



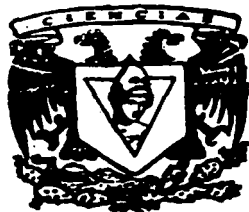
UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA
DE MEXICO

FACULTAD DE CIENCIAS

SISTEMA REPRODUCTIVO DE *Opuntia*
stenopetala ENGELMANN (CACTACEAE)

T E S I S
QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:
B I O L O G O
P R E S E N T A :
GREGORIO OROZCO ARROYO

Director de Tesis:
DRA. SONIA VAZQUEZ SANTANA



TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

2002



FACULTAD DE CIENCIAS
SECCION ESCOLAR



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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



UNIVERSIDAD NACIONAL
AUTÓNOMA DE
MÉXICO

M. EN C. ELENA DE OTEYZA DE OTEYZA

Jefa de la División de Estudios Profesionales de la
Facultad de Ciencias
Presente

Comunicamos a usted que hemos revisado el trabajo escrito: Sistema reproductivo
de Opuntia stenopetala Engelmann (Cactaceae)

realizado por Gregorio Orozco Arroyo

con número de cuenta 9524790-0 , quién cubrió los créditos de la carrera de Biología

Dicho trabajo cuenta con nuestro voto aprobatorio.

Atentamente

Director de Tesis
Propietario

Dra. Sonia Vázquez Santana

Propietario

Dra. Guadalupe Judith Márquez Guzmán

Propietario

M. en C. Silvia Espinosa Matias

Suplente

Biol. Citlali Yuriria Núñez Martel

Suplente

Dr. Felipe Cruz García

FACULTAD DE CIENCIAS
UNAM

Consejo Departamental de Biología



Dra. Patricia Ramos Morales

DEPARTAMENTO
DE BIOLOGIA

Esta Tesis se realizó dentro del taller titulado "Desarrollo y Fisiología de las Estructuras Reproductoras en la Familia Cactaceae" impartido por los profesores:

Dra. Guadalupe Judith Márquez Guzmán

Dra. Margarita Collazo Ortega

Dra. Sonia Vázquez Santana

M. C. Silvia Espinosa Matías

M. C. José Gonzalo Ricardo Wong

Biol. Citlali Núñez Mariel

Biol. Jerónimo Reyes Santiago

AGRADECIMIENTOS

A mis padres Araceli y Gregorio y a mis hermanos Enrique y Guillermo por el cariño, comprensión y apoyo mostrado en todo momento. A mi toda mi familia por su unión y alegría contagiosa.

A la Universidad Nacional Autónoma de México por haberme permitido cumplir un sueño.

A mi asesora, Dra. Sonia Vázquez por toda su ayuda y paciencia, pero sobre todo por el inmenso interés mostrado durante la realización de esta tesis.

A la M. en C. Silvia Espinosa Matias por el tiempo invertido y las facilidades otorgadas para la toma de las fotografías del microscopio electrónico de barrido que ilustran esta tesis.

A mis sinodales, Dra. Judith Márquez, Dr. Felipe Cruz, M. en C. Silvia Espinosa y Biol. Citlali Núñez, por sus valiosos comentarios en la corrección de esta tesis y por su disposición para esclarecer mis dudas.

A mis amigos de toda la vida Leo, David, Miguel, Juan, Daniel, César, Fernando y Antonio por los buenos momentos vividos y por los que quedan por vivir juntos.

A todos los buenos amigos que conocí durante la carrera: Natalia, los dos Alfredos, Aldo, Rafael, Jesús, Juan, Lucy, Poncho, y en especial a Rocío, Carlos, Ernesto y Ulises por estar presentes en épocas muy importantes de mi vida.

A todos los compañeros de laboratorio: Florencia, Bibi, Dulce, Odeth, Odette, Lalo, Yuridia, Ela, Ana Laura, Paty, Guille, Margarita, Mague y Ricardo por su amistad, confianza y afecto. En especial agradezco a Edith, Lluvia, Ulises y Karina por su cariño y por estar a mi lado.

A PROBETEL por el apoyo otorgado durante la realización de esta tesis.

