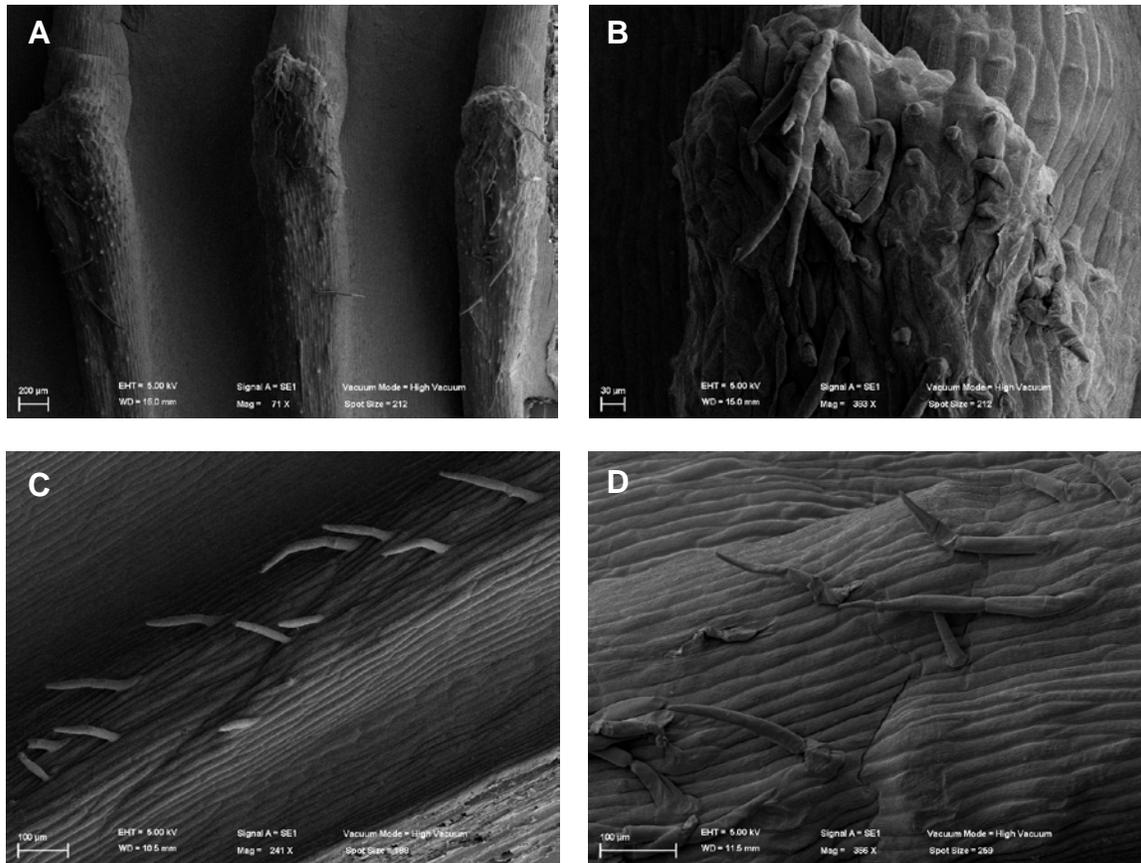
13.6  $\mu\text{m}$  de diámetro en *C. uhdei* y se distribuyen hacia la parte basal del nectario (Figura 25).



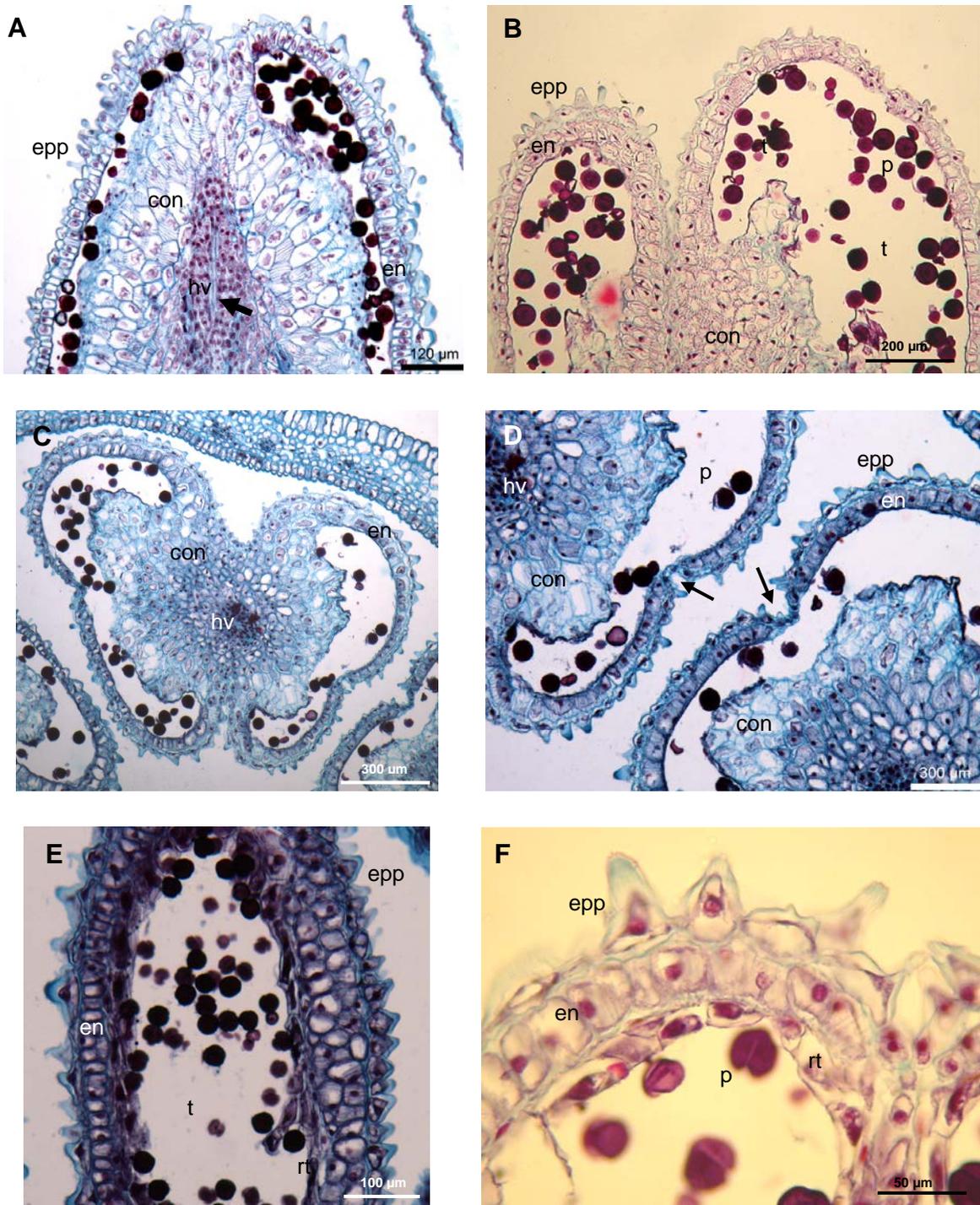
**Figura 15.** Perianto. A. Sépalo de *Cestrum uhdei*. B. Pétalo de *C. uhdei*. C. Detalle de los lóbulos de la corola de *C. roseum*. ep = epidermis, epp = epidermis papilosa, m = mesófilo, tr = tricoma, la flecha señala los engrosamientos helicoidales del xilema.



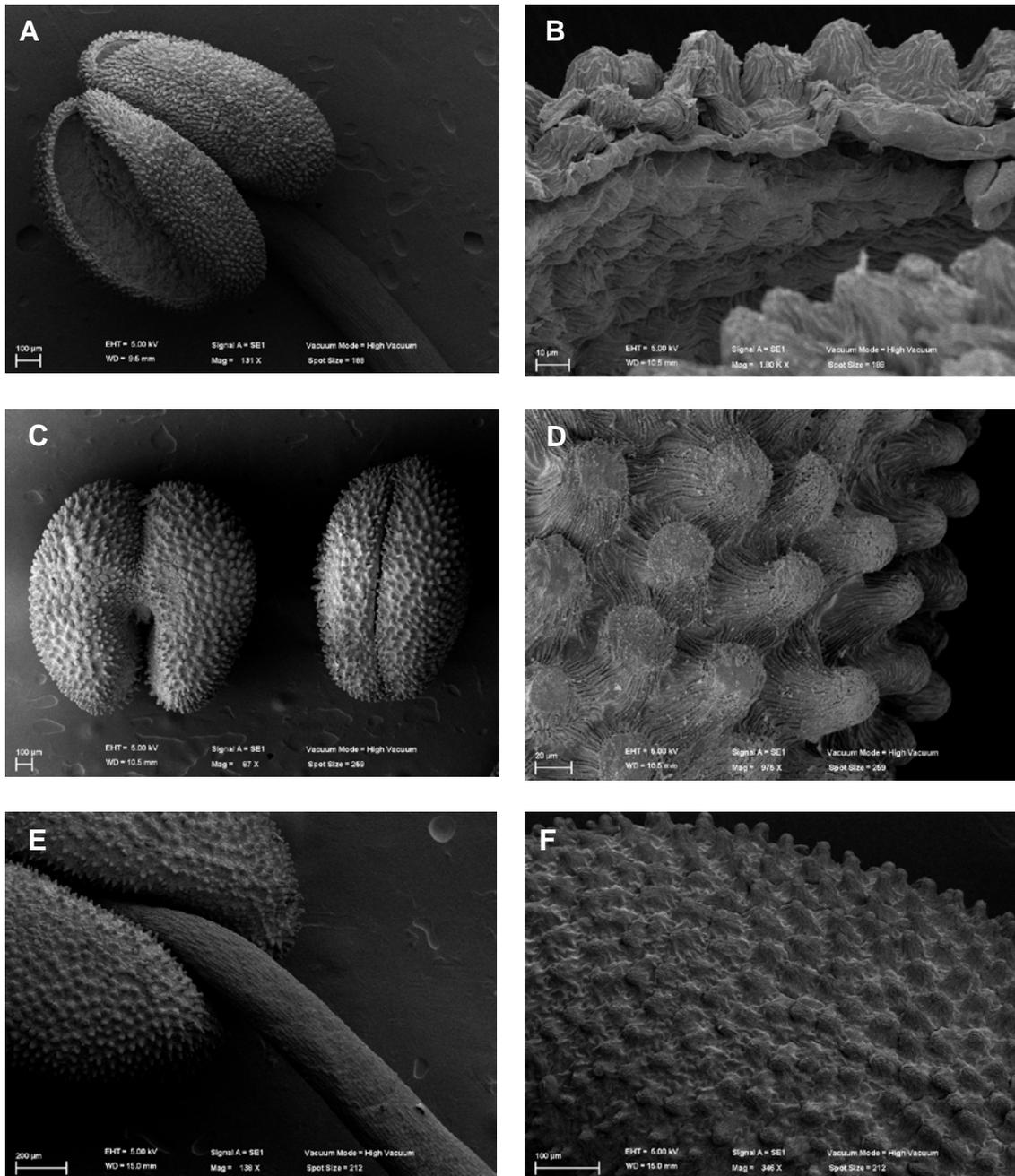
**Figura 16.** Estambre. A. Sección longitudinal de un botón de *Cestrum roseum*, se muestran los estambres unidos a la corola por el filamento. B. Detalle del punto de inserción del filamento a la corola de *C. uhdei*. co = corola, ep = epidermis, pa = parénquima, pi = punto de inserción.



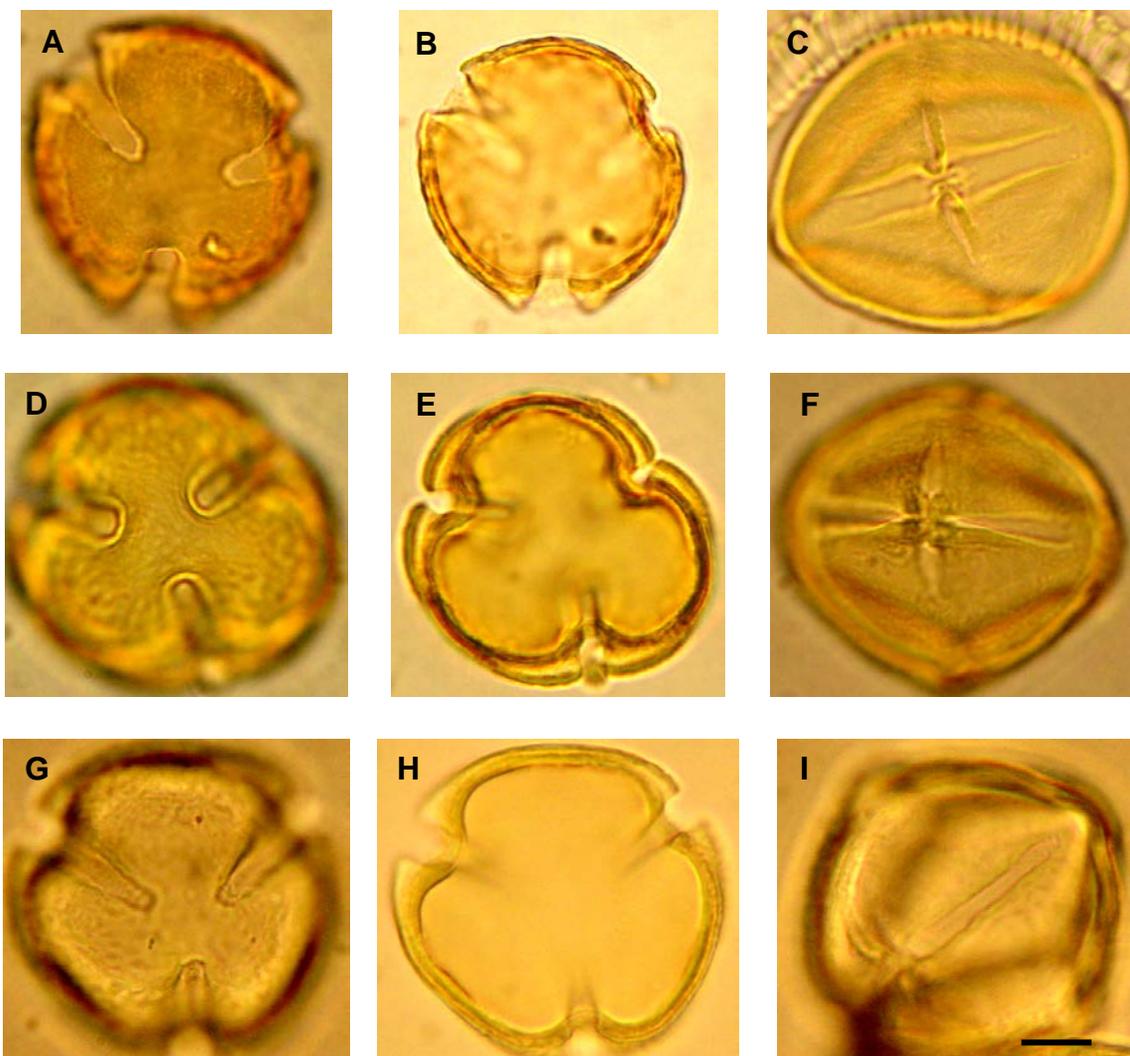
**Figura 17.** Filamentos. A. Filamentos de *Cestrum uhdei*, punto de unión a la corola, se observan los tricomas multicelulares. B. Detalle de un filamento de *C. uhdei*. C-D. Detalle de los tricomas del filamento en *C. oblongifolium* y *C. roseum* respectivamente.



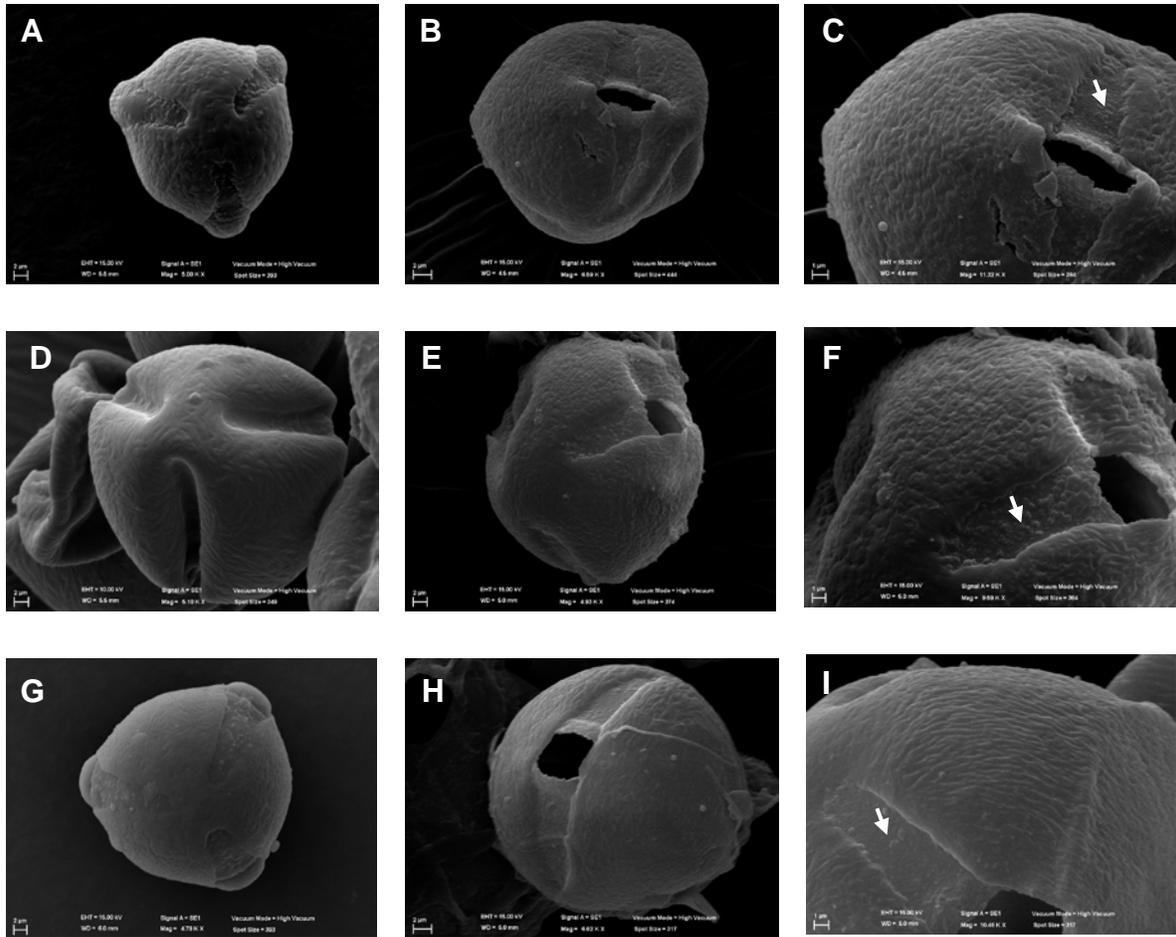
**Figura 18.** Antera. A. Sección longitudinal de antera de *Cestrum oblongifolium*. B. Sección longitudinal de antera de *C. roseum*. C. Sección transversal de antera de *C. roseum*. D. Detalle de la antera de *C. roseum*, se muestra el estomio (flecha). E. Sección longitudinal de antera de *C. uhdei*. F. Detalle de la antera de *C. uhdei*, se muestra la epidermis papilosa y endotecio. con = conectivo, en = endotecio, hv = haz vascular, p = polen, rt = remanentes del tapetum, t = teca. Flecha ancha = engrosamiento helicoidal del xilema.