ÍNDICE

1. Resumen.....	1
2. Introducción.....	2
3. Antecedentes	
3.1 La flor.....	5
3.2 La flor de las cactáceas.....	6
3.3 Sistemas sexuales en angiospermas.....	7
3.4 Sistemas sexuales en la familia Cactaceae.....	11
4. Objetivos.....	18
5. Material y método	
5.1 Sistema de estudio.....	19
5.2 Área de estudio.....	20
5.3 Colecta de material.....	21
5.4 Procesamiento de material.....	22
6. Resultados	
6.1 Exploración de ejemplares de herbario.....	24
6.2 Determinación del sexo en la población estudiada.....	26
6.3 Organogénesis floral y embriología.....	28
6.3.1 Flor estaminada	
6.3.1.1 Desarrollo del androceo.....	30
6.3.1.2 Desarrollo de la pared de la antera.....	32
6.3.1.3 Desarrollo del gineceo.....	32
6.3.2 Flor pistilada	
6.3.2.1 Desarrollo del gineceo.....	34
6.3.2.2 Desarrollo de la pared de la antera.....	36
6.3.2.3 Desarrollo del androceo.....	37
7. Fotografías.....	38
8. Discusión.....	56
9. Conclusiones.....	75
10. Literatura Consultada.....	76

RESUMEN

Opuntia stenopetala (Opuntioideae), es una planta rastrera, de artículos aplanados que presenta flores unisexuales (Bravo-Hollis, 1978; Britton y Rose, 1937; Parfitt, 1985; Gibson y Nobel, 1986). Esta última característica sólo se ha asociado a otras trece especies dentro de la familia Cactaceae la cual contiene aproximadamente 2000 especies conocidas (la mayoría posee flores hermafroditas). Las flores de *O. stenopetala* son estructuralmente hermafroditas debido a que en antesis poseen androceo y gineceo. Sin embargo, a partir de las referencias bibliográficas y de una revisión de las flores en antesis de ejemplares de herbario (MEXU), se sospechó que esta planta presentaba un sistema reproductor distinto al hermafrodita, sin poder concluir cual era, debido a la presencia de individuos masculinos (presentan flores con polen en anteras y ovario reducido con pocos óvulos en la base), femeninos (presentan flores sin polen en las anteras y ovario con numerosos óvulos) y hermafroditas (presentan flores con polen en anteras y ovario con numerosos óvulos).

Se decidió investigar el sistema reproductivo de *Opuntia stenopetala* en una población ubicada en el municipio de Cadereyta, estado de Querétaro, México, estudiando el desarrollo floral y la embriología de los morfos florales y así determinar el sistema reproductivo funcional de *O. stenopetala* en la población.

Se encontraron dos morfos florales: femenino (individuos estériles masculinos) y masculinos (individuos estériles femeninos). El desarrollo de androceo y gineceo se inicia de manera muy similar en ambos morfos florales dando la apariencia de hermafroditismo. Sin embargo, pronto hay divergencias en el desarrollo. En las flores pistiladas el desarrollo de la antera se detiene en etapa de célula madre de la microspora, que no inicia la meiosis, además se observó crecimiento anormal de las células del tapete. El óvulo maduro de estas flores es campilótrofo, bitélgmico, crasinucelado, endóstomo y el funículo envuelve completamente al óvulo. En las flores estaminadas, no hay anomalías en el desarrollo del grano de polen, pero si las hay en el desarrollo del gineceo. Los individuos desarrollan un estilodio carente de lóbulos estigmáticos. El ovario está reducido, presentando pocos óvulos que se localizan sólo en la base, dichos óvulos no completan su desarrollo llegando únicamente a iniciar la formación del segundo tegumento o bien, no se diferencian por lo que son vistos como protuberancias nucleares amorfas. Además en algunos individuos no hay formación de la cavidad del ovario. Dado que el polen es producido únicamente por los individuos masculinos y los óvulos maduros por los individuos femeninos y que no se encontraron individuos funcionalmente hermafroditas, se concluye que la población estudiada de *Opuntia stenopetala* tiene un sistema reproductor funcionalmente dioico.