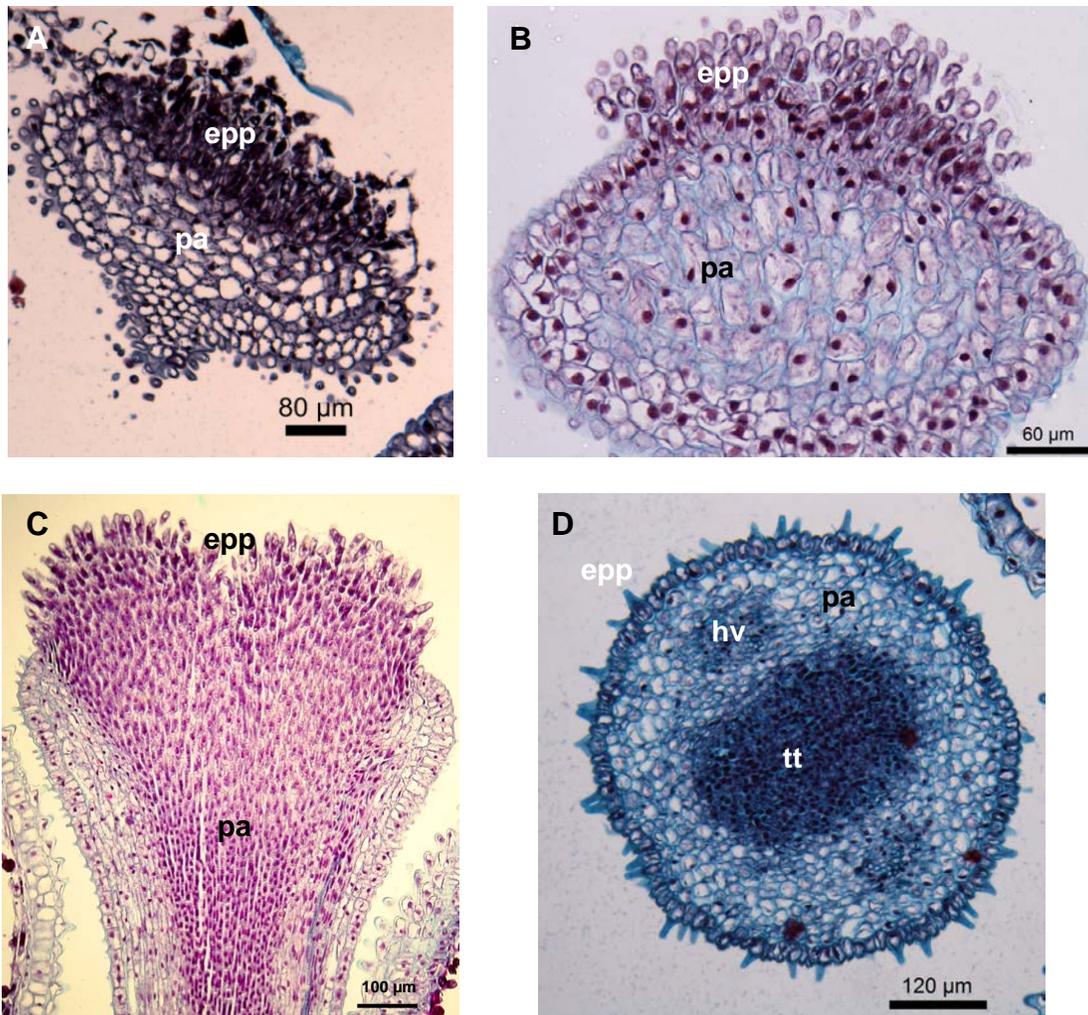
**Figura 19.** Antera vista al MEB. A. Antera de *Cestrum oblongifolium*, se observa la dehiscencia longitudinal, lateral. B. Detalle de la superficie de la antera de *C. oblongifolium*. C. Anteras de *C. roseum*, se muestra la epidermis papilosa y dehiscencia longitudinal. D. Papilas de la antera de *C. roseum*. E. Superficie de la antera de *C. uhdei*. F. Detalle de la epidermis papilosa de la antera de *C. uhdei*.



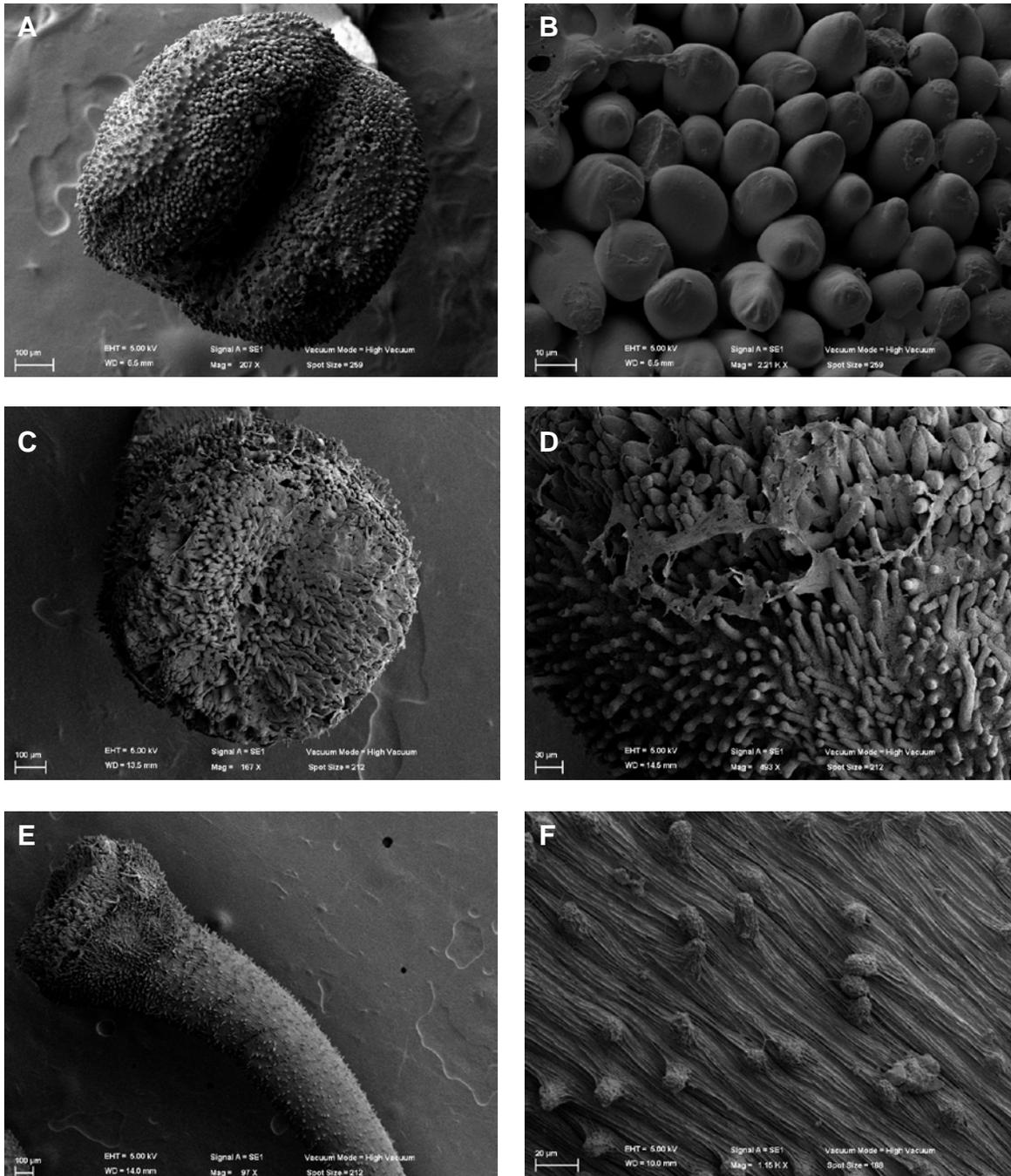
**Figura 20.** Polen visto al microscopio óptico. A-C. *Cestrum oblongifolium*. D-F. *C. roseum*. G-I. *C. uhdei*. A, D, G. Vista polar. B, E, H. Corte óptico a nivel de la exina, se observa el ámbito circular. C, F, I. Vista ecuatorial (escala = 10  $\mu$ m).



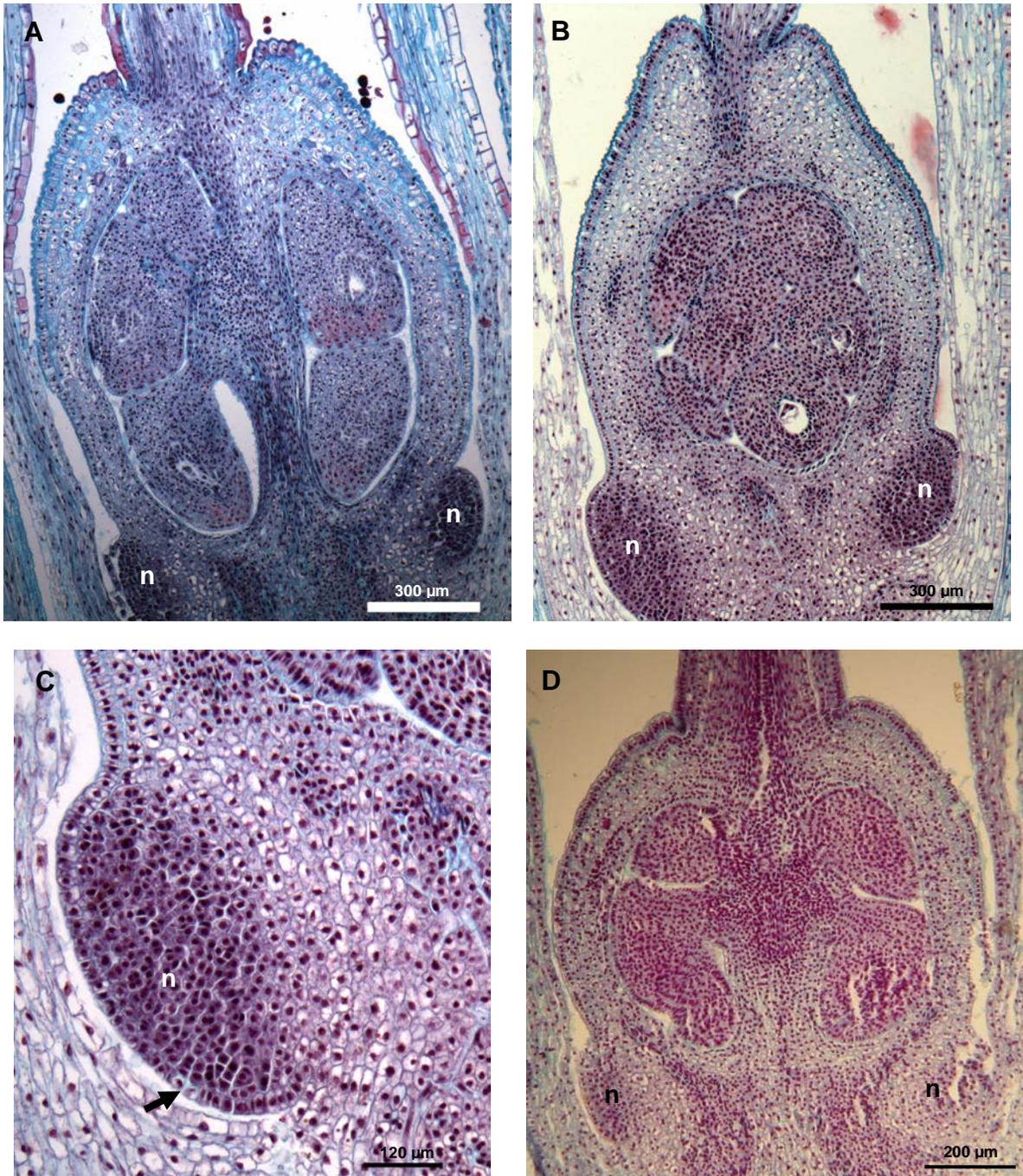
**Figura 21.** Polen de *Cestrum oblongifolium*, *C. roseum* y *C. uhdei*, imágenes del MEB. A-C. Polen de *C. oblongifolium*. D-F. Polen de *C. roseum*. G-I. Polen de *C. uhdei*. A, D y G. Vista polar, se observan las tres aperturas. B, E y H. Apertura en vista ecuatorial. C, F e I. Detalle de la ornamentación rugulada, se observa la membrana granulosa del colpo (flecha).



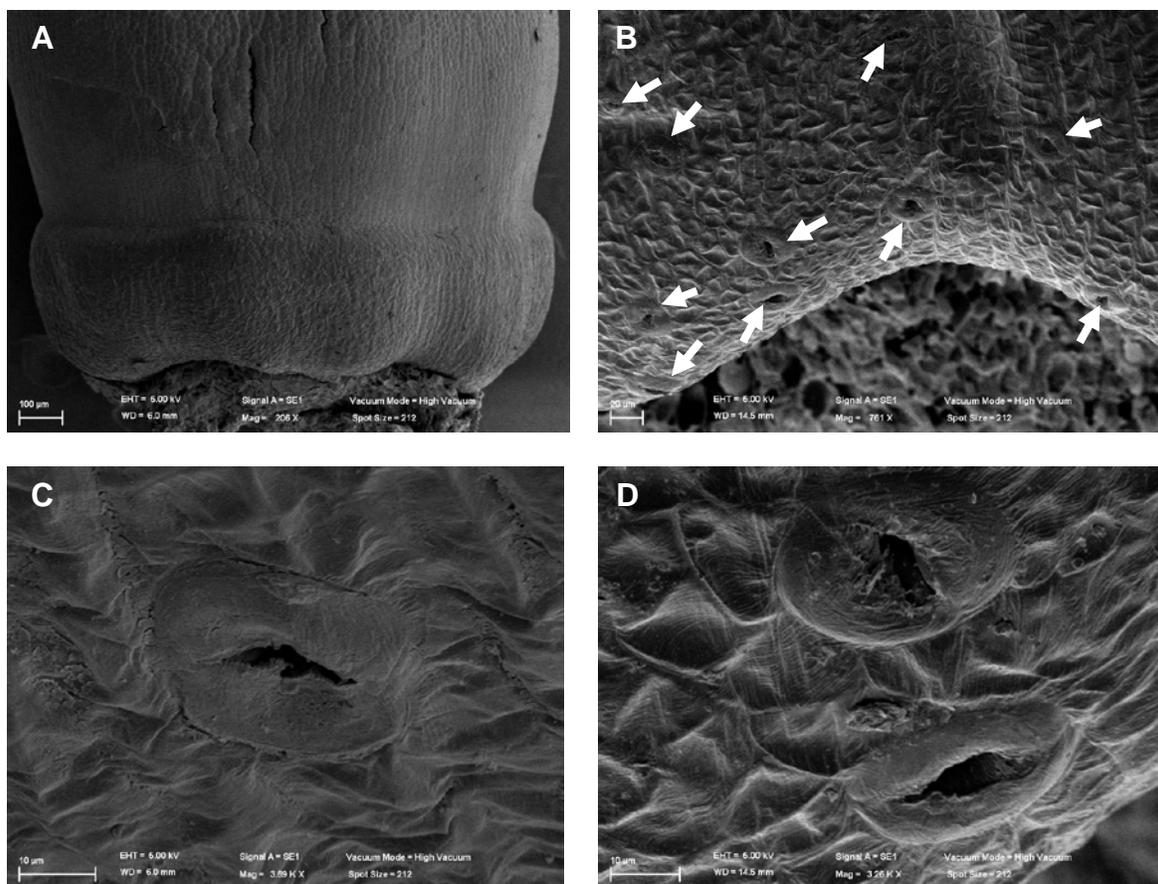
**Figura 22.** Estigma y estilo. A. Sección longitudinal del estigma de *Cestrum oblongifolium*. B. Sección longitudinal del estigma de *C. roseum*. C. Sección longitudinal del estigma de *C. uhdei*. D. Sección transversal del estilo de *C. roseum*. epp = epidermis papilosa, hv = haz vascular, pa = parénquima, tt = tejido de transición.



**Figura 23.** Estigma y estilo, vistos al MEB. A. Superficie del estigma de *Cestrum oblongifolium*. B. Papilas del estigma de *C. oblongifolium*. C. Vista de la superficie del estigma de *C. uhdei*, se observa la secreción del estigma. D. Detalle del estigma de *C. uhdei*. E. Sección transversal del estilo de *C. roseum*. I. Estilo y estigma de *C. uhdei*. F. Detalle de la superficie del estilo de *C. uhdei*.