INTRODUCCIÓN

Entre las plantas más notables que caracterizan el paisaje de las zonas áridas de México, se distingue, junto con magueyes, mezquites y yucas, la familia Cactaceae. Las cactáceas, son autóctonas del continente Americano, donde se encuentran distribuidas especialmente en zonas áridas y semiáridas, México es posiblemente, por sus condiciones de latitud, topografía y climas, el país que alberga más especies (Bravo-Hollis, 1978).

Las cactáceas se han diversificado en un considerable número de especies y formas de vida, se han establecido en varios ecosistemas, aunque se postula que tal hecho se vio favorecido por la aparición de zonas áridas y semiáridas, adquiriendo varias adaptaciones morfológicas, fisiológicas y reproductivas, en donde los procesos de hibridación y poliploidía también han jugado un papel importante en la evolución de la familia (Arias, 1997).

Las plantas de la familia Cactaceae son perennes, cuya vida puede durar más de dos años o por tiempo indefinido, según la especie. Las cactáceas se pueden identificar mediante la presencia de aréolas en sus tallos, las aréolas están formadas de tejido meristemático con la capacidad de dar origen a cualquier tipo de tejido u órgano (Arreola, 1997).

La clasificación de la familia Cactaceae desarrollada por el Grupo Internacional de Sistemática de Cactaceae reconoce cuatro subfamilias: Pereskioideae, Maihuenioideae, Opuntioideae y Cactoideae, esta última dividida en nueve tribus (Anderson, 2001).

La subfamilia Opuntioideae está formada por plantas arborescentes, arbustivas y hasta rastreras, con tallos cilíndricos, claviformes, casi globosos o en cladodios, más o menos ramificados. En México está representada por los géneros *Pereskia*, *Opuntia* y *Nopalea* (Bravo-Hollis, 1978). Esta subfamilia está caracterizada por la presencia de glóquidas (aguates) que aparecen en casi todas las aréolas de los tallos, flores y frutos (Guzmán, 1997).

Opuntia es el género más ampliamente distribuido y común de todas las cactáceas, es nativo del continente Americano, al igual que las demás especies de la familia, pero ha sido llevado a otras partes del mundo por los humanos, incluyendo Alaska y Australia. El género, es uno de los más grandes con 181 especies y 10 híbridos naturales reconocidos (Anderson, 2001). El nombre del género tienen un origen debatido, probablemente esté basado en el nombre de la región Griega Locris Opuntia, cuya capital era Opus, en este sitio, crecían varias plantas espinosas parecidas a las cactáceas (Anderson, 2001).

El hábito y forma de tallo es muy variable aunque la estructura floral, con algunas variaciones, es semejante. Debido principalmente a las diferentes formas del tallo, algunos cactólogos han formado diversos géneros o subgéneros. Bravo-Hollis (1978) conformó 5 subgéneros, *Cylindropuntia*, *Grusonia*, *Corynopuntia*, *Opuntia* y *Stenopuntia*, en éste último subgénero se localiza *Opuntia stenopetala*. Las especies se encuentran distribuidas en todo el continente; algunas integran géneros endémicos de América del Norte o de América del Sur (Bravo-Hollis, 1978).

De acuerdo con la descripción de Bravo-Hollis (1978), el género *Opuntia* comprende plantas arborescentes, arbustivas o rastreras. El tronco está bien definido o puede presentar ramas desde la base. Las ramas son erectas, extendidas o postradas. Los artículos son globosos, claviformes, cilíndricos o aplanados (cladodios), muy carnosos o leñosos. Las aréolas axilares presentan espinas, pelos y glóquidas, generalmente las aréolas de la parte superior del artículo son las productoras de flores.

Los nopales, han sido utilizados desde las antiguas civilizaciones mesoamericanas, hasta la actualidad. Las partes vegetativas y reproductivas de la planta son utilizadas como alimento y con fines medicinales. Los tallos jóvenes son guisados y los frutos o tunas se consumen frescos, deshidratados o machacados y cocinados para obtener miel de tuna y una pasta dulce conocida como queso de tuna (Pimienta, 1997).

La familia Cactaceae comprende en su mayoría especies que presentan flores bisexuales, los estudios embriológicos que se han efectuado de la familia, incluyendo al género *Opuntia*, han sido con especies que presentan este tipo de flores. Debido a que muy pocas especies dentro de la familia presentan flores unisexuales y a que los estudios embriológicos relacionados con esto son nulos, se decidió estudiar el sistema reproductivo de *Opuntia stenopetala*, una cactácea perteneciente a la subfamilia Opuntioideae que ha sido descrita como dioica, es decir, plantas con flores unisexuales, pudiendo ser pistiladas o estaminadas, pero sobre la cual no hay ningún estudio ya sea embriológico o ecológico, que corrobore o contradiga esta condición.

ANTECEDENTES

LA FLOR

La reproducción sexual en las angiospermas involucra un conjunto de hojas especializadas que forman la flor, la cual produce las estructuras y células necesarias con funciones específicas para este proceso (Mauseth, 1995).

El término flor se refiere a la agregación de órganos reproductores estériles y fértiles (Greyson, 1994), exhibiendo una gran variedad de formas, colores tamaños e inserción de los verticilos florales; sin embargo, su organización básica es uniforme. La mayoría de las flores posee cuatro apéndices florales (sépalos, pétalos, estambres y carpelos) denominándose entonces flores completas, pero si algún apéndice floral está ausente, se le llama flor incompleta. Si la flor carece de estambres y/o carpelos, se le llama flor imperfecta, además de ser incompleta. Si se producen tanto estambres como carpelos, la flor es perfecta, aunque carezca de pétalos y/o sépalos (Mauseth, 1995). Las flores que poseen flores con sólo órganos reproductores masculinos, se denominan estaminadas, las que sólo poseen órganos reproductores femeninos, se denominan pistiladas (Bhojwani y Bhatnagar, 1974).

En una flor completa la parte más externa, consiste de hojas especializadas útiles en la protección de la yema en desarrollo: los sépalos, que en conjunto forman el cáliz. El siguiente verticilo, la corola, está formada por los pétalos, que al igual que los sépalos son parecidos a las hojas, teniendo como función principal la atracción de polinizadores. El siguiente conjunto de hojas especializadas es el androceo compuesto por los estambres. Cada estambre se forma de filamento y antera, siendo en esta última estructura en donde se producen los granos de polen y los gametos masculinos. En el centro de la flor se localiza el último conjunto de hojas especializadas, el gineceo. Está compuesto de hojas fértiles llamadas carpelos las cuales se fusionan para formar una sola unidad que consiste típicamente de ovario, estilo y estigma. Dentro del ovario están los óvulos que contienen la ovocélula o gameto

femenino que será fecundado por los gametos masculinos (Bhojwani y Bhatnagar, 1974).

LA FLOR DE LAS CACTÁCEAS

Las flores de las cactáceas se originan de las aréolas y usualmente sólo se produce una flor por cada aréola, aunque pueden producirse más de una como en *Myrtillocactus geometrizans*. *Pereskia* es el único género que produce una verdadera inflorescencia. Las flores pueden originarse en distintas partes del tallo, pero pocas cactáceas producen flores terminales en el ápice del tallo. El meristemo apical o ápice de crecimiento floral está contenido en el receptáculo, a diferencia de los otros meristemos vegetativos, éste tiene crecimiento determinado.

En la flor de estas plantas se pueden apreciar dos tipos de órganos: los de origen axial, como son la zona pedicelar, el hipanto o pericarpelo y el tubo receptacular y los verticilos florales, que constituyen el androceo y el gineceo. El eje floral de las cactáceas, por su organización de origen axial, es semejante a una rama, ya que presenta podarios, escamas y aréolas, que además de producir lana, espinas, etc., pueden desarrollar nuevos brotes. Es como si los verticilos florales, androceo y gineceo, estuviesen incluidos en una rama. El desarrollo de la flor se inicia por una yema axial protegida por escamas dispuestas en espiral, en esta yema se diferencian tres zonas meristemáticas. La primera y más externa producirá los órganos foliares; la siguiente en posición intermedia, producirá los estambres y la tercera y más central que originará los carpelos y al hundirse dentro del tallo formará el hipanto o pericarpelo. El desarrollo subsecuente para llegar a formar la flor adulta es distinto en las tres subfamilias (Bravo-Hollis, 1978).