**Figura 24.** Ovario y nectario. A. Sección longitudinal de ovario de *Cestrum oblongifolium*. B. Sección longitudinal del ovario de *C. roseum*. C. Detalle del nectario de *C. roseum*, se señala un estoma por el que es secretado el néctar. D. Sección longitudinal del ovario de *C. uhdei*. n = nectario



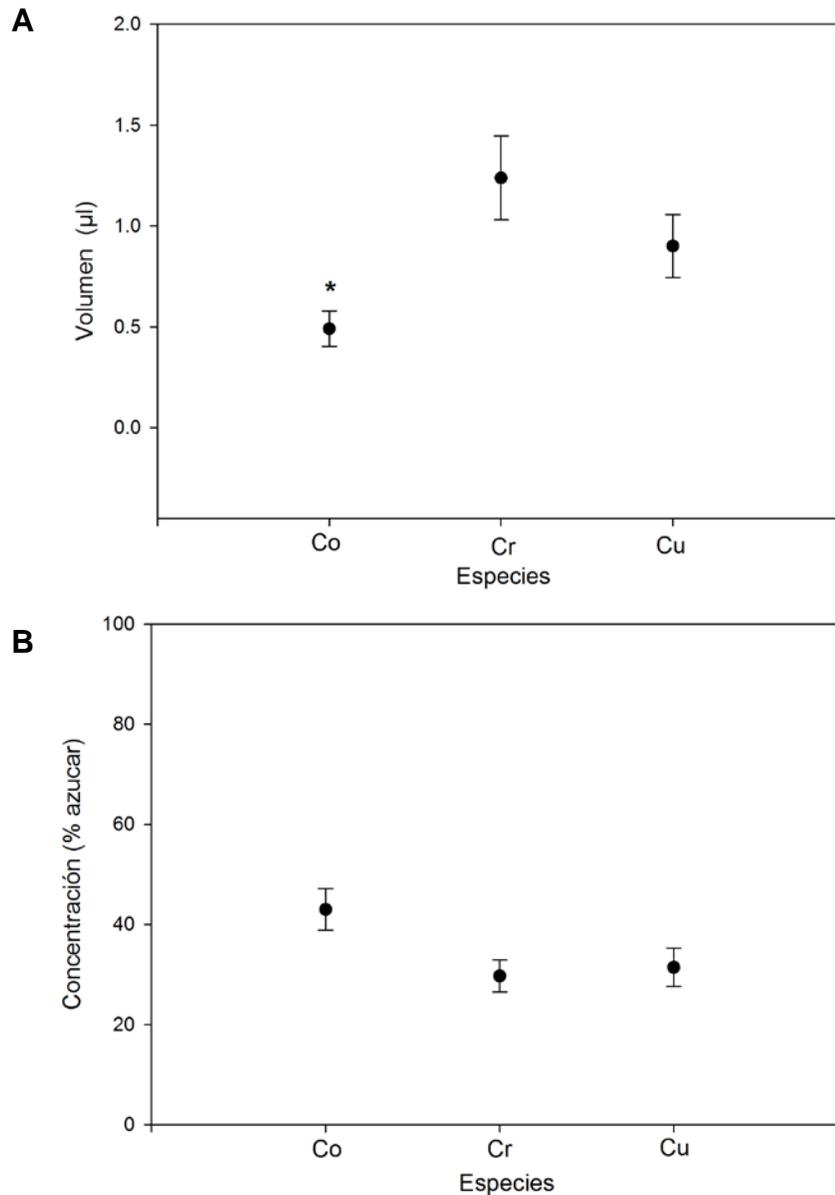
**Figura 25.** Nectario visto al MEB. A. Ovario y nectario de *Cestrum roseum*. B. Epidermis del nectario de *C. roseum* mostrando la posición de los estomas (flechas). C-D. Detalle de los estomas del nectario de *C. roseum* y *C. uhdei* respectivamente.

## Néctar

De las 111 flores muestreadas de *Cestrum oblongifolium*, 132 de *C. roseum* y 93 de *C. uhdei*, 33, 29 y 23 respectivamente tuvieron néctar, es decir, sólo 29.7% de flores de *C. oblongifolium*, 21% de flores de *C. roseum* y 24% de flores de *C. uhdei* contenían néctar.

Las flores de *Cestrum oblongifolium* (n= 33) presentaron un promedio de 0.4 ( $\pm$  0.08)  $\mu$ l de néctar con una concentración de 43% de azúcar, las flores de *C. roseum* (n= 29) presentaron 1.2 ( $\pm$  0.2)  $\mu$ l con una concentración de 29.7%, el volumen de néctar promedio hallado en las flores de *C. uhdei* (n= 23) fue de 0.9 ( $\pm$

0.1)  $\mu\text{l}$  con una concentración de 31.4 %. Sólo el volumen de néctar de las flores de *C. oblongifolium* es significativamente diferente ( $H= 11.255$ ,  $gl= 2$ ,  $P= 0.004$ ), mientras que en la concentración de azúcar del néctar no se hallaron diferencias significativas (Figura 26).



**Figura 26.** Volumen (A) y concentración (B) del néctar disponible a los visitantes (cosecha en pie) de *Cestrum oblongifolium* (Co), *C. roseum* (Cr) y *C. uhdei* (Cu), ( $*P < 0.05$ ). Las barras representan el error estándar de la media.

## Sistema de apareamiento

El número de óvulos por flor en *Cestrum oblongifolium* fue de 10.75 ( $\pm 0.6$ ), en *C. roseum* 9.8 ( $\pm 0.5$ ) y 11.95 ( $\pm 0.5$ ) en *C. uhdei*; el número de granos de polen por flor en *C. oblongifolium* fue de 22750 ( $\pm 2066$ ), en *C. roseum* de 20785.7 ( $\pm 819$ ) y en *C. uhdei* 17821.4 ( $\pm 1231$ ). La relación P/O en para las tres especies indica que el tipo de apareamiento que presentan es xenogamia, es decir, por polinización cruzada (Tabla 4).

Los tratamientos de polinización manual para probar autopolinización, geitonogamia y apomixis en *Cestrum roseum*, *C. oblongifolium* y *C. uhdei* no produjeron frutos, mientras que las que se dejaron a polinización natural sí tuvieron producción de frutos. *C. oblongifolium* produjo 93.7% de frutos, en *C. roseum* se formaron 67.5% de frutos, mientras que *C. uhdei* presentó el valor más bajo con 46.1% de producción de frutos. Estos resultados muestran que las poblaciones de *C. oblongifolium*, *C. roseum* y *C. uhdei* en Charco Azul son autoincompatibles, lo cual se refleja en el índice de autoincompatibilidad obtenido que para las tres especies fue igual a cero, es decir, son totalmente autoincompatibles (Tabla 5).

**Tabla 4.** Relación polen/óvulo (P/O) de *C. oblongifolium*, *C. roseum* y *C. uhdei*.

Especie	n	Polen/flor ( $\pm$ EE)	Óvulos/flor ( $\pm$ EE) (Mín. - Máx.)	P/O ( $\pm$ EE)	Tipo de apareamiento
<i>C. oblongifolium</i>	20	22750 ( $\pm 2066$ )	10.7 ( $\pm 0.6$ ) (6-18)	2215.54 ( $\pm 201.9$ )	Xenogamia
<i>C. roseum</i>	20	20785 ( $\pm 819$ )	9.8 ( $\pm 0.5$ ) (7-16)	2219.88 ( $\pm 131.4$ )	Xenogamia
<i>C. uhdei</i>	20	17821 ( $\pm 1231$ )	11.9 ( $\pm 0.5$ ) (8-17)	1534.62 ( $\pm 114$ )	Xenogamia

$\pm$  EE = error estándar de la media

**Tabla 5.** Porcentaje de frutos producidos en los experimentos de polinización controlada.

Especie	FLORES				FRUTOS				% FRUTOS				IA
	PN	AP	G	A	PN	AP	G	A	PN	AP	G	A	
<i>C. oblongifolium</i>	16	16	5	8	15	0	0	0	93.7	0	0	0	0
<i>C. roseum</i>	74	50	6	7	50	0	0	0	67.5	0	0	0	0
<i>C. uhdei</i>	13	9	7	7	6	0	0	0	46.1	0	0	0	0

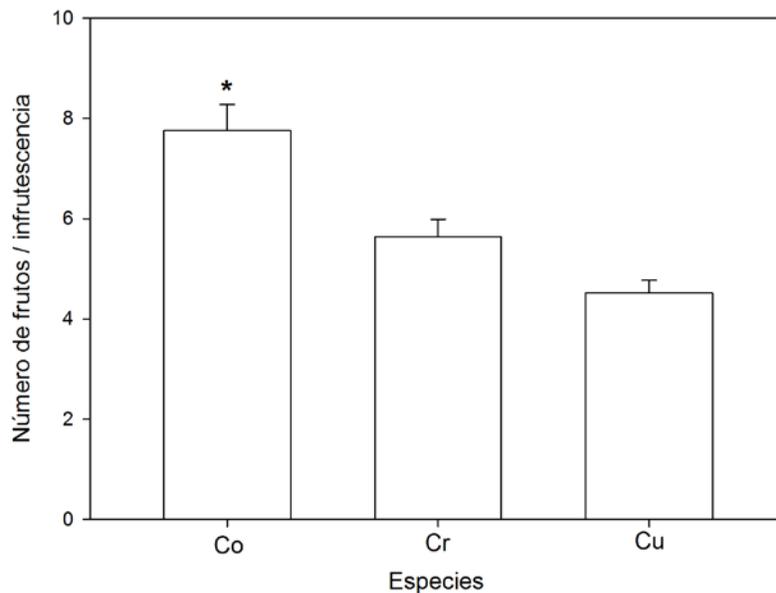
PN = Polinización natural, AP = Autopolinización, G = Geitonogamia, A = Apomixis. IA = Índice de autoincompatibilidad (1 = autoincompatible a 0 = totalmente incompatible)

El número de frutos producidos por infrutescencia en *Cestrum oblongifolium* fue de 7.7 ( $\pm$  0.5) que es significativamente diferente ( $H= 25.135$ ,  $gl= 2$ ,  $P<0.001$ ) a las otras dos especies que presentaron menor cantidad de frutos por infrutescencia, con 5.6 ( $\pm$  0.3) y 4.5 ( $\pm$  0.2) frutos en *C. roseum* y *C. uhdei* respectivamente (Figura 27). Los frutos de las tres especies contenían dos tipos de semillas, maduras y abortadas, estas últimas son de menor tamaño (Figura 28A) y todas las semillas maduras presentaron embriones vivos (ver Figura 28B). El número total de semillas por fruto fue de 8.2 ( $\pm$  0.4) en *C. oblongifolium*, *C. roseum* tuvo el mayor número de semillas por fruto con 9.8 ( $\pm$  1), mientras que *C. uhdei* presentó el menor número de semillas con 6.8 ( $\pm$  1.1) por fruto, sin embargo, no se encontraron diferencias significativas entre especies ( $F= 2.55$ ,  $gl= 2$ , 23;  $P= 0.102$ ; Figura 29).

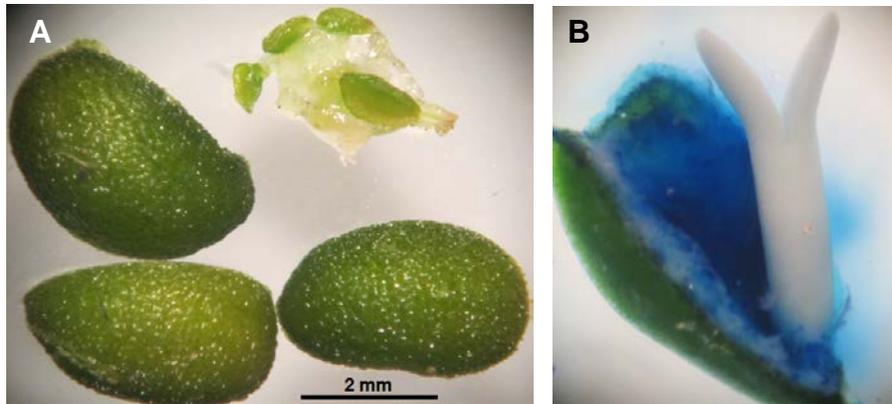
Aunque en el total de semillas por fruto es similar entre las especies, el número de semillas maduras y abortadas por fruto difiere en las tres especies de *Cestrum*. Los frutos de *C. oblongifolium* tenían 4.3 ( $\pm$  0.5) semillas maduras y 3.9 ( $\pm$  0.7) abortadas. *C. roseum* presentó el mayor número de semillas maduras por fruto con 9.5 ( $\pm$  0.9) y fue significativamente diferente a las otras dos especies de *Cestrum* ( $F= 21.742$ ,  $gl= 2$ , 23;  $P<0.001$ ), y tuvo sólo 0.3 ( $\pm$  0.3) semillas abortadas. *C. oblongifolium* y *C. roseum* difieren significativamente en el número de semillas abortadas ( $H = 8.979$ ,  $gl = 2$ ,  $P= 0.011$ ). Los frutos de *C. uhdei*

presentaron  $3.2 (\pm 0.6)$  semillas maduras y  $3.5 (\pm 1.2)$  semillas abortadas (Figura 29).

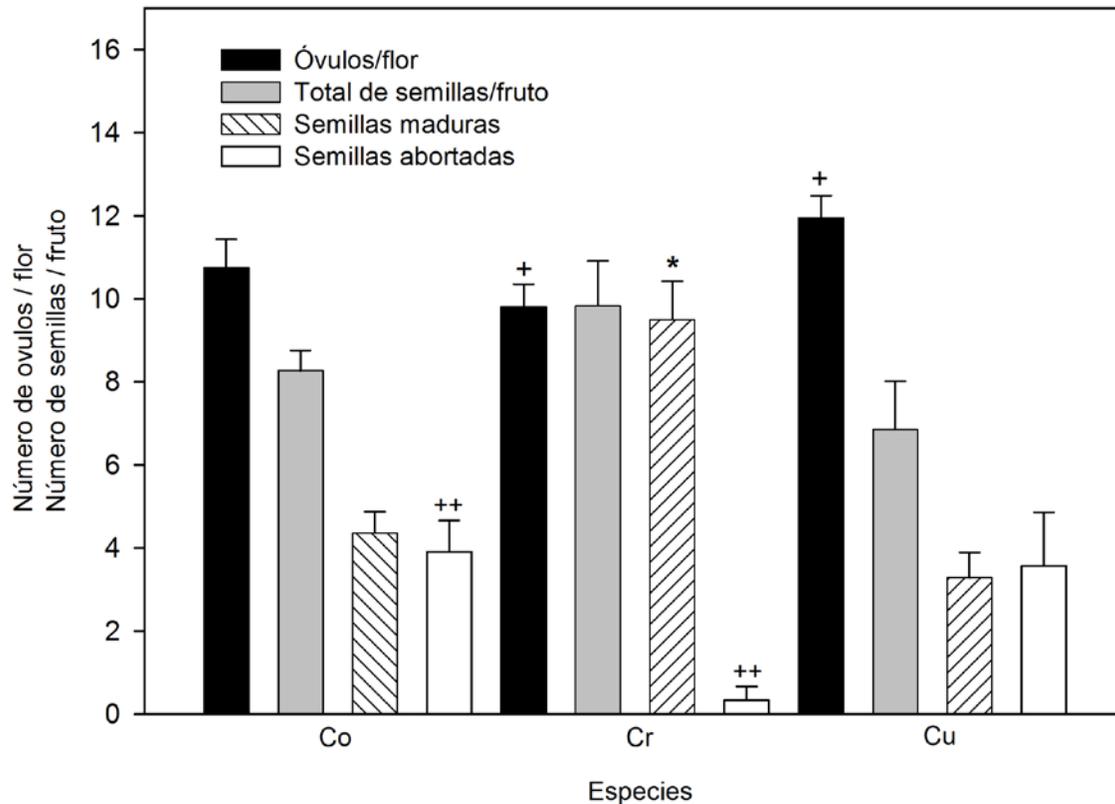
Con relación al número de óvulos que producen las flores de cada especie, se observa que en *C. oblongifolium* el 76% son fecundados, es decir, de los 10.7 óvulos que tiene una flor, 8.2 se desarrollan y forman semillas de las cuales sólo el 52.4% (4.3 semillas) llegan a su madurez. En *C. roseum* el 100% de los óvulos son fecundados (9.8 óvulos), y 96.9% llegan a ser semillas maduras, por lo anterior es la especie con mayor porcentaje de fecundación y producción de semillas maduras. *C. uhdei* presentó el menor porcentaje de fecundación con 57% de óvulos fecundados, de los cuales 47% llegan a ser semillas maduras, que es también el valor más bajo de producción de semillas maduras por fruto (Figura 29).



**Figura 27.** Producción de frutos por infrutescencia. Co= *Cestrum oblongifolium*, Cr= *C. roseum*, Cu= *C. uhdei*. Las barras representan el error estándar de la media (\* $P < 0.05$ ).



**Figura 28.** Semillas. A. Semillas maduras y abortadas de un fruto de *Cestrum oblongifolium*, nótese la diferencia en su tamaño. Semilla de *C. roseum*, se muestra el resultado de la prueba con azul Evans, con la cual los tejidos muertos o dañados se tiñen de azul, mientras que las células vivas permanecen sin colorearse. Se observa el embrión sin teñir indicando que es tejido vivo.



**Figura 29.** Media de óvulos por flor y semillas totales, maduras y abortadas por fruto. Co= *Cestrum oblongifolium*, Cr= *C. roseum*, Cu= *C. uhdei*. Las barras representan el error estándar de la media. + = Diferencias significativas en el número de óvulos entre *C. roseum* y *C. uhdei* ( $P < 0.05$ ). \* = Diferencias significativas en el número de semillas maduras de *C. roseum* ( $P < 0.05$ ). ++ = Diferencias significativas en el número de semillas abortadas por fruto entre *C. oblongifolium* y *C. roseum* ( $P < 0.05$ ).

## Visitantes florales

Los principales visitantes a las flores de *Cestrum oblongifolium*, *C. roseum* y *C. uhdei* fueron visitadas por diez especies de mariposas, ocho de ellas identificadas y pertenecientes a cuatro familias: Hesperidae, Nymphalidae, Papilionidae y Pieridae (Tabla 6 y Figura 30). Las tres especies de *Cestrum* fueron visitadas por las mariposas *Dione moneta* Hübner, 1825 (Figura 30G y H) de la familia Nymphalidae (subfamilia Heliconiinae) y *Catantix nimbice* Boisduval, 1836 (Figura 30E y F) de la familia Pieridae (subfamilia Pierinae). *D. moneta* presentó mayor preferencia por las flores de *Cestrum*, mientras que *C. nimbice* en ocasiones prefería visitar especies de Asteraceae. Las visitas de las mariposas ocurrieron de las 9 am hasta las 4 pm, pero fueron más frecuentes en la mañana de las 9 am a las 12 pm. Las visitas de las mariposas se consideraron legítimas debido a que durante la toma de la recompensa hubo contacto de la probóscide con anteras y estigma. Las visitas de las mariposas duran aproximadamente 2 a 10 segundos. La colecta de *D. moneta* y *Urbanus proteus* Linneo 1758, mostró que es en la probóscide donde se acumula la carga de polen y no fue detectado en otras partes del cuerpo de las mariposas. En *D. moneta* la carga polínica correspondió sólo a granos de polen de *Cestrum*, lo que coincide con su comportamiento pues fue la especie que más visitó a las tres especies y con mayor constancia floral (Figura 31A y B). En la probóscide de *U. proteus* se observó carga polínica que corresponde en su mayoría a granos de polen de *Cestrum*, sin embargo, también se detectó algunos granos de polen de Asteraceae (Figura 31 C-E). *C. nimbice* no presentó polen de *Cestrum* en la probóscide, sólo algunos granos de Asteraceae (Figura 31F-H).