La mayoría de las flores de las cactáceas, tienen una estructura conformada al igual que las demás angiospermas inferováricas, pero con características anatómicas diferentes de la flor típica, determinadas posiblemente por adaptación al medio seco y por las diversas modalidades de la polinización zoófila (Bravo-Hollis, 1978). Como ya se mencionó, las partes florales están parcialmente cubiertas por tejido del tallo, el cual es llamado pericarpelo, da la

aparición de que la verdadera flor ha sido empujada dentro del tejido receptacular subyacente. En ocasiones el pericarpelo está cubierto por escamas o brácteas que poseen tricomas o espinas, en algunos géneros como *Mammillaria* o *Ariocarpus* las flores son desnudas, es decir, sin partes externas como brácteas, tricomas o espinas. Una transición gradual de las brácteas ocurre hacia el ápice de la flor, éstas llegan a formar los segmentos del perianto, que son estructuras parecidas a sépalos y pétalos y que cumplen la misma función (Anderson, 2001), pero que no pueden diferenciarse entre sí llamándoseles tépalos en algunas ocasiones (Bravo-Hollis, 1978).

Las flores generalmente presentan muchos estambres insertos en la parte superior interna del pericarpelo. El ovario está embebido en el pericarpelo, siendo ínfero debido a que está localizado por debajo de las otras partes florales, excepto en la mayoría de las especies de *Pereskia* (Leuenberger, 1986). Hay un solo estilo que posee uno o más lóbulos estigmáticos. El ovario es multicarpelado y los óvulos tienen placentación parietal (Anderson, 2001).

Las flores de las cactáceas usualmente son sésiles, solitarias, bisexuales y con simetría radial. La mayoría de las cactáceas llevan a cabo polinización cruzada, pero la autogamia o autopolinización puede ocurrir en algunos grupos (Anderson, 2001).

SISTEMAS SEXUALES EN ANGIOSPERMAS

Los sistemas reproductores de las angiospermas presentan una gran diversidad de expresiones (Bawa y Beach, 1981) e incluyen todos los aspectos de expresión del sexo en las plantas, lo cual afecta la relativa contribución genética a la siguiente generación de los individuos de una especie y generalmente se acepta que son resultado de un proceso de evolución por selección natural. Los sistemas sexuales pueden tener diferentes implicaciones para la reproducción cruzada así como en los mecanismos de la polinización y conducta del polinizador (Dafni, 1992).

La mayoría de las angiospermas son hermafroditas, es decir presentan flores perfectas, con estambres y carpelos, o plantas con flores perfectas, el porcentaje varía de 90% (Lebel-Hardenack y Grant, 1997; Charlesworth, 2002) a 94% (Renner y Ricklefs, 1995). Renner y Ricklefs (1995) mencionan que todas las angiospermas se originaron a partir de un ancestro común hermafrodita, lo cual sugiere que el programa de desarrollo floral es común en todas las especies.

Las especies de plantas unisexuales y sus formas mezcladas parecen estar distribuidas en todas las familias de las angiospermas, alrededor de $\frac{3}{4}$ partes de las familias incluyen especies dioicas, sugiriendo eventos evolutivos independientes. De cualquier forma, la incidencia de unisexualidad no está distribuida de igual forma en el reino Plantae. El dioicismo, caracterizado por la presencia de plantas masculinas y femeninas, es ampliamente conocido en angiospermas, se reconoce en que al menos en 7% de los géneros de angiospermas (959 de 13,500) hay alguna especie dioica y que aproximadamente 6% de las especies de angiospermas (14,620 de 240,000) son dioicas (Renner y Ricklefs, 1995). El dioicismo es particularmente prevaeciente en las familias Menispermaceae, Myristicaceae, Monimiaceae, Euphorbiaceae, Moraceae, Cucurbitaceae, Anacardiaceae y Urticaceae, y parece ser más común entre los géneros de dicotiledóneas que entre los géneros de monocotiledóneas (Renner y Ricklefs, 1995). Para Lebel-Hardenack y Grant (1997) y Charlesworth (2002), el porcentaje aproximado de especies de angiospermas que desarrollan flores unisexuales es de 10%. Este último autor, señala que aproximadamente 5% de las angiospermas tienen un sistema sexual monoico y 5% dioico (en este porcentaje el autor incluye a los sistemas ginodioico y androdioico).