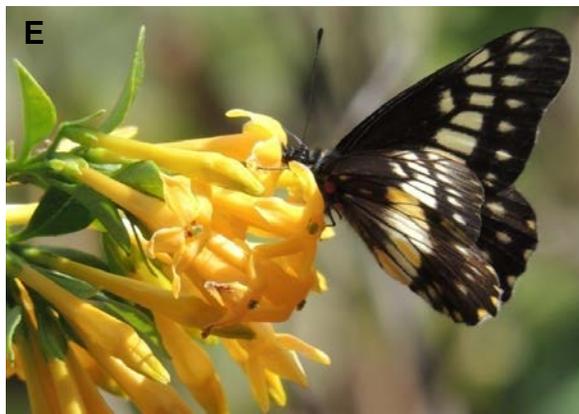
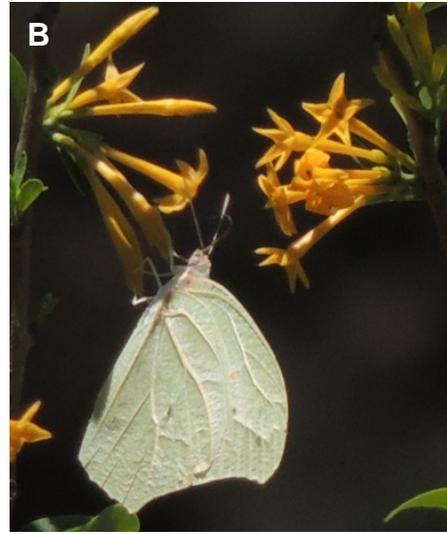
Tres especies de colibríes fueron observadas en el sitio de estudio y las tres hicieron visitas a las flores de *Cestrum* (Tabla 6). Sólo dos de ellas pudieron ser identificadas como *Hylocharis leucotis* y *Eugenes fulgens*. El colibrí que no pudo ser identificado visitó flores de *C. oblongifolium*. *H. leucotis* visitó flores de las tres especies de *Cestrum* (Figura 32A) y se le observó alimentándose de insectos de las cortezas de los árboles (Figura 32B). *E. fulgens* visitó flores de *C. oblongifolium*

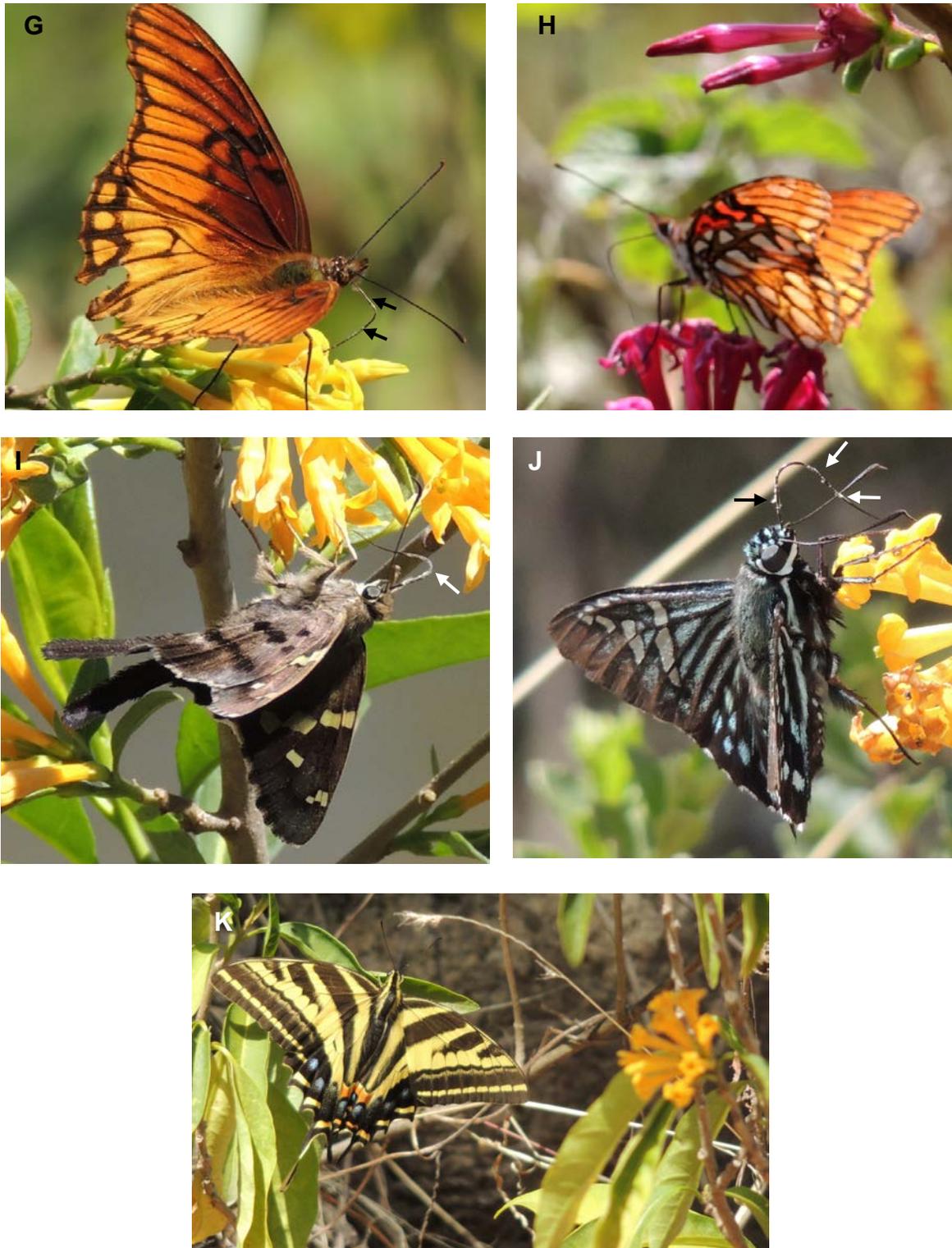
y *C. uhdei*. Todas las visitas de los colibríes ocurrieron al medio día (11 am – 1 pm) y fueron poco frecuentes, se observaron sólo en los meses de abril del 2012 y febrero y abril del 2013.

**Tabla 6.** Visitantes florales de *C. oblongifolium* (Co), *C. roseum* (Cr) y *C. uhdei* (Cu) en la localidad de Charco Azul.

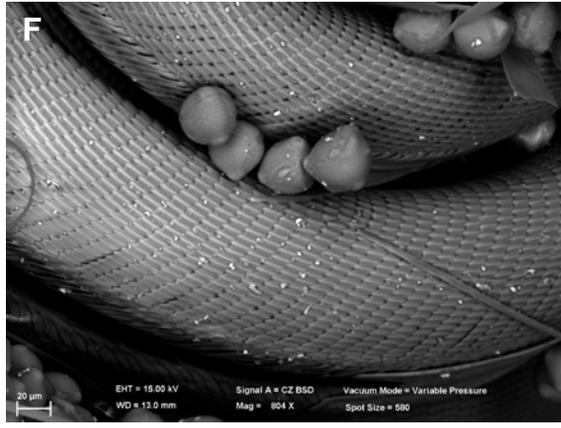
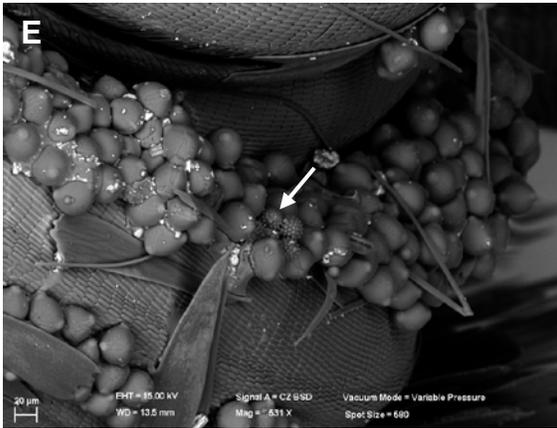
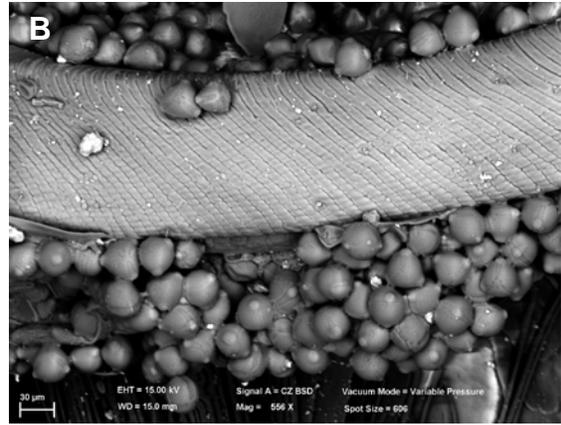
Grupo funcional	Familia	Subfamilia	Especie	Co	Cr	Cu
Mariposas (diurnas)	Papilionidae	Papilioninae	<i>Battus philenor</i>	+		
	Pieridae	Coliadinae	<i>Anteos clorinde</i>	+		
	Pieridae	Coliadinae	<i>Phoebis</i> sp.	+		
	Pieridae	Coliadinae	<i>Zerene cesonia</i>	+		
	Pieridae	Pierinae	<i>Catasticta nimbice</i>	+	+	+
	Nymphalidae	Heliconiinae	<i>Dione moneta</i>	+	+	+
	Hesperiidae	Pyrginae	<i>Urbanus proteus</i>	+		
	Hesperiidae	Pyrginae	<i>Phocides urania</i>	+		
	-	-	Morfo-especie negra	+		
	-	-	Morfo-especie amarilla*	+		
Colibríes	Trochilidae		<i>Hylocharis leucotis</i>	+	+	+
	Trochilidae		<i>Eugenes fulgens</i>	+		+
	Trochilidae		No identificado	+		

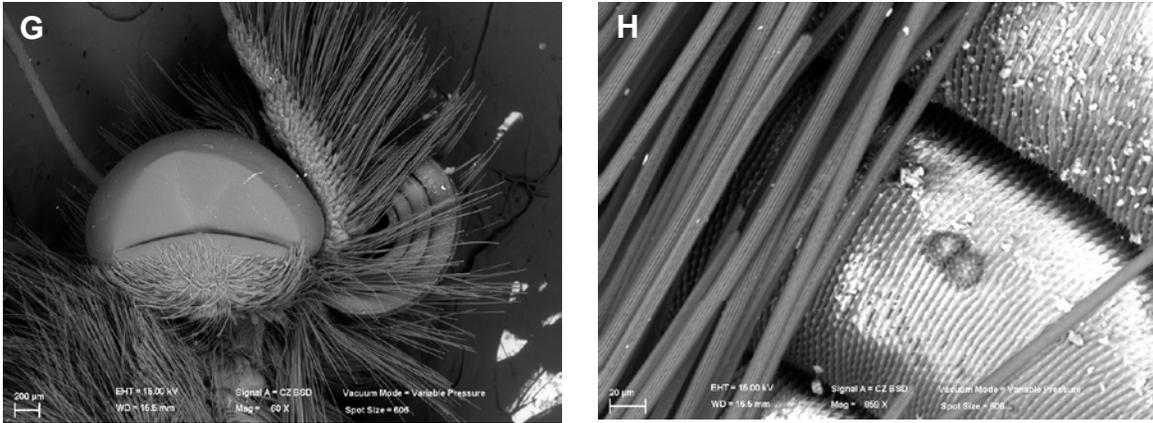
\*Probablemente: *Papilio multicaudata* (Papilionidae), se pudo observar más de cerca en la parte vegetativa de la planta y fue la única en el sitio con las características de color y tamaño en el sitio que concuerda con la especie visitante.





**Figura 30.** Especies de mariposas que visitaron las flores de *Cestrum*. A. *Battus philenor*. B. *Anteos clorinde*. C. *Phoebis* sp. D. *Zerene cesonia*. E-F. *Catantix nimbice*. G-H. *Dione moneta*. I. *Urbanus proteus*. J. *Phocides urania*. K. *Papilio multicaudata*. Las flechas señalan la carga polínica.





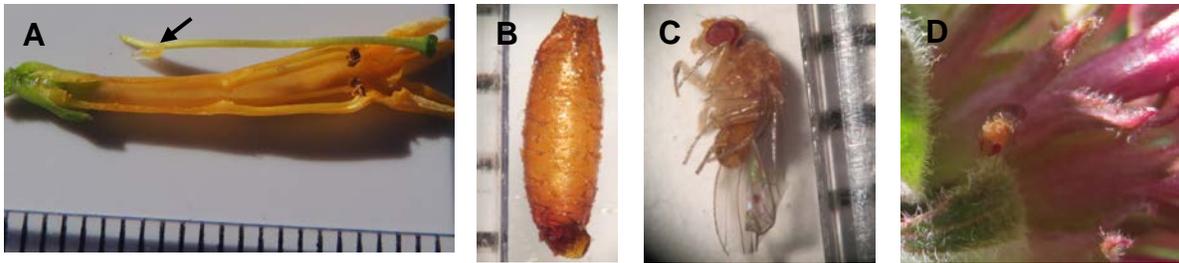
**Figura 31.** Carga polínica en tres mariposas visitantes. A. Cabeza de *Dione moneta*, la carga polínica es llevada en la probóscide. B. Detalle de la probóscide de *D. moneta* donde se aprecia el polen de *Cestrum*. C-D. Probóscide de *U. proteus*, se observa la carga de polen. E. Detalle de la probóscide de *U. proteus*, en su mayoría lleva granos de polen de *Cestrum* y algunos granos de Asteraceae (flecha). F. Cabeza y probóscide de *C. nimbice*. G. Detalle de la probóscide de *C. nimbice* con sólo un par de granos de polen de Asteraceae.



**Figura 32.** *Hylocharis leucotis*. A. Visitando flores de *Cestrum oblongifolium* y *C. roseum*. B. Alimentándose de insectos de la corteza de los árboles.

Durante el trabajo de campo se pudo observar a otros insectos en las flores de *Cestrum*. Dentro de las flores tanto abiertas como en botones de las tres especies de *Cestrum*, se encontraron larvas y pupas de *Drosophila* (Figura 33A y B), generalmente un sólo individuo por flor, en la en la base de la corola. Dos adultos de *Drosophila* fueron identificados (por el Biól. Aldo Téllez) como *Drosophila lutzii*, que visitó flores de *C. roseum* y *Drosophila ananassae* (Figura 33) que se obtuvo de una de las bolsas utilizadas para aislar las flores de *C. oblongifolium* para los experimentos de polinización manual.

Dentro de las corolas se encontraron trips (Thysanoptera). En la parte externa de las flores se observaron homópteros y coleópteros que también distribuían en la parte vegetativa de las plantas. Hormigas del género *Liometopum* se encontraron en la parte vegetativa y ocasionalmente entraron a las flores. Se observó la visita de una avispa y una mosca a las flores de *C. oblongifolium* (Figura 34).



**Figura 33.** *Drosophila* hallada en las flores de *Cestrum*. A. Larva (flecha) de *Drosophila* en una flor de *C. oblongifolium*. B. Pupa de *Drosophila* hallada en una flor de *C. oblongifolium*. C. *Drosophila ananassae* encontrada en las flores de *C. oblongifolium*. D. *D. ananassae* visitó flores de *C. roseum* (escalas en mm).



**Figura 34.** Otros organismos que mostraron interacción con las especies de *Cestrum*. A. Hormigas del género *Liometopum*. B. Avispa *Polybia*? C. Díptero. D. Trip (*Thysanoptera*) en una flor de *C. uhdei*, también se encontraron en flores de *C. oblongifolium* y *C. roseum*. E. Homóptero en el cáliz de *C. roseum*. F. Coleóptero.

## VII. DISCUSIÓN

Las flores de *Cestrum oblongifolium* y *C. roseum* presentan antesis diurna tal como es señalado por Nee (1986) y D'Arcy (1999) y de igual forma *C. uhdei*. La longevidad de la flor en los tres casos es de cuatro días, mientras que en especies de *Cestrum* con antesis nocturna la flor tiene un tiempo de vida de dos días (Castro-Laporte y Ruíz-Zapata, 2000a). El tiempo prolongado de vida de los verticilos reproductivos de la flor incrementa las posibilidades de que ocurra polinización. Las flores de *C. oblongifolium*, *C. roseum* y *C. uhdei* tienen un tiempo de exposición de polen amplio (3-4 días) debido a la dehiscencia secuencial de las anteras, el estigma permanece receptivo hasta las últimas etapas de la vida de la flor, y no hay una separación temporal clara de las funciones reproductivas, en tal caso, Lloyd y Webb (1986) describen esta ausencia de dicogamia como adicogamia.

El despliegue floral fue mayor en *Cestrum oblongifolium* con hasta 79 inflorescencias por individuo en el pico de floración y también es la especie con inflorescencias más densas con un promedio de 10.6 flores. Despliegues florales grandes son más atractivos a los visitantes (Arroyo *et al.*, 2007) y pueden favorecer una mayor adecuación al incrementar la exportación e importación de polen, pero también propician que los movimientos de los visitantes ocurran entre flores o inflorescencias de la misma planta lo que puede llevar a producir descendencia por geitonogamia (Karron *et al.*, 2004), este patrón de visitas fue observado en las mariposas. Aunque las especies de *Cestrum* de Charco Azul son autoincompatibles y el despliegue floral amplio podría representar una estrategia benéfica en la atracción de visitantes, el polen transferido por geitonogamia tiene un efecto negativo sobre la adecuación femenina al interferir en la recepción de polen xenógamo, e incide negativamente en la adecuación masculina al disminuir la cantidad de polen que puede transferirse entre individuos (Klinkhamer y de Jong, 1993).

En comparación con *C. oblongifolium*, los individuos de *C. roseum* y *C. uhdei* presentaron menor número de inflorescencias, este despliegue floral favorece las visitas de los polinizadores entre individuos, como fue observado en el caso de los colibríes. Individuos de las tres especies se distribuyen muy cercanamente, por lo tanto, el despliegue floral de las tres puede ser detectado como una unidad por los visitantes y de esta manera *C. roseum* y *C. uhdei* podrían beneficiarse del despliegue floral de *C. oblongifolium* al recibir más vistas, esto es apoyado por la preferencia de las mariposas hacia despliegues florales grandes (Arroyo *et al.*, 2007), sin embargo, el despliegue floral conjunto también propicia flujo de polen interespecífico. Por lo anterior, futuros estudios serán necesarios para evaluar la carga polínica en el estigma y la competencia polínica y determinar el efecto del polen transferido por geitonogamia en la adecuación de estas especies, así como el efecto de la transferencia de polen interespecífico y posibles eventos de hibridación en esta localidad.

Las tres especies de *Cestrum* coinciden en el periodo de floración (cuatro meses) y mantienen el pico de floración al mismo tiempo. Las poblaciones de *C. oblongifolium* y *C. uhdei* mantuvieron una proporción más grande de individuos en floración, con más del 80%, mientras que sólo cerca del 60% de los individuos de *C. roseum* produjeron flores. La coincidencia en el momento de la antesis y el tiempo de floración de floración (incluyendo el pico de floración) sugiere que las especies de *Cestrum* de Charco Azul podrían tener una estrategia de facilitación al compartir polinizadores, es decir, que la presencia de individuos congenéricos tiene efectos positivos al atraer a los visitantes, este fenómeno se ha observado en otras especies que al estar en una población con individuos congenéricos mantienen niveles más altos de polinización que cuando están solas (Moeller, 2004). Estudios posteriores en los que se evalúe la polinización y éxito reproductivo de *C. oblongifolium*, *C. roseum* y *C. uhdei* en sitios donde sólo se encuentre una o dos especies son necesarios para probar dicha propuesta.

Con información de las colectas de herbario se mostró que *C. oblongifolium* en otros sitios de México florece de noviembre a abril, similar a lo encontrado en la

población de Charco Azul, mientras que *C. roseum* presenta floración todo el año con el pico de floración en abril. La fenología de *C. oblongifolium* y *C. roseum* a nivel nacional coincide con lo descrito por Nee (1986).

En lo referente a las características de la morfología y anatomía de las flores de *Cestrum* relacionadas al síndrome de polinización, en las tres especies la longitud del tubo floral es significativamente distinta, sin embargo, las mariposas y colibríes parece que no se ven afectados en la toma de néctar por este rasgo, ya que son capaces de alcanzar la recompensa (néctar al fondo del tubo floral). Las familias a las que pertenecen las mariposas visitantes tienen probóscides de 12 a 17 mm (Corbert, 2000) y los colibríes visitantes tienen picos de 17 a 28 mm (Arizmendi *et al.*, 1996). El color tampoco es una condición que discrimine a los dos grupos de visitantes, pues tanto mariposas como colibríes pueden ver el rojo y amarillo (Reddi y Bai, 1984; Williamson, 2001; Pohl *et al.*, 2011). Sin embargo, sí tiene un efecto dentro del grupo de las mariposas ya que especies de las familias Nymphalidae y Pieridae son sensibles al amarillo, anaranjado y rojo, mientras que los miembros de la familia Hesperidae son más sensibles al amarillo y anaranjado, pero no al rojo (Reddi y Bai, 1984), esto concuerda con lo observado en este trabajo pues *D. moneta* (Nymphalidae) y *C. nimbice* (Pieridae) visitaron las flores de las tres especies de *Cestrum* y las dos especies de Hesperidae que se observaron sólo visitaron a *C. oblongifolium*.

El cáliz es de mayor tamaño en las flores de *C. roseum* y *C. uhdei*, y tal como lo señala D'Arcy (1999) protege el ovario y nectario. El tipo de venación del cáliz coincide con el descrito por Hamed y Mourad (2004) para otras especies del *Cestrum*, por lo que este rasgo tal como lo señalan dichos autores parece ser consistente a nivel de género. En las tres especies, la parte basal de los filamentos está fusionada a la corola, el punto de inserción está formado por tejido parénquimático con epidermis provista de tricomas, después son geniculados. Los tricomas de esa parte del filamento pueden estar evitando pérdida de néctar por evaporación, tal como en la hoja ayudan a regular la evapotranspiración (Evert, 2006). Los ángulos que se forman de la unión de los cinco filamentos estrecha el

diámetro interno de la corola, esto provee de protección al ovario y nectario, coincidiendo con lo propuesto por D'Arcy (1996) para este tipo de estambres. Las anteras presentan dehiscencia longitudinal, latrorsa y debido al ángulo que adquieren los filamentos en las flores de *Cestrum*, las anteras se posicionan en dirección al centro de la corola, estas características favorecen que el polen se adhiera a la probóscide o pico de los visitantes. Durante la visita a la flor, las mariposas introducen la probóscide en los espacios que hay entre estambres, donde el polen quedó expuesto y es retirado fácilmente con el movimiento de la probóscide, lo mismo puede ocurrir con los picos de los colibríes.

En las anteras no se observaron cristales de oxalato de calcio, que suelen encontrarse en la mayoría de las solanáceas y que han sido relacionados con síndromes de polinización en los que el polen es la principal recompensa (D'Arcy *et al.*, 1996). Castro-Laportte *et al.* (1999) y Castro-Laportte y Galati (2012) tampoco lo mencionan para otras especies de *Cestrum*. Esto apoya la idea de que el polen no es una recompensa ofrecida por las especies de estudio. La morfología del polen en los tres casos es similar a la descrita por González-Quintero (1969), Gentry (1986) y Polo y Diez (1986) para otras especies de *Cestrum* y apoya la afirmación de Gentry (1986) sobre la homogeneidad en la morfología del polen de las especies de *Cestrum* comparado con otros géneros de la sección *Cestreae* como *Nicotiana*. El ovario es globoso y bicarpelar, como en otras especies de la familia Solanaceae (Murray, 1945), con el nectario en su base formando un anillo conspicuo (Figura 13A-D), característica que se ha observado en otras solanáceas (Bernardello, 2007), el mecanismo de secreción de néctar son estomas especializados. La posición y tipo de nectario así como la forma de la corola favorecen la acumulación del néctar en la base de la flor.

En las tres especies sólo cerca del 30% de las flores que se muestrearon contenían néctar. De manera similar, Haber y Frankie (1989) encontraron néctar en 42% de las flores muestreadas de *Cestrum alternifolium*. La ausencia de néctar en la flor puede deberse a previa remoción por parte de los visitantes, evaporación, reabsorción, o que no produjeron néctar. La producción de néctar

representa una inversión energética para las plantas (Pike, 1991) y se ha señalado que en un individuo puede tener flores que no producen néctar, pero obtienen el beneficio de la polinización debido a que los visitantes no pueden discriminar entre las flores que tienen o no la recompensa (Gilbert *et al.*, 1991). Probablemente las especies de *Cestrum* aquí estudiadas usan un despliegue floral alto y engaño para equilibrar el gasto energético y obtener el beneficio de la polinización a menor costo. Esta posible estrategia deberá ser probada en estudios posteriores en los que se analice la producción de néctar de flores dentro y entre las inflorescencias de los individuos.

El néctar disponible a los visitantes (cosecha en pie) en *Cestrum oblongifolium*, *C. roseum* y *C. uhdei* se encontró en pequeñas cantidades, 0.4  $\mu$ l, 1.2  $\mu$ l, y 0.9  $\mu$ l por flor respectivamente y fue significativamente ( $P= 0.004$ ) menor en *C. oblongifolium*. Se ha indicado que el tiempo que pasan las mariposas en la flor está directamente afectado por la cantidad de néctar, cuando hay poco néctar disponible las visitas son cortas y esto propicia mayor movimiento de las mariposas entre flores (Reddi y Bai, 1984). Este patrón coincide con lo observado en este trabajo pues las flores de *Cestrum* tienen bajo o nulo volumen de néctar disponible, esto puede ser interpretado como un mecanismo que incrementa el número de visitas y maximiza la importación y exportación de polen.

La concentración de azúcar en el néctar varió de 29.7% en *C. roseum* a 43% en *C. oblongifolium*. *C. uhdei* presentó una concentración intermedia con 31.4 %, sin embargo, no se encontraron diferencias significativas. En los tres casos se trata de néctar con una concentración relativamente alta. En comparación con las especies *C. alternifolium* y *C. nocturnum* de floración nocturna (Haber y Frankie, 1989), *C. oblongifolium*, *C. roseum* y *C. uhdei*, presentaron mayor cantidad de néctar y con una concentración de azúcar más alta.

El volumen y concentración de azúcar del néctar de *C. oblongifolium*, *C. roseum* y *C. uhdei* coincide con el néctar preferido por insectos (Hainsworth y Wolf, 1976), y en particular por las mariposas que consumen néctar con 25 a 40%

de azúcar (Boggs, 1988; Erhardt, 1992), pero no corresponde al tipo de néctar de flores visitadas por colibríes los cuales prefieren mayor cantidad de néctar diluido (Baker, 1975; Stiles, 1976; Johnson y Nicolson, 2008; Cronk y Ojeda, 2008). Sin embargo, los colibríes también pueden visitar flores con bajos volúmenes de néctar porque no implica un costo energético alto. Lo anterior sugiere que *H. leucotis* y *E. fulgens* consumen el néctar de *Cestrum* como un recurso secundario, lo que concuerda con el comportamiento de *H. leucotis* que durante el pico de floración fue observado alimentándose de insectos de la corteza de los árboles. Los colibríes, especialmente los de mayor tamaño complementan su dieta con insectos (Williamson, 2001).

Sobre el sistema reproductivo de las especies de *Cestrum* se encontró que el número de óvulos por flor de *Cestrum oblongifolium* fue de 10.7, en *C. roseum* de 9.8 y en *C. uhdei* 11.9, en el caso de *C. oblongifolium* y *C. uhdei* el número de óvulos coincide con lo descrito por Francey (1935) y Pérez-Hernández (2001), sin embargo, el número de óvulos de *C. roseum* en la población de estudio fue menor a lo descrito por Pérez-Hernández (2001) quien señala que esta especie presenta 12 a 20 óvulos por flor. El número de óvulos en estas especies es mayor al que presentan las especies de *Cestrum* con floración nocturna estudiadas por Castro Laportte y Ruíz-Zapata (2000b) las cuales tienen de 6 a 10 óvulos por flor.

La relación P/O en las tres especies de estudio mostró valores (1534.6 en *Cestrum oblongifolium*, 2219.8 en *C. roseum* y 2215.5 en *C. uhdei*) correspondientes con xenogamia como su tipo de apareamiento (Cruden, 1977) y coincide con los resultados obtenidos de los experimentos de polinización controlada, debido que sólo se formaron frutos bajo polinización natural o cruzada (xenogamia). Además, no se formaron frutos por autopolinización ni geitonogamia, lo que indica que se trata de especies autoincompatibles, como se ha propuesto para otras especies en el género (Castro-Laportte y Ruíz Zapata, 2000b; Aguilar y Galetto, 2004). El IA calculado para las tres especies fue igual a cero, es decir, son completamente autoincompatibles y tampoco se encontró formación de frutos por apomixis. Los valores de la relación P/O y los resultados de los experimentos

de polinización manual reflejan que las poblaciones de *C. oblongifolium*, *C. roseum* y *C. uhdei* en Charco Azul requieren de polinización cruzada (xenogamia) para lograr la reproducción sexual, y en consecuencia dependen de los polinizadores para su éxito reproductivo. Los valores de la relación P/O en *C. oblongifolium*, *C. roseum* y *C. uhdei* son menores a los reportados en especies de *Cestrum* de floración nocturna (Castro-Laportte y Ruíz-Zapata, 2000b). La incompatibilidad resulta especialmente importante en estas especies para prevenir la descendencia por autogamia ya que en ninguna hay una separación espacial (hercogamia) o temporal (dicogamia) de las funciones reproductivas.

La polinización bajo condiciones naturales es altamente exitosa en *Cestrum oblongifolium* con un 93% de formación de frutos con respecto a las flores iniciales, esto refleja que la inversión energética que hace al tener un despliegue floral alto es una estrategia exitosa y que sus polinizadores son muy eficientes. En *C. roseum* y *C. uhdei* la polinización natural tuvo un porcentaje de formación de frutos del 67.5 % y 46% respectivamente, que es considerablemente más bajo que en *C. oblongifolium*, pero en los tres casos la polinización natural fue exitosa que en especies de *Cestrum* con floración nocturna, donde el porcentaje de frutos producidos fue de 19 a 39% (Castro-Laportte y Ruíz-Zapata, 2000b). Valores inferiores de P/O y mayor éxito en la polinización natural indica que los polinizadores de *C. oblongifolium*, *C. roseum* y *C. uhdei* son más eficientes en relación a los de especies de *Cestrum* de Venezuela con floración nocturna visitadas por mariposas nocturnas pequeñas (Castro-Laportte y Ruíz-Zapata, 2000a; Castro-Laportte y Ruíz-Zapata, 2000b).

Las infrutescencias más densas las presentó *Cestrum oblongifolium* con 7.7 frutos en promedio. Los frutos de las tres especies de estudio presentaron semillas maduras y abortadas, es decir, que no llegan a desarrollarse por completo, lo cual difiere de lo encontrado en cinco especies de *Cestrum* de Venezuela (*C. bigibbosum*, *C. microcalyx*, *C. megalophyllum*, *C. potaliifolium* y *C. salicifolium*; Castro-Laportte y Ruíz-Zapata, 2000b) las cuales no mostraron aborto de semillas. Los resultados de este trabajo mostraron que el total de semillas formadas por

fruto, aspecto que está relacionado a la fecundación de los óvulos y por ende a la polinización, no difiere entre las especies. Sin embargo, el número de semillas maduras y abortadas por fruto, es diferente entre especies y este aspecto está relacionado a la asignación de recursos en la planta. En *C. oblongifolium* el 76% de los óvulos son fecundados, de los cuales sólo el 52.4% llega a completar su desarrollo y el resto son semillas abortadas. En *C. roseum* el 100% de los óvulos son fecundados y sólo el 3.1% de las semillas son abortadas, es la especie con mayor número de semillas maduras por fruto. En *C. uhdei* el 57% de los óvulos son fecundados y sólo el 47% (3.2 semillas) de estos se desarrollan formando semillas maduras. La población de *C. uhdei* en Charco Azul es pequeña con sólo 13 individuos, por lo que es posible que tenga bajos niveles de fecundación y formación de semillas debido a la limitación de polen. La comparación entre la polinización cruzada manual y la polinización natural podría aportar mayor información sobre este punto. Otras variables como el peso de las semillas, tasa de germinación y éxito en el establecimiento, así como el desempeño de las plántulas entre especies pueden aportar datos sobre el éxito reproductivo a largo plazo de estas especies. En este trabajo sólo se evaluó el éxito de la función femenina (producción de frutos y semillas), un análisis del éxito masculino (remoción de polen, carga de polen, y crecimiento de tubo polínico) podría complementar estos resultados.

El grupo de visitantes florales de *Cestrum oblongifolium*, *C. roseum* y *C. uhdei* lo formaron diez especies de mariposas, ocho de ellas identificadas y pertenecientes a cuatro familias y tres especies de colibríes, dos identificados como *H. leucotis* y *E. fulgens*, que de acuerdo a Fenster *et al.* (2004) pertenecen a dos grupos funcionales lepidópteros y aves y en este caso ambos grupos explotan el mismo recurso (néctar). Todas las especies de mariposas hicieron las visitas en la mañana y cesaron su actividad cerca de las 4 pm, este patrón coincide con lo observado por Cruden y Hermann-Parker (1979), mientras que los colibríes hicieron las visitas a medio día (11 – 1pm). Las mariposas que visitaron flores de *Cestrum*, son diurnas y sus visitas fueron legítimas debido al contacto con los

verticilos reproductivos de la flor y la carga polínica es llevada en la probóscide. *D. moneta* mostró alta preferencia por las flores de *Cestrum* sobre otras flores presentes en el sitio (asteráceas), lo cual representa una ventaja importante para las especies de *Cestrum*, ya que este visitante lleva una carga polínica de mejor calidad.

Los colibríes *H. leucotis* y *E. fulgens* han sido observados anteriormente visitando flores amarillas de *Cestrum* en otras localidades (Arizmendi, 2001; Díaz-Valenzuela y Ortiz-Pulido, 2011). Ambas especies son territoriales y en este estudio no se les observó mostrando algún comportamiento agresivo, esto puede deberse a que las flores de *Cestrum* son una fuente abundante de alimento o no representan un recurso primario para estas aves. *Hylocharis leucotis* es una especie residente, encontrada todo el año en México (Arizmendi *et al.*, 2010), presenta un culmen expuesto (parte superior del pico) de cerca de 17 ( $\pm 0.8$ ) mm de longitud (Arizmendi *et al.*, 1996), menor a la longitud del tubo floral de las especies de *Cestrum* que aquí se estudian, que van de 19 a 22 mm. Por lo tanto, durante las visitas la frente de este colibrí hace contacto con las anteras y el polen es depositado en ese mismo sitio, al que se adhiere fácilmente y con ello puede ser transferido a otra flor. Aunque *H. leucotis* podría ser un polinizador efectivo al tener contacto con las partes reproductivas y que puede transferir el polen de una flor a otra, debido a que es menos frecuente en sus visitas a las flores de *Cestrum*, se le considera un polinizador secundario.

No se observaron organismos que intentaran robar el néctar por medio de perforaciones en la base del cáliz y corola, sin embargo, *E. fulgens* se considera robador de néctar, debido a que la longitud de su culmen expuesto es de 28.3 ( $\pm 1$ ) mm (Arizmendi *et al.*, 1996), es decir, hasta 9 mm más largo que la longitud total de las flores de *Cestrum* (ver Tabla 3), sin considerar la longitud de la lengua (que es extendida al momento de la visita), por lo que en el momento de la visita el polen se depositaría sobre el pico y no en la frente. La superficie del pico está cubierta por sustancias cerosas (Williamson, 2001) y como resultado el polen se pierde fácilmente, impidiendo que se transfiera a otra flor. Este mismo desempeño

de *E. fulgens* se describió en flores *Salvia mexicana* L. (Arizmendi *et al.*, 1996). Trabajos posteriores sobre la cantidad de polen que es removido de las anteras y depositado sobre el estigma por cada visitante son necesarios para determinar el desempeño de cada organismo como polinizador. Al menos *D. moneta*, *C. nimbice* e *H. leucotis* visitaron a las tres especies de *Cestrum*, lo cual sugiere que hay un flujo de polen interespecífico, y se esperaría que ocurrieran eventos de hibridación o que presentaran mecanismos de aislamiento reproductivo.