Los botánicos han puesto poca atención al dioicismo, particularmente a las fuerzas selectivas que fundamenten su evolución. Varios factores han contribuido a este hecho. El primero, es que a pesar de que existen muchas especies dioicas, su proporción en la totalidad de la flora mundial es considerada muy pequeña (Renner y Ricklefs, 1995). La supuesta rareza de la condición dioica ha llevado a creer que no es un sistema de reproducción

exitoso. El segundo factor, tiene que ver con que se ha comparado el dioicismo con la autoincompatibilidad y debido a que el 50% de las plantas dioicas pierden la capacidad de producir semillas, ha sido considerado un pobre sustituto para la autoincompatibilidad (Heslop-Harrison, 1972, en Bawa, 1980). El tercero, es debido a que la selección por entrecruzamiento ha sido casi universalmente propuesta como la principal fuerza selectiva responsable para la evolución del dioicismo (Ainsworth, 2000).

No se puede considerar al dioicismo simplemente como un mecanismo extremo para prevenir la autopolinización intra-individual (Dafni, 1992) con la separación de los órganos sexuales en plantas separadas y así evitar el efecto deletéreo de la endogamia. Sin embargo para promover el entrecruzamiento, existen en las plantas otros mecanismos como 1. la dicogamia o separación temporal de la maduración de los órganos masculinos y femeninos dentro de una flor hermafrodita, 2. mecanismos de autoincompatibilidad tanto esporofíticos como gametofíticos, donde existe un control genético sobre los posibles eventos de fecundación (Ainsworth, 2000), 3. la herkogamia, en donde la propia estructura de los órganos sexuales masculinos y femeninos deja al estigma fuera del alcance del polen de las anteras propias, proveyendo una barrera para la autofecundación y 4. la heterostilia o presencia de dos o más tipos florales, donde la polinización es efectiva sólo si el polen de una flor llega al estigma de una flor de diferente tipo o morfo y no del mismo (Bhojwani y Bhatnagar, 1974).

La separación de sexos puede también representar el patrón alterado de asignación de recursos para las funciones masculina y femenina en respuesta a la selección sexual, es decir parece optimizar la reproducción al permitir una asignación de recursos eficiente (Lebel-Hardenack y Grant, 1997). En las plantas hermafroditas, la producción de polen puede limitar la producción de óvulos y viceversa. Con la separación de sexos, los recursos pueden ser asignados más eficientemente, es decir, los recursos que no se utilizan para producir polen, se utilizan para producir mayor cantidad de óvulos, y de forma recíproca, los recursos que no se utilizan para producir óvulo se utilizan para

producir polen. La asignación de recursos puede diferir respecto a las estructuras de las flores estaminadas o pistiladas, la estructura de la inflorescencia y la distribución de las flores o inflorescencias dentro de una planta (Ainsworth, 2000).

Los modelos clásicos de asignación de recursos asumen que la asignación reproductiva masculina y femenina ocurren simultáneamente de una fuente de recursos mezclada. Esto es incierto para las plantas, donde la asignación masculina ocurre durante la floración y la mayoría de la inversión femenina ocurre posteriormente, durante la maduración de las semillas (Barret, 1998). Además, el dimorfismo sexual cambia la distribución espacial de recursos para polinizadores, dispersores de semillas y depredadores (Bawa, 1980).

Los resultados teóricos que modelan la evolución de las poblaciones dioicas sugieren que la asignación de recursos y que evitar la endogamia no son opcionales sino que probablemente ambas están involucradas siempre que una población dioica evoluciona a partir de una especie hermafrodita (Ainsworth, 2000).