Es importante subrayar que *C. uhdei* es una especie con distribución muy restringida, con una población reducida en Charco Azul, donde coexiste con *C. oblongifolium* y *C. roseum*, especies cercanas a ella filogenéticamente. *C. uhdei* presenta características intermedias a las de *C. roseum* y *C. oblongifolium*, tanto en la parte vegetativa como en la parte reproductiva. En cuanto al tamaño de las hojas es más semejante a *C. roseum* al presentar láminas grandes, sin embargo, es poco pubescente como *C. oblongifolium*. Con los resultados de este trabajo se mostró que las flores presentan un patrón de coloración intermedio al de *C. oblongifolium* y *C. roseum*; el cáliz es grande como en *C. roseum* pero glabro como en *C. oblongifolium*; la corola es mayor en longitud a las de las otras dos especies, pero presenta un tamaño intermedio en diámetro, los lóbulos de la corola son semejantes en forma y tamaño a los de *C. roseum*, pero sin pubescencia como en *C. oblongifolium*; tiene un diámetro estigmático semejante al de *C. oblongifolium* y la separación entre anteras y estigma es intermedia con respecto a las otras dos especies. El volumen de néctar encontrado en sus flores es semejante al de *C. roseum*, pero tiene una concentración intermedia. Debido a que comparten polinizadores hay flujo de polen interespecífico. Con lo anterior se propone que *C. uhdei* puede tener origen híbrido. Eventos de hibridación natural en *Cestrum* no han sido documentados pero se han generado de forma comercial con fines ornamentales (Griesel, 1966; Nee, 2001; Cullen *et al.*, 2011). Será necesario llevar a cabo estudios en esta materia mediante experimentos de polinización manual entre las especies, así como emplear herramientas moleculares basadas en marcadores moleculares como los ISSRs (Inter simple

sequence repeat), que son usados para establecer la identidad de variedades e híbridos (Wolf *et al.*, 1998).

Otros organismos presentaron interacción con las flores de *Cestrum*, por ejemplo, en las flores de las tres especies se encontraron larvas y pupas de *Drosophila* tal como se ha descrito en otras especies del género en Sudamérica (Brncic, 1966; Hunter, 1992). *D. lutzii* fue observada en las flores de *C. roseum*, y *D. ananassae* pasa sus estadios pre-adultos en las flores de *C. oblongifolium*, ambas moscas son florícolas pero no se había descrito que presentan interacción con flores de *Cestrum*, es necesario hacer más estudios sobre estos organismos ya que se ha observado que las especies de *Drosophila* que se desarrollan en las flores de *Cestrum* se alimentan de polen, lo cual puede tener una repercusión la adecuación masculina, al disminuir la cantidad de polen a exportar y parece tener efectos negativos en la vida de la flor, pues se observó que flores que contenían larvas y pupas estaban dañadas o marchitadas.

Aunque *Cestrum oblongifolium*, *C. roseum* y *C. uhdei* fueron visitadas por colibríes como se esperaba, el grupo funcional más importante fueron las mariposas diurnas. Con los resultados de este trabajo se propone psicofilia como síndrome de polinización *Cestrum oblongifolium*, *C. roseum* y *C. uhdei*, debido a que sus flores son diurnas, pequeñas, de tubos florales estrechos, de colores que pueden ser vistos por las mariposas, baja producción de néctar concentrado y los principales y más diversos visitantes fueron mariposas diurnas.

*Cestrum oblongifolium*, *C. roseum* y *C. uhdei* también mantienen rasgos que las hacen atractivas a los colibríes como una fuente secundaria de alimento, ya que también son capaces de detectar el color de la flor de estas especies, no representa un gasto energético importante visitar ocasionalmente flores con baja producción de néctar, sin embargo, las observaciones hechas en este trabajo muestran que su actuación es secundaria o incluso perjudicial en el éxito reproductivo de las especies de *Cestrum* que aquí se estudian, debido a la toma de néctar sin transferir el polen.

Tradicionalmente el género *Cestrum* ha sido dividido en las secciones *Cestrum* y *Habrothamnus*, la primera con especies de floración nocturna y la segunda con especies de floración diurna y de manera general se determinó que en la sección *Cestrum* la polinización es llevada a cabo por mariposas nocturnas, mientras que para *Habrothamnus* se propuso a los colibríes como sus polinizadores (D'Arcy, 1999). El trabajo de Castro-Laportte y Ruíz Zapata (2000a) sobre el síndrome de polinización de cinco especies de *Cestrum* con floración nocturna, evidenció la existencia de dos síndromes de polinización en las especies nocturnas: falenofilia y esfingofilia. Con los resultados de este trabajo, se propone que hay otro síndrome de polinización en la sección *Habrothamnus* además de ornitofilia, y aunque la propuesta dada por D'Arcy (1999) para las especies de flores rojas y su relación con colibríes es probable, es necesario, hacer más estudios de campo que lo comprueben. Por tanto, resulta interesante que las relaciones de las especies de *Cestrum* con sus polinizadores son más complejas y diversas de lo que se creía.

Estudios posteriores pueden complementar los hallazgos de este trabajo, por ejemplo, observaciones nocturnas de las flores de las tres especies aquí estudiadas, principalmente de *Cestrum oblongifolium*, permitirán 1) evaluar aspectos de la biología floral como apertura y cierre de la flor, producción de néctar y/o fragancia y receptividad del estigma, durante ese lapso de tiempo, y 2) detectar la presencia de posibles visitantes nocturnos. Es necesario ampliar la información sobre el néctar de *Cestrum oblongifolium*, *C. roseum* y *C. uhdei*, un estudio más detallado sobre la composición del néctar, en cuanto a los carbohidratos presentes (sacarosa, glucosa y fructosa) y sus proporciones, así como la presencia de otras moléculas, podría ayudar a determinar si se trata de néctar dirigido a alguno de los dos grupos visitantes (por ejemplo, la presencia de aminoácidos en el néctar apoyaría el síndrome de psicofilia). Los datos obtenidos en este trabajo sobre la cosecha en pie permiten conocer la cantidad de recompensa que está disponible a los visitantes, pero es necesario complementar esta información con una curva de acumulación de néctar, para evaluar la

cantidad de néctar que puede producir la flor. La morfología de la flor en las tres especies, pero en particular en *Cestrum roseum* fue altamente variable, en cuanto al número de lóbulos y la fusión de verticilos, por lo que esta especie podría ser un modelo para estudiar el desarrollo floral e incluso tener aplicación hortícola, similar a lo que se ha hecho en Europa para desarrollar híbridos o seleccionar especies con aplicación ornamental (Cullen *et al.*, 2011).

## VIII. CONCLUSIONES

*Cestrum oblongifolium*, *Cestrum roseum* y *Cestrum uhdei* presentan flores diurnas, de colores brillantes, con baja producción de néctar relativamente concentrado y no emiten fragancia y sus periodos de floración coinciden durante cuatro meses. El despliegue floral entre las especies es diferente, *C. oblongifolium* presenta mayor número de inflorescencias, pero el éxito de la polinización (medido como el número total de semillas formadas) es semejante en las tres especies. Los principales visitantes son mariposas diurnas, pero ocasionalmente son visitadas por colibríes, es necesario hacer más estudios para determinar la efectividad de estos organismos como polinizadores. Debido a la morfología de la flor, las características del néctar y a que los visitantes más frecuentes fueron mariposas se propone que el síndrome de polinización para *Cestrum oblongifolium*, *C. roseum* y *C. uhdei* es psicofilia, polinización por mariposas diurnas. La información sobre los visitantes florales debe ampliarse para otras poblaciones de las especies de estudio, sin embargo, por las características descritas de las flores, se espera que aunque haya otras especies visitantes locales a las poblaciones, pertenezcan a los mismos grupos funcionales (mariposas y colibríes). Las poblaciones de *C. oblongifolium*, *C. roseum* y *C. uhdei* en Charco Azul, son autoincompatibles, al igual que otras especies del género y por tanto, son xenógamas obligadas, lo que las hace altamente dependientes de los polinizadores para alcanzar el éxito reproductivo.

*Cestrum oblongifolium*, *C. roseum* y *C. uhdei* son especies simpátricas, filogenéticamente cercanas, con morfología, fenología y recompensa semejante, con psicofilia como síndrome de polinización, que comparten visitantes florales y los resultados de este trabajo en conjunto sugieren que mantienen una estrategia de facilitación en la polinización por compartir visitantes, esto último deberá ser estudiado con mayor detalle. Además, debido a que comparten visitantes serán necesarios más estudios para determinar los mecanismos que mantienen a estas especies aisladas reproductivamente y determinar si ocurren eventos de hibridación.

## LITERATURA CITADA

- Aguilar, R. y Galetto, L. 2004. Effects of forest fragmentation on male and female reproductive success in *Cestrum parqui* (Solanaceae). *Oecologia*. 138: 513-520
- Alonso-Castro, A. J., Maldonado-Miranda, J. J., Zarate-Martínez, A., Jacobo-Salcedo, M. R., Fernández-Galicia, C., Figueroa-Zúñiga, L. A., Rios-Reyes, N. A., León-Rubio, M. A., Medellín-Castillo, N. A., Reyes-Munguía, A., Méndez-Martínez, R. y Carranza-Álvarez, C. 2012. Medicinal plants used in the Huasteca Potosina, Mexico. *J. Ethnopharmacol.* 143: 292-298
- Alvarado, J. L. 1990. Notas sobre la morfología del polen del genero *Cestrum* L. (Solanaceae). En: Sánchez-Martínez, F. y Xelhuantzi-López, M. S. (compiladores). *Investigaciones recientes en paleobotánica y palinología. Cuaderno de Trabajo. INAH. México.* 42: 77-94
- Andrade-Cetto, A. 2008. Ethnobotanical study of the medicinal plants from Tlanchinol, Hidalgo, México. *J. Ethnopharmacol.* 122: 163–171
- Arizmendi, M. C., Domínguez, C. A. y Dirzo, R. 1996. The role of an avian nectar robber and of hummingbird pollinators in the reproduction of two plant species. *Funct. Ecol.* 10: 119-127
- Arizmendi, M. C. 2001. Multiple ecological interactions: nectar robbers and hummingbirds in a highland forest in Mexico. *Can. J. Zool.* 79: 997–1006.
- Arizmendi, M. C., Rodríguez-Flores, C. y Soberanes-González, C. 2010. White-eared Hummingbird (*Hylocharis leucotis*), Neotropical Birds Online (T. S. Schulenberg, Editor). Ithaca: Cornell Lab of Ornithology; retrieved from Neotropical Birds. [http://neotropical.birds.cornell.edu/portal/species/overview?p\\_p\\_spp=249531](http://neotropical.birds.cornell.edu/portal/species/overview?p_p_spp=249531) [Fecha de consulta: noviembre 23, 2012]
- Arroyo, M. T. K., Till-Bottraud, I., Torres, C., Henríquez, C. A. y Martínez J. 2007. Display size preferences and foraging habits of high Andean butterflies pollinating *Chaetanthera lycopoaioides* (Asteraceae) in the Subnival of the Central Chilean Andes. *AAAR.* 39: 347-352
- Bahadur, B., Chaturvedi, A. y Swamy, R. 1986. Nectar types in Indian plants. *Proc. Indian Acad. Sci.* 96: 41-48.
- Baker, H. G. 1975. Sugar concentrations in nectar from hummingbird flowers. *Biotropica.* 7: 37-41.
- Barrera-Necha, L. y Bautista-Baños, S. 2008. Actividad antifúngica de polvos, extractos y fracciones de *Cestrum nocturnum* L. sobre el crecimiento micelial de *Rhizopus stolonifer* (Ehrenb.:Fr.) Vuill. *Rev. Mex. Fitopatol.* 26: 27-31

- Barthe, O. M. y Duarte, S. G. 2008. Morfología polínica de especies arbóreas de Solanaceae do Estado de Santa Catarina, Brasil. *Hoehnea*. 35: 379-386
- Bawa, K., Bulldock, S., Perry, D., Coville, R. y Grayum, M. 1985. Reproductive biology of tropical lowland rain forest trees. II. Pollination systems. *Am. J. Bot.* 72: 346-356.
- Benítez, C. y D'Arcy, W. 1998. The genera *Cestrum* and *Sessea* (Solanaceae: Cestreae) in Venezuela. *Ann. Missouri Bot. Gard.* 85: 273-351
- Benítez, C. y Ferrarotto, M. 2000. Arquitectura foliar en seis especies de *Cestrum* (Solanaceae-Cestreae) presentes en selvas nubladas de Venezuela. *Acta Cient. Venez.* 51: 10-17
- Bernardello, G. 2007. A systematic survey of floral nectaries. Pp. 19-128. En: Nicolson, S., Nepi, M., y Pacini, E. (Eds.) 2007. *Nectaries and nectar*. Springer. Dordrecht.
- Bernardello, L. M., Galetto, L., Jaramillo, J. y Grijalba, E. 1994. Floral Nectar Chemical Composition of Some Species from Reserva Rio Guajalito, Ecuador. *Biotropica*. 26: 113-116
- Bhattacharjee, L., Ghosh, A. y Chandra, G. 2005. Antimicrobial activity of the essential oil of *Cestrum diurnum* (L.) (Solanales: Solanaceae). *Afr. J. Biotechnol.* 4: 371-374
- Bicknell R. A. y Koltunow, A. M. 2004. Understanding apomixis: recent advances and remaining conundrums. *Plant Cell*. 16: 228–245
- Boggs, C. L. Rates of nectar feeding in butterflies: effects of sex, size, age and nectar concentration. *Funct. Ecol.* 2: 289-295
- Brewbaker, J. L. 1957. Pollen cytology and self-incompatibility systems in plants. *J. Hered.* 48: 271-277.
- Brncic, D. 1966. Ecological and cytogenetic studies of *Drosophila flavopilosa*, a neotropical species living in *Cestrum* flowers. *Evolution*. 20: 16-29
- Carrizo-García, C. 2002. Anther wall formation in Solanaceae species. *Ann. Bot.* 90: 701-706
- Carson, H.L. 1971. The ecology of *Drosophila* breeding sites. Lyon Arboretum Lecutre. Number 2 (ed. L. Harold), pp. 1–27. The University of Hawaii, Honolulu.
- Castro-Laportte, M., Járegui, D. y Camacho-De Torres, E. 1999. Caracterización anatómica del androceo de cinco especies de *Cestrum* L. (Solanaceae). *An. Bot. Agr.* 6: 61-66

- Castro-Laportte, M. y Ruíz-Zapata, T. 2000a. Biología floral y síndrome de polinización de cinco especies de *Cestrum* (Solanaceae). *Kurtziana*. 2: 205-210
- Castro-Laportte, M. y Ruiz Zapata, T. 2000b. Sistemas reproductivos y relación polen/óvulo en *Cestrum* L. (Cestreae – Solanaceae). *Fyton*. 67: 133-137
- Castro-Laportte, M. y Ruiz Zapata, T. 2001. Niveles de aborto en cinco especies de *Cestrum* L. (Solanaceae). *Acta Cient. Venez.* 52: 261–264
- Castro-Laportte, M. y Galati, B. 2012. Desarrollo de la antera y formación del grano de polen en *Cestrum bigibbosum* Francey (Solanaceae). *Pittieria*. 36: 67-76
- Charlesworth, D., Vakemans, X., Castric, V. y Glémin, S. 2005. Plant self-incompatibility systems: a molecular evolutionary perspective. *New Phytol.* 168: 61-9
- Chenni, H., Ghosh, D., Monjour Ali, K., Chatterjee, K. y Trabelsi, M. M. 2011. Spermicidal effects of methanolic extract of *Cestrum parqui* leaves on human spermatozoa: a view through DNA breakage and disruption of membrane ultrastructure. *Journal of Reproduction and Contraception*. 22: 223-232
- Cid, M. S., López, T. A., Yagueddú, C. y Brizuela M. A. 2003. Acute toxic plant estimation in grazing sheep ingesta and feces. *J. Range. Manage.* 56: 353-357
- Colares, M. N., Bayón, N. D., Stenglein, S. A. y Arambarri, A. M. 1999. Anatomía y Etnobotánica de las Especies Medicinales de la Provincia Pampeana: Solanaceae (excepto *Grabowskia* y *Solanum*). *Acta Farm. Bonaerense*. 18: 171-82
- Comisión Nacional del Agua (CONAGUA). 2010. Servicio Meteorológico Nacional. [http://smn.cna.gob.mx/index.php?option=com\\_content&view=article&id=181:guanajuato&catid=14:normales-por-estacion](http://smn.cna.gob.mx/index.php?option=com_content&view=article&id=181:guanajuato&catid=14:normales-por-estacion) [Fecha de consulta: Mayo 16, 2012]
- Corbert, S. A. 2000. Butterfly nectaring flowers: butterfly morphology and flower form. *Entomol. Exp. Appl.* 96: 289-298
- Corbet, S. A. 2003. Nectar sugar content: estimating standing crop and secretion rate in the field. *Apidologie*. 34: 1-10
- Cronck, Q. y Ojeda, I. 2008. Bird-pollinated flowers in an evolutionary and molecular context. *J. Exp. Bot.* 59: 715-727
- Cruden, R. W. 1977. Pollen-Ovule Ratios: A conservative indicator of breeding systems in flowering plants. *Evolution*. 31: 32-46

- Cullen, J., Knees S. G. y Cubey, H. S. 2011. The European Garden Flora Flowering Plants: A manual for the identification of plants cultivated in Europe, both out-of-doors and under glass. Vol 5. Cambridge University Press. p. 147-150
- D'Arcy, W. G. 1991. The Solanaceae since 1976, with a review of its biogeography. Pp. 75-137. En: Hawkes, J. G., Lester, R. N., Nee, M. y Estrada-R., N. (Eds.). Solanaceae III. Taxonomy, chemistry, evolution. Royal Botanic Gardens, Kew.
- D'Arcy, W. G. 1996. Anthers and stamens and what they do. pp. 16-24. En: D'Arcy, W. y Keating, R. C. The anther: form, function and phylogeny. Cambridge University Press. New York.
- D'Arcy, W., Keating, R. C. y Buchmann, S. L. 1996. The calcium oxalate package or so-called resorption tissue in some angiosperms anthers. pp. 159-191. En: D'Arcy, W. y Keating, R. C. The anther: form, function and phylogeny. Cambridge University Press. New York.
- D'Arcy, W. G. 1999. Red flowered *Cestrum* and red-loving hummingbirds. Pp. 33-43. En: Nee, M., Symon, D. E., Lester, R. N. y Jessop, J. P. (Eds.) Solanaceae IV. Royal Botanic Gardens, Kew.
- Dafni, A. 1992. Pollination Ecology. A Practical Approach. Oxford University Press. UK.
- De la Maza-Ramírez, R. 1987. Mariposas mexicanas. Guía para su colecta y determinación. Fondo de Cultura Económica, México, D.F.
- Díaz-Valenzuela, R y Ortiz-Pulido, R. 2011. Effects of a snowstorm event on the interactions between plants and hummingbirds: fast recovery of spatio-temporal patterns. Rev. Mex. Biodiv. 82: 1243-1248
- Erhardt, A. 1991. Nectar sugar and amino acid preferences of *Battus philenor* (Lepidoptera, Papilionidae). Ecol. Entomol. 16: 425-434
- Erhardt, A. 1992. Preferences and non-preferences for nectar constituents in *Ornithoptera priamus poseidon* (Lepidoptera, Papilionidae). Oecologia. 90: 581-585
- Evert, R. F. 2006. Epidermis. Pp. 211-243. En: Esau's Plant Anatomy. Meristems, cells and tissues of the plant body. Their function and Development. Third Edition. Wiley. New Jersey.
- Fenster C. B., Armbruster W. S., Wilson P., Dudash M. R. y Thomson D. 2004. Pollination syndromes and floral specialization. Annu. Rev. Ecol. Evol. Syst. 35: 375-403
- Francey, P. 1935. Monographie du genre *Cestrum* L. Candollea 6: 46-398.

- Fryxell, P. A. 1957. Mode of reproduction of higher plants. *Bot. Rev.* 23: 135-233
- Fuchs, C. 1963. Fucsin staining with NaOH clearing for lignified elements of whole plants or plant organ. *Stain. Technol.* 39: 141-144.
- Galletto L. y Bernardello. 2004. Floral Nectaries, Nectar Production Dynamics and Chemical Composition in Six *Ipomoea* Species (Convolvulaceae) in Relation to Pollinators. *Ann. Bot.* 94: 269–280
- Garwood K y Lehman, R. 2005. Butterflies of northeastern Mexico: Nuevo Leon, San Luis Potosi, Tamaulipas: A photographic checklist. (2 Ed.). Edition Eye Scry Publishing, CONABIO, México.
- Gentry, J. L. 1986. Pollen studies in the Cestreae (Solanaceae). Pp. 138–158. En: D'Arcy, W. G. (Ed.). *Solanaceae: biology and systematic*. Columbia University Press. New York.
- Gilbert, F. S., Haines, N. y Dickson, K. 1991. Empty flowers. *Funct. Ecol.* 5: 29-39
- Giovannini, P. y Heinrich, M. 2009. Xki yoma' (our medicine) and xki tienda (patent medicine) —Interface between traditional and modern medicine among the Mazatecs of Oaxaca, Mexico. *J. Ethnopharmacol.* 121: 383-399
- González-Quintero, L. 1969. Morfología polínica: La flora del Valle del Mezquital, Hidalgo. INAH. México. Pp. 48-49
- Gottesberger, G., Schrauwen, J. y Linskens, H. F. 1984. Amino acids and sugars in nectar, and their putative evolutionary significance. *Pl. Syst. Evol.* 145: 55-77
- Griesel, W. O. 1966. Inheritance of factors affecting floral primordia initiation in *Cestrum*; Hybrids of *C. elegans* and *C. nocturnum*. *Plant. Physiol.* 41: 111-114
- Haber, W. A. y Frankie, G. W. 1989. A tropical hawkmoth community: Costa Rican dry forest Sphingidae. *Biotropica.* 21: 155-172
- Hainsworth, F. R. y Wolf, L. 1976. Nectar characteristics and food selection by hummingbirds. *Oecologia.* 25: 101-113
- Hamed, K. A. y Mourad, M. M. 2004. Venation pattern in the sepals of certain species of Solanaceae and its contribution to the taxonomy of the family. *Int. J. Agri. Biol.* 6: 850-855
- Heil, M. 2011. Nectar: generation, regulation and ecological functions. *Trends. Plant. Sci.* 16: 191-200
- Henrique-Furlan, F., Luciola, J., Borelli, v., Faria Junior, o., Volnei.Rebelatto, S., Gava, A. y Davi-Traveso, S. 2008. Intoxicação por *Cestrum intermedium*

- (Solanaceae) em bovinos no estado de Santa Catarina. *Acta Sci. Vet.* 36: 281-284.
- Hernández-Albíter, R. C., Barrera-Necha, L., Bautista-Baños, S. y Bravo-Luna, L. 2007. Antifungal potencial of crude plant extracts on conidial germination of two isolates of *Colletotrichum gloeosporioides* (Penz.) Penz. and Sacc. *Rev. Mex. Fitopatol.* 25: 180-185
- Hunter, A. 1992. Flower breeding *Drosophila* of Bogota, Colombia: new species (Diptera: Drosophilidae). *Pan-Pac. Entomol.* 68: 192-199
- Ikkal, C., Monia, B.H.K., Mounir, T., Wassila, H., Najet, R., Dorsaf, B.A., Mejda, D., Habib, B.H.M. 2007. Pesticidal potentialities of *Cestrum parqui* saponins. *Int. J. Agric. Res.* 2: 275–281
- Jáuregui, D., Rodríguez, N. y Benítez, C. E. 2000. Estudios anatómicos foliares en Solanaceae de Venezuela. V. Anatomía foliar de once especies de *Cestrum* L. *Acta Cient. Venez.* 51: 69-77
- Jáuregui, D., de Ríos, N. R. y Benítez, C. E. 2001. Estudios anatómicos foliares en Solanaceae de Venezuela. VI. Anatomía foliar de diez especies de *Cestrum* L. *Acta Cient. Venez.* 52: 248-260
- Johansen, D. A. 1940. *Plant microtechnique*. McGraw-Hill, New York y Londres.
- Johnson, S. D. y Nicolson, S. W. 2008. Evolutionary associations between nectar properties and specificity in bird pollination systems. *Biol. Lett.* 4: 49-52
- Karron, J. D., Mitchell, R. J., Holmquist, K. G., Bell, J. M. y Funk, B. 2004. The influence of floral display size on selfing rates in *Mimulus ringens*. *Heredity.* 92: 242-248
- Kearns C. A. e Inouye D. W. 1993. *Techniques for pollination biologists*. University Press of Colorado. Niwot.
- Khan, M. A., Inayat, H., Khan, H., Saeed, M., Khan, I. e Inayat-Ur-Rahman. 2011. Antimicrobial activities of the whole plant of *Cestrum nocturnum* against pathogenic microorganisms. *Afr. J. Microbiol. Res.* 5: 612-616
- Klinkhamer, P. G. L. y de Jong, T. J. 1993. Attractiveness to pollinators: a plant's dilemma. *Oikos.* 66: 180-184
- Liscovsky, I. J. y Cosa, M. T. 2005. Anatomía comparativa de hoja y tallo en los representantes de Cestreae G. Don (Solanaceae) de Argentina. *Gayana Bot.* 62: 33-43
- Lloyd, D. G. y Webb, C. J. 1986. The avoidance of interference between the presentation of pollen and stigmas in Angiosperms I. Dichogamy. *New. Zeal. J. Bot.* 24: 135-162

- Martín A. J, S. 1983. Medicinal Plants in central Chile. *Econ. Bot.* 37: 216-227
- Martínez, M. y Hernández, L. 1997. Manual de prácticas de laboratorio. Universidad Autónoma de Querétaro. Querétaro, México.
- Moeller, D. A. 2004. Facilitative interactions among plants via shared pollinators. *Ecology.* 85: 3289-3301
- Montero-Castro, J. C. 2006. Filogenia molecular de *Cestrum* L. sección *Habrothamnus* (Endl.) Schltl. (Solanaceae): un proceso de diversificación rápida. Tesis Doctoral. Universidad Nacional Autónoma de México.
- Montero-Castro, J. C., Delgado-Salinas, A., De la Luna, E. y Eguiarte, L. E. 2006. Phylogenetic Analysis of *Cestrum* Section *Habrothamnus* (Solanaceae) Based on Plastid and Nuclear DNA Sequences. *Syst. Bot.* 31: 843–850.
- Moore, P. D., Webb, J. A. y Collison, M. E. 1991. Pollen analysis. Blackwell Science Publications. Second Edition. Oxford. p.44
- Murray, M. A. 1945. Carpellary and placental structure in the Solanaceae. *Bot. Gaz.* 107: pp. 243-260
- Nee, M. 1986. Flora de Veracruz. Solanaceae I. Fascículo 49. Instituto Nacional de Investigaciones sobre Recursos Bióticos Xalapa, Veracruz, México.
- Nee, M. 2001. An overview of *Cestrum*. Pp. 109–136 En: Van de Berg, R. G., Barendse, W. M., van der Weerden, G. M. y Mariani, C. (Eds.). Solanaceae V. Advances in taxonomy and utilization. Nijmegen University Press. Nijmegen.
- Nepi, M. 2007. Nectary structure and ultrastructure. Pp. 129-166. En: Nicolson, S., Nepi, M., y Pacini, E. (Eds.). Nectaries and nectar. Springer. Dordrecht.
- Oliveira dos Santos, R. y Ribeiro Vilela, C. 2005. Breeding sites of Neotropical Drosophilidae (Diptera). IV. Living and fallen flowers of *Sessea brasiliensis* and *Cestrum* spp. (Solanaceae). *Rev. Bras. Entomol.* 49: 544-551
- Overland, L. 1960. Endogenous rhythm in opening and odor of flowers of *Cestrum nocturnum*. *Am. J. Bot.* 47: 378-382
- Pacini, E. y Nicolson, S. W. 2007. Introduction. Pp. 1-18. En: Nicolson, S., Nepi, M., y Pacini, E. (Eds.). Nectaries and nectar. Springer. Dordrecht.
- Patil, C. D., Patil, S. V., Salunke, K. B., y Salunke B. R. 2011. Bioefficacy of *Plumbago zeylanica* (Plumbaginaceae) and *Cestrum nocturnum* (Solanaceae) plant extracts against *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) and nontarget fish *Poecilia reticulata*. *Parasitol. Res.* 108: 1253-1263
- Percival, M. S. 1961. Types of nectar in angiosperms. *New. Phytol.* 60: 235-281

- Pérez-Hernández, S. 2001. *Cestrum* L. Pp. 652-653. En: Rzedowski, G. C. de, y Rzedowski, J. Flora fanerogámica del Valle de México. (2 Ed). Instituto de Ecología, A.C. y CONABIO. Michoacán, México.
- Peterson, L. R., Peterson, C. A. y Melville, L. H. 2008. Teaching plant anatomy through creative laboratory exercises. NRC Research Press. Ottawa, Ontario. p. 138
- Pleasants, J. M. y Zimmerman, M. 1983. The distribution of standing crop of nectar: what does it really tell us? *Oecologia*. 57: 412-414
- Pike, G. H. 1991. What does it cost a plant to produce floral nectar? *Nature*. 350: 58
- Pohl, N. B., Wyk, J. V. y Campbell, D. R. 2011. Butterflies show flower colour preferences but not constancy in foraging at four plant species. *Ecol. Entomol.* 36: 290-300
- Polo, J. M. y Diez, M. J. 1986. Contribución al Atlas palinológico de Andalucía occidental IV. Solanaceae. *Lagascalia*. 14: 45-66
- Possingham, H. P. 1989. The distribution and abundance of resources encountered by a forager. *Am. Nat.* 33: 42-60
- Punt, W., Hoen, P.P., Blackmore, S., Nilsson, S. y Thomas, A. 2007. Glossary of pollen and spore terminology. *Rev. Palaeobot. Palynol.* 143: 1–81
- Reddi, C. S. y Bai, G. M. 1984. Butterflies and pollination biology. *Proc. Indian Acad. Sci. (Anim. Sci.)* 93: 391-396
- Reza, S. M., Rahman, A., Ahmed, Y. y Kang, S. C. 2010. Inhibition of plant pathogens *in vitro* and *in vivo* with essential oil and organic extracts of *Cestrum nocturnum* L. *Pest. Biochem. Physiol.* 96: 86-92
- Ribeiro-Vilela, C. 1984. Occurrence of the *Drosophila flavopilosa* species group (Diptera, Drosophilidae) in the state of Sao Paulo (Brazil) with description of one new species. *Revta. Bras. Zool.* 2: 63-69
- Richards, A. J. 1996. Breeding systems in flowering plants and the control of variability. *Folia Geobot. Phytotax.* 31: 283-293
- Ruzin, S. E. 1999. Plant microtechnique and microscopy. Oxford University Press. New York.
- Sáenz Laín, C. 2004. Glosario de términos palinológicos. *Lazaroa*. 25: 93-112
- Sibley, D. A. 2000. The Sibley guide to birds. Alfred A. Knopf, New York.

- Silva, S. N., Vieira de Carvalho, A. M. y Ribeiro dos Santos, F. 2003. Morfologia polínica de doze espécies de *Cestrum* L. (Solanaceae) da mata higrófila na Bahia, Brasil. *Acta. Sci. Biol. Sci.* 25: 439-443
- Stiles, F. G. 1976. Taste preferences, color preferences, and flower choice in hummingbirds. *Condor.* 78: 10-26.
- Stiles, F. G. 1981. Geographical aspects of bird-flower coevolution, with particular reference to Central America. *Ann. Missouri Bot. Gard.* 68: 323-351
- Torres, M.G., y Navarro-Sigüenza, A. G. 2000. Los colibríes de México, brillo de la biodiversidad. *CONABIO. Biodiversitas.* 28:1-6
- Williamson, S. 2001. A field guide to hummingbirds of North America. Peterson field guide series. Houghton Mifflin. New York.
- Wolf, A. D., Xiang, Q. y Kephart, S. 1998. Assessing hybridization in natural populations of *Penstemon* (Scrophulariaceae) using hypervariable intersimple sequence repeat (ISSR) bands. *Mol. Ecol.* 7: 1107-125
- Zapata, T. R. y Arroyo, M. T. K. 1978. Plant reproductive ecology of a secondary deciduous tropical forest in Venezuela. *Biotropica.* 10: 221-230.

## APÉNDICE

Ejemplares de herbario utilizados para describir la distribución de las especies y su fenología.

### *Cestrum oblongifolium*

MÉXICO. Guanajuato: San Luis de La Paz, 21°9'N, 100°55'W, 8 mar 1990, Ventura y López 7790 (IEB). Guerrero: Chilpancingo de Los Bravo, 17°33'N, 99°30'W, 20 feb 1994, González 404 (IEB). Hidalgo: Eloxochitlán, 20°44'N, 98°48'W, 29 dic 1992, López 438 (IEB, MEXU). Metztitlán, Paraje tres cruces, 20°14-15' N, 98°23'W, 24 feb 1992, López 4, (IEB). La Misión, Zipatla, 1 km S Álamo, 21°5'N, 99°7'W, 22 abr 1988, Martínez 1687 (IEB, MEXU). Pacula, entre El Fraile y Milpas Viejas, 20°57-39'N, 99°20-43'W, 1800 m, 7 mar 2005, Zamudio 12973 (IEB). San Bartolo Tutotepec, El Mabodo, Ranchería de San Bartolo Tutotepec, 20°23'N, 98°12'W, 24 feb 1973, Gimate 878 (IEB). Tenango de Doria, 20°20-8'N, 98°13-36'W, 27 mar 1976, Turra 2875 (IEB). Zacaualtipán de Ángeles, 20°39'N, 98°39'W, 8 ene 1993, López 488 (IEB, MEXU). Zimapán, 20°44'N, 99°23'W, 16 abr 1998, Tejero y Muñoz 3997 (IEB). Nuevo león: Aramberri, El Cerro Viejo, 24°5'N, 99°49'W, 26 feb 1993, Hinton et al. 22677 (IEB, MEXU). General Zaragoza, La Encantada, 23°48'N, 99°51'W, 8 feb 1989, Hinton et al. 19331 (IEB, MEXU). General Zaragoza, La Encantada, 23°48'N, 99°51'W, 30 dic 1978, Hinton 17505 (IEB). General Zaragoza, El Cerro Viejo, 23°57'N, 99°46'W, 19 feb 1993, Hinton et al. 22623 (IEB). Iturbide, Iturbide 20 km E carr. 60, 24°44'N, 99°53'W, 25 mar 1988, Villarreal y Elizondo 4072 (IEB). Iturbide, La Purísima, 25°44'N, 100°12'W, 3 mar 1992, Hinton et al., 21817 (IEB). Oaxaca: San Pedro Topiltepec, 17°26'N, 97°20'W, 24 mar 2000, Guízar y Miranda 4790 (IEB). Puebla: Zacatlán, 1km al E de Zacatlán, 19°55'N, 97°57'W, 1 mar 1986, Moreno 21 (XAL). Querétaro: Arroyo Seco, Santa María de Cocos, Boca del Sótano El Barro, 21°18-33'N, 99°40'W, 1800 m, 22 mar 1996, Hernández 3959 (QMEX). Cadereyta de Montes, 20°41'N, 99°49'W, 22 nov 1994, Orozco et al. 11014 (IEB). Jalpan de Serra, 1 km al S Puerto del Rodezno, 21°9-28'N, 99°37-9'W, 25 may 2006, Pantoja 586 (QMEX). Jalpan de Serra, 3 km E San Juan de Los Durán, 21°28-57'N, 99°11-40'W, 1300 m, 24 nov 1990, Carranza 2223 (QMEX). Jalpan de Serra, San Juan de los Durán, 21°28'N, 99°10'W, 17 feb 2005 Zamudio y Piedra 12906 (IEB). Landa de Matamoros, El Lobo, 21°17'N, 99°7'W, 20 mar 1988, Hernández 19843 (IEB). Landa de Matamoros, La Mesa 1.5 km La Lagunita de San Diego, 21°22-58'N, 99°8-32'W, 2100 m, 3 jul 2003, Steinmann et al. 3288 (IEB). Landa de Matamoros, 21°11'N, 99°7'W, 21 feb 1987, Rzedowski 42524 (IEB). Landa de Matamoros, 21°11'N, 99°7'W, 11 feb 1992, Carranza y Ramos 3855 (IEB, MEXU). Landa de Matamoros, 21°11'N, 99°7'W, 30 nov 1988, Carranza 1225 (IEB, MEXU). Landa de Matamoros, 21°11'N, 99°7'W, 12 nov 1989, Rubio 1324 (IEB). Landa de Matamoros, 5-6 km SE Parador de Santa Martha, 21°13-51'N, 99°10- 6'W, 1780 m, 17 abr 1989, Carranza 1629 (MEXU, QMEX). Landa de Matamoros, 1 km SE Camarones, 21°12-48'N, 99°3-53'W, 1300 m, 12 feb 1991, Rubio 2228 (MEXU, QMEX). Landa de Matamoros, 21°11'N, 99° 19'W, 3 mar 1988, Herrera 34 (IEB,

MEXU). Peñamiller, 21°3'N, 99°48'W, 7 mar 1991, Ventura y López 9147 (IEB). Peñamiller, 21°3'N, 99°48'W, 8 feb 1995, Hernández et al. 11080 (IEB). Pinal de Amoles, Llano de Huazquilico, 21°9-35'N, 99°34-35'W, 1720 m, 10 abr 2001, Serrano 739 (QMEX). Pinal de Amoles, Centro de recreación de Pinal de Amoles, 21°8-3'N, 99°37-31'W, 2300 m, 12 abr 1997, Traviño 410 (QMEX). Pinal de Amoles, 21°8'N, 99°37'W, 17 dic 1988, Carranza 1285 (IEB, MEXU). Pinal de Amoles, 21°8'N, 99°37'W, 18 mar 1987, Rzedowski 42878 (IEB). Pinal de Amoles, 21°8'N, 99°37'W, 15 feb 1995, Hernández et al. 11101 (IEB). San Joaquín, Maravillas-Sto. Tomás, 20°56-16'N, 99°30-54'W, 2200 m, 6 dic 1994, Hernández 11051 (QMEX). San Joaquín, Maravillas, 20°54'N, 99°33'W, 2 mar 1994, Orozco et al. 10522 (IEB). Tamaulipas: Gómez Farias, Rancho del Cielo, 22°55-30'N, 99°5-50'W, 15 abr 1984, Avendaño y Narave 1657 (IEB). Gómez Farias, La Perra, 23°25'N, 99°26'W, 16 abr 1984, Avendaño et al. 1698 (IEB). Veracruz: Huayococotla, Orilla del Río Tenatitlán, 20°39'N, 98°26'W, 1350 m, 12 feb 1980, García 185 (XAL). Huayococotla, 20°32'N, 98°28'W, 2100 m, Hernández y Cedillo 1063 (MEXU, XAL). San Andrés Tuxtla, 18°26'N, 95°12'W, 23 sept. 1986, Sinaca et al. 972 (IEB).