Se cree ampliamente que el dioicismo se ha originado independientemente del hermafroditismo muchas veces en la evolución de las angiospermas, esto porque las flores unisexuales en muchos taxa diversos, poseen órganos reproductivos no funcionales del sexo opuesto (Ainsworth, 2000). Es decir, que existen flores morfológicamente bisexuales que funcionalmente son unisexuales. En especies que poseen flores perfectas, en ocasiones existen genotipos que determinan el desarrollo deficiente de óvulos o sacos polínicos (Endress, 1996). Esto explica el porque las flores de la mayoría de las especies dioicas y monoicas no pueden distinguirse de las flores bisexuales durante las etapas de desarrollo temprano ya que los primordios de estambres o carpelos se inicia en las flores unisexuales. El aborto o detenimiento del desarrollo de los primordios de carpelos en las flores estaminadas y de los primordios de estambres en las flores pistiladas ocurre posteriormente variando la etapa de desarrollo entre especies (Lebel-Hardenack y Grant, 1997; Ainsworth, 2000). En algunas otras especies dioicas o monoicas, las flores unisexuales no muestran evidencia del sexo opuesto debido a que nunca se forma ningún

vestigio de los órganos sexuales faltantes (Maier *et al.*, 1997, Ainsworth, 2000). El dioicismo raramente es absoluto, en especies parcialmente dioicas puede haber plantas que presenten flores del sexo opuesto al que presentan generalmente, aunque en menor número. Más aún, existen individuos de las especies de plantas hermafroditas, monoicas o dioicas con sistemas sexuales extremadamente lábiles en las cuales el ambiente puede ejercer alguna presión sobre la expresión del sexo (Ainsworth, 2000), es decir, pueden cambiar de sexo de un periodo de vegetación al siguiente dependiendo de las condiciones ambientales, a esto se le denomina dioicismo secuencial (Freeman y Vitale, 1985).

En las poblaciones de la mayor parte de las especies dioicas (70% aproximadamente) existe un exceso de individuos masculinos, lo cual podría deberse a proporciones sesgadas de distribución de sexo, a proporciones de mortalidad diferenciales (Decker y Pilson, 2000) o a variaciones en los patrones de asignación de recursos destinados hacia crecimiento o funciones sexuales masculinas o femeninas (Domínguez, 1985).

SISTEMAS SEXUALES EN LA FAMILIA CACTACEAE

En las cactáceas como en el resto de las angiospermas, la actividad reproductiva sexual se concentra en las flores. La condición sexual en esta familia es generalmente reportada como hermafrodita, es decir, agrupa al gineceo y al androceo dentro de una sola estructura floral. Muy rara vez, por atrofia de los estambres o del estigma son unisexuales (Arreola, 1997). Diferentes sistemas reproductores han sido reportados para la familia Cactaceae, pero sólo en 14 especies de sólo 8 géneros (Bravo-Hollis, 1978; Ganders y Kennedy, 1978; Kimnach, 1982; Parfitt, 1985; Leuenberger, 1986; Del Castillo, 1986; Del Castillo y González, 1988; Hoffman, 1992; Fleming *et al.*, 1994; Valiente *et al.*, 1997) de aproximadamente 2000 especies conocidas (Anderson, 2001).

Los autores han reportado excepciones a dicha condición hermafrodita sin que se especifique claramente sobre el sistema sexual predominante para algunos taxa (Bravo-Hollis, 1978; Britton y Rose, 1937; Parfitt, 1985). Estas excepciones incluyen tres especies mexicanas del género *Opuntia* serie *Stenopetalae*: *O. stenopetala*, *O. grandis* y *O. glaucescens*, —las descripciones señalan a estas especies como dioicas— y las especies mexicanas *Mammillaria dioica* y *M. neopalmeri* señalada como ginodioicas o posiblemente trioicas, aparentemente difiriendo de una población a otra (Bravo-Hollis, 1978). Lindsay y Dawson (1952) señalan que la condición dioica en *M. dioica* es un carácter que es excepcional y no usual en esta planta. Las observaciones realizadas por Ganders y Kennedy (1978) reportan plantas de *M. dioica* hermafroditas y pistiladas, ambas con producción aparentemente normal de frutos y semillas. Las flores pistiladas comparadas con las flores hermafroditas son más pequeñas en tamaño pero con estigmas más largos, además poseen anteras indehiscentes que no contienen polen. Sin embargo, no observaron las flores estaminadas reportadas por Brandegee en la descripción original (1897 en Lindsay y Dawson, 1952), la cual se realizó con plantas pertenecientes a otra área, por lo que mencionan que el sistema sexual puede diferir en las distintas poblaciones, o bien, que Brandegee malinterpretó la situación. Para *M. neopalmeri* se reportan flores unisexuales y hermafroditas, siendo estas últimas las más abundantes (Lindsay y Dawson, 1952). Sin embargo, no se menciona si las flores unisexuales son pistiladas o estaminadas, o bien si existen ambas.