#### *Cestrum roseum*

MÉXICO. D.F.: Delegación Venustiano Carranza, Mercado Sonora, 19°30'N, 99°5'W, 11 jun 1998, Bye y Linares 26030 (MEXU). Tlalpan, Área natural protegida, Fuentes brotantes de Tlalpan, 19°17-18'N, 99°10-6'W, 2290 m, 22 ago 2000, Jaime et al. 2590 (MEXU). Guanajuato: Victoria, 3.5 km N Joya Fría, 21°12'N, 100°12'W, 2250 m, 26 abr 2001, Pérez y Ocampo 4139 (IEB). Victoria, Joya Fría, 21°12'N, 100°12'W, 2250 m, 6 jun 1989, Ventura y López 6741 (IEB, MEXU, XAL). Victoria, km 73.5, 21°12'N, 100°12'W, 2 mar 1995, Estrada S/N (IEB). Victoria, Milpillas del Pito, 8km N Joya Fría, 21°20'N, 100°14'W, 2200 m, 7 jun 1989, Ventura y López 6757 (IEB, MEXU, XAL). Victoria, 1 km S Puerto de Palmas, 21°12'N, 100°12'W, 2050 m, 21 abr 1996, Rzedowski 53074 (IEB). Xichú, El Charco Azul, 21°18'N, 100°6'W, 2250 m, 18 abr 1991, Ventura y López 9172 (IEB, MEXU, XAL). Xichú, La montaña arriba de Xichú, 21°55'N, 99°59'W, 2150 m, 10 nov 1980, Kishler 925 (MEXU). Xichú, Puerto Chiquito, 21°17'N, 100°3'W, 2300 m, 23 abr 1990, Ventura y López 7903 (IEB, MEXU, XAL). Xichú, Puerto ocotero, 1.5km de San Agustín, 21°17'N, 100°3'W, 2500 m, 25 abr 1997, Perez y Carranza 3619 (IEB, MEXU, XAL). Hidalgo: Atotonilco El Chico, Atotonilco El Chico, 20°7'N, 98°43'W, 2700 m, 28 abr 1981, Hernández et al. 5933 (MEXU). Atotonilco El Chico, San Cayetano Pueblo Nuevo, 20°7'N, 98°43'W, 2700 m, 26 abr 1982, Hernández y Tenorio 7135 (MEXU). El Chico, 2km al W del Cerro de las Ventanas, 20°12'N, 98°43'W, 2950 m, 13 abr 1980, Fernández 611 (ENCB, IEB, MEXU). El Chico, Cerro de Las Ventanas, 20°12'N, 98°43'W, 2900 m, 16 may 1981, Gentry et al. 33172 (MEXU, MO). El Chico, Cerro de Las Ventanas, 3000 m, 5 may 1965, Rzedowski 19753 (ENCB, MEXU). El Chico, Parque Nacional El Chico, 20°12'N, 98°43'W, 2680 m, 20 abr 1979, Galván 555 (CHAPA, MEXU). El

Chico, Pedregal de San Ángel, 20°12'N, 98°43'W, 1 sept 1929, Lyonnet 4788 (MEXU). El Chico, 20°12'N, 98°43'W, 1 may 1950, Sánchez-Mejorada y Chávez-Arias 46 (MEXU). El Chico, 29 jul 1938, Lyonnet 2212 (BOG, MEXU). El Chico, 20°12'N, 98°43'W, 1 mar 1948, Martínez 5408 (MEXU). El Chico, 20°12'N, 98°43'W, 9 jun 1940, Miraa 389 (MEXU). El Chico, 20°12'N, 98°34'W, 1 sept 1929, Lyonnet 478 (MEXU). Epazoyucan, Las Peñas Largas, cerca de Tezuantla, 20°1'N, 98°38'W, 2850 m, 19 jun 1976, Medina 1376 (IEB). Mineral del Chico, 25 km N carretera Pachuca-Zacualtipán, 20°12'N, 98°43'W, 2600 m, 6 may 1978, Sánchez 2165 (CHAPA, MEXU). Mineral del Chico, Cerro de las Ventanas, 20°12'N, 98°43'W, 3 may 1975, Medina 280 (IEB). Mineral del Chico, Las Monjas, 20°12'N, 98°43'W, 2750 m, 4 feb 1969, Hernández 340 (IEB). Mineral del Chico, Camino Carboneras-Parque Nacional El Chico, 20°12'N, 98°43'W, 2400 m, 25 feb 1989, Hernández 315 (IEB). Mineral del Chico, Carr. Pachuca-Zacualtipa 23 km N, 20°12'N, 98°43'W, 2600 m, 28 feb 1982, Alzate 15 (CAHAPA, MEXU). Mineral del Chico, 15 km N carretera Pachuca-Zacualtipan, 2600 m, 14 abr 1985, Vera 37 (IEB, MEXU, SLPM). Mineral del Chico, Valle de los conejos, 20°12'N, 98°43'W, 2800 m, 18 sept 1988, Hernández 250 (IEB). Mineral del Chico, 20km N carretera Pachuca-Zacualtipán, 20°12'N, 98°43'W, 2650 m, 24 mar 1978, García 610 (CHAPA, MEXU). Mineral del Monte, Peñas Largas, 3km SE Tezoantla, 20°7'N, 98°39'W, 2800 m, 5 may 1989, Zamora y Barquín 673 (ENCB, IEB, MEXU). Mineral del Monte, La Cruz Gorda, 20°7'N, 98°39'W, 2900 m, 28 ene 1977, Medina 1902 (ENCB, MEXU). Mineral del Monte, Real del Monte, 20°7'N, 98°39'W, 2600 m, 11 may 1981, Hernández et al. 6129 (MEXU). Mineral del Monte, Cerca de Real del Monte, 20°8'N, 98°40'W, 18 ago 1898, Pringle 6974 (MEXU). México: Amecameca, Amecameca, 2800 m, 9 dic 1951, Matuda et al. 25886 (MEXU). Amecameca, 2km E Santiago Cuauhtenco, 19°2'N, 100°3'W, 2600 m, 22 abr 1977, Rzedowski 34700 (ENCB, IEB, MEXU). Amecameca, Santiago Cuautenco, 19°6'N, 98°46'W, 1 mar 2002, Montero-Castro y Munn-Estrada 209 (MEXU). Amecameca, Santiago Cuauhtenco, 19°9-10'N, 98°44-36'W, 2567 m, 1 mar 2002, Montero-Castro y Munn-Estrada 205 (MEXU). Donato Guerra, El Capulín, 19°22'N, 100°16'W, 2543 m, 18 mar 2001, Cornejo e Ibarra 164 (IEB, XAL). Donato Guerra, Cerro Pelón, Reserva de la Biosfera Mariposa Monarca, 19°21'N, 100°16'W, 2375 m, 6 nov 2005, Cornejo et al. 739 (IEB). Ecatzingo de Hidalgo, Ecatzingo, 18°57'N, 98°45'W, 2400 m, 20 abr 1994, Linares 752 (MEXU). Nicolás Romero, 5 km W Progreso, 19°37'N, 99°18'W, 2600 m, 18 sept 1977, Rzedowski 35281 (IEB). Tlalmanalco, 5 km SE San Rafael, 19°11'N, 98°48'W, 2780 m, 16 ene 1983, Viullalobos 2 (XAL). Temascaltepec, Cumbre-Gavia, 19°2'N, 100°3'W, 4 dic 1936, Hinton et al. 9012 (GEO. B. HINTON, MEXU). Temascaltepec, Nanchititla, 19°2'N, 100°3'W, 15 mar 1933, Hinton 3612 (GEO. B. HINTON, MEXU). Temascaltepec, Temascaltepec, 4 nov 1956, Paray 2259 (MEXU). Temascaltepec, 19°2'N, 100°3'W, 22 mar 1936, Hinton 9000 (GEO. B. HINTON, MEXU). Tlalmanalco, Barranca del Papaloaque, 12 mar 1940, Miraa 287 (MEXU). Tlalmanalco, San Rafael, Atlixco, 5 may 1938, Lyonnet 2083 (BOG, MEXU). Tlalmanalco, San Rafael, 3 nov 1937, Lyonnet 1919 (MEXU). Tlalmanalco, San Rafael, 2600 m, 28 mar 1931, Saint Pierre 2442 (G, MEXU, NY). Tlalmanalco, San Rafael, 2900 m, 12 abr 1953, Matuda et al. 28255 (CODAGEM, MEXU). Tlalmanalco, Arroyo

Tlalmanalco, 4km SE San Rafael, 2750 m, 11 abr 1977, Koch 7754 (CHAPA, MEXU). Tlalmanalco, San Rafael, 19°11'N, 98°48'W, 2700 m, 20 nov 1980, Ventura 3776 (ENCB, IEB, MEXU). Toluca, Falda Sur Nevado de Toluca, 19°8'N, 99°47'W, 3000 m, 10 abr 1954, Matuda et al. 30637 (CODAGEM, MEXU). Valle de Bravo, Valle de Bravo, 19°11'N, 100°7'W, 2000 m, 9 may 1971, Wolfgang Boege 1754 (MEXU). Valle de Bravo, Valle de Bravo, 19°11'N, 100°7'W, 2100 m, 23 abr 1954, Matuda 32403 (MEXU). Estación Experimental de fauna Silvestre "Ing. Luis Macias Arellano", 19°20-52'N, 100°4-34'W, 2500 m, 28 may 1984, Garcia-Guevara 21 (MEXU). Villa Nicolás Romero, 2650 m, 4 may 1975, Rzedowski 32908 (ENCB, MEXU). Entre Talmanaco y Amecameca, 19°2'N, 100°3'W, 28 jun 1974, Grether 7061 (MEXU). Entre Talmanaco y Amecameca, 19°2'N, 100°3'W, 4 dic 1973, Roldán 7061 (MEXU). 8 km SE entronque Las Juntas-Cotepec, 19°27'N, 96°57'W, 2665 m, 9 may 1988, Flores y Terpán 835 (MEXU). Michoacán: Aparapeo, 2km al NW de Las Peras, 19°47'N, 100°58'W, 2430 m, 10 abr 1992, Carranza 3956 (MEXU). Hidalgo, 19 km O Cd. Hidalgo, 19°41'N, 100°33'W, 2500 m, 8 mar 1985, Soto-Núñez y Aureoles-Conejo 7387 (MEXU). Hidalgo, 19 km O Cd. Hidalgo, 19°41'N, 100°33'W, 2500 m, 9 mar 1985, Soto Núñez et al. 7404 (MEXU). Hidalgo, El Bañito, 19°40'N, 100°35'W, 2300 m, 6 ene 1996, Almazán et al. 902 (IEB). Hidalgo, La Venta, 19°41'N, 100°33'W, 2450 m, 11 oct 1938, Martínez et al. 4637 (MEXU). Hidalgo, camino Geotérmico "Los Azufres", 19°41'N, 100°34'W, 2825 m, 8 abr 1986, Carranza 379 (IEB). Morelia, 1km S San Miguel del Monte, 19°37'N, 101°8'W, 2400 m, 27 abr 1991, Medina 2283 (MEXU, XAL). Morelia, 2 km W San Miguel del Monte, 19°34'N, 102°11'W, 2300 m, 28 mar 1991, Rzedowski 50619 (MEXU). Madero, 15 km después de Villa Madero, 19°23'N, 101°17'W, 2360 m, 4 may 1987, Cházaro y Zamudio 4728 (IEB). Pátzcuaro, 6 km S Pátzcuaro, 19°27-36'N, 101°36'W, 2300 m, 13 may 2005, Zamudio 13091 (IEB). Pátzcuaro, La Joya, Colonia Revolución, 19°31'N, 101°36'W, 2100 m, 5 jun 1989, Escobedo 1779 (IEB). Queréndaro, Cañada del Real, 19°48'N, 100°42'W, 2500 m, 23 abr 1986, Santos-Martínez 1326 (MEXU). Salvador Escalante, Camino al Cerro San Miguel, 19°24'N, 101°38'W, 2100 m, 16 jul 1988, Escobedo 1458 (IEB, MEXU, XAL). Salvador Escalante, Santa Clara del Cobre, 19°24'N, 101°38'W, 16 jul 1988, Pérez-Calix 97 (IEB, MEXU, XAL). Salvador Escalante, 19°24'N, 101°38'W, 2200 m, 13 may 1978, Caballero y Mapes 181 (IEB, MEXU). Salvador Escalante, camino al Cerro del Burro, 19°24-18'N, 101°38'W, 2800 m, 13 jul 1991, Escobedo 1939 (IEB, MEXU, XAL). Senguio, El Salto, 19°44'N, 100°21'W, 2650 m, 9 abr 1989, Rzedowski 48494 (IEB, MEXU, XAL). Tacámbaro, Testerazo, cerca de Tacámbaro, 2100 m, 29 may 1981, Arguelles 1601 (MEXU). Villa Madero, E Rancho Buena Vista, 19°25'N, 101°17'W, 2300 m, 13 mar 1986, Díaz-Barriga 2103 (IEB, MEXU, XAL). Zitácuaro, Boca de Cañada, 20 km E Zitácuaro, 19°26'N, 100°21'W, 2650 m, 22 mar 1982, Soto-Núñez y Silva 3826 (MEXU). Parque Nacional "Los Azufres" N carretera México-Morelia (km 148), 19°48'N, 100°36'W, 2350 m, 18 jun 1979, Diggs y Corcoran 2279 (MEXU). Oaxaca: Santa María Yavesia, 1.1 km SE Santa María Yavesia, 17°13-40'N, 96°25'W, 2000 m, 9 mar 2001, Martínez et al. 33639 (MEXU). Santiago Tlazoyaltepec, El Gachupin, 17°N, 96°58'W, 2608 m, 31 may 2005, Cruz-Espinoza 2760 (MEXU). Zimatlán, Paraje Palo de Junco, San Pedro El Alto, 16°41-30'N, 97°7'W, 2200 m, 13 feb 1995,

García-Bautista 141 (CHAPA, MEXU). Santa Inés del Monte, 16°55'N, 96°51'W, 3000 m, 8 dic 1905, Conzatti 1349 (MEXU). Sierra de San Pedro Nolasco, 1 abr 1949, Paray (MEXU). Puebla: Cholula, Camino a Tepetzingo lado N de Santiago, 19°4-45'N, 98°31'W, 2580 m, 20 oct 1987, Ubierna 1036 (MEXU, UAP). Cholula, Camino Cerro Campanario NE Santiago, 19°5-45'N, 98°34'W, 2580 m, 28 oct 1987, Ubierna 1198 (IEB, MEXU, UAP). Cholula, Santiago, 19°4-45'N, 98°30'W, 2580 m, 3 nov 1987, Tlapa y Ubierna 1248 (XAL). Cholula, 19°4-45'N, 98°29-30'W, 2500 m, 29 oct 1987, Ubierna 1203 (MEXU, UAP). Cholula, Camino Cuahuitenco lado N San Pedro Tlacuicatlalpan, 19°4'N, 96°29'W, 2450 m, 9 nov 1987, Ramos 1333 (MEXU, UAP). San Nicolás de los Ranchos, Cañada Grae lado Noroeste San Pedro, Yancuicatlalpan, 19°5-15'N, 98°29-15'W, 2460 m, 17 ago 1987, Tlapa y Ubierna 160 (IEB, XAL). Cholula, Calpan, 19°6'N, 98°27'W, 2322 m, 13 may 2005, Guameros y Carvajal 406 (MEXU, PFPR). Cholula, Calpan, 19°6'N, 98°25'W, 2299 m, 5 may 2005, Guameros 370 (MEXU, PFPR). Cholula, Calpan, 19°6'N, 98°27'W, 2322 m, 13 may 2005, Guameros 383 (MEXU, PFPR). Tlatlauquitepec, 19°45-28'N, 97°32-27'W, 2280 m, 26 may 2001, Guízar y Miraa 5575 (CHAPA, MEXU). Huejotzinco, 19°3'N, 98°13'W, 14 nov 1910, Antonio (MEXU). Rancho de las posadas, 19°3'N, 98°13'W, 7 abr 1909, Antonio (MEXU). San Luis Potosí: Río verde, Las Mesas de San Isidro, Ejido Milpitas, 21°55'N, 99°59'W, 1760 m, 28 mar 1994, Ballin y Castillo s/n (MEXU, SLPM). Tlaxcala: Tlaxco, 19°36'N, 99°7'W, 2719 m, 21 mar 1985, Manrique et al. 1100 (MEXU). Camino de Tepeyanco, 19°14'N, 98°14'W, 2200 m, 11 dic 1988, Virahns 2558 (MEXU).

### *Cestrum uhdei*

MÉXICO. Guanajuato: Xichú, El Charco Azul, 2250 m, 18 mar 1991, Ventura 9172 (MEXU). Charco Azul, 21°18-45'N, 100°6-39'W, 2320 m, 23 mar 2012, Ramírez-Segura 49 (QMEX, EBUM). Charco Azul, 21°18-45'N, 100°6-39'W, 2320 m, 3 abr 2012, Ramírez-Segura 54 (QMEX). El Puerto Chiquito, 2300 m, 23 abr 1990, Ventura 7903 (ENCB). Puerto del Ocotero, 2500 m, 25 abr 1997, Pérez y Carranza 3619 (IEB).