Hoffman (1992) agrega a la lista de cactáceas dioicas a *Echinocereus coccineus*, al describir dos tipos florales restringidos a plantas separadas. La morfología de un tipo floral da la apariencia de ser hermafrodita ya que posee partes masculinas (filamentos y anteras) y femeninas (ovario, óvulos, estilo y estigma); sin embargo, a través de experimentos de polinización, descubrió que dichos individuos no producían frutos. En el otro tipo floral, aunque también posee partes masculinas y femeninas, los filamentos son más cortos y las anteras son más pequeñas, están colapsadas y no producen polen, la superficie estigmática es mayor y hay formación de frutos. El autor, concluye

que *E. coccineus* tiene un sistema reproductor funcionalmente dioico. Este es uno de los estudios en los cuales se determina el verdadero sistema sexual de la especie.

Fleming *et al.* (1994) reportan a *Pachycereus pringlei* como trioico, describen cuatro tipos florales: hermafroditas, estaminadas, pistiladas y neutras. Los individuos unisexuales (estaminados y pistilados) constituyen al menos el 50% de la población adulta y los neutros son muy poco frecuentes. Las flores pistiladas (estériles masculinos) poseen anteras que carecen de polen y son notablemente más pequeñas que las de las hermafroditas, en estos dos tipos florales hay producción de frutos, aunque la producción total es mayor en los individuos femeninos. Las flores estaminadas (estériles femeninas) tienen estilos y estigmas totalmente desarrollados, pero el ovario usualmente carece de óvulos y en su lugar hay sólo masas de tejido funicular, estos individuos junto con los hermafroditas son los que producen polen en la población, siendo los masculinos los que tienen una producción total de polen mayor por temporada. Ocasionalmente algunos individuos masculinos presentan un pequeño número de óvulos, los cuales a pesar de iniciar su desarrollo a semillas, estas nunca alcanzan la madurez. Las flores de los individuos neutros (estériles femeninos y masculinos) tienen androceo similar al de las flores pistiladas y gineceo similar al de las flores estaminadas, por lo que no producen polen ni desarrollan óvulos ni semillas. En un estudio posterior, Fleming *et al.* (1998) reportan poblaciones ginodioicas de ésta especie aunque las poblaciones trioicas están más extendidas geográficamente, la ausencia de individuos masculinos en algunas zonas geográficas parece estar relacionada con la ausencia del murciélago polinizador en dichas poblaciones.

Neobuxbaumia mezcalaensis es otra especie de la familia que presenta un sistema reproductor distinto al hermafrodita. Valiente *et al.* (1997) reportan poblaciones con plantas masculinas y hermafroditas, es decir poblaciones androdioicas. Los individuos masculinos tienen gineceo completamente reducido sin óvulos maduros y no producen frutos. Los granos de polen producidos por ambos tipos florales, forman tubos polínicos, por lo que

concluyen que ambos son funcionalmente viables. Los ejemplares revisados al año siguiente del estudio, mantuvieron su sexo constante.

En *Opuntia robusta* Del Castillo (1986) y Del Castillo y González (1988) reportan poblaciones bisexuales, dioicas y trioicas, y describen los tres tipos florales encontrados en distintas poblaciones de esta especie. Las flores estaminadas al igual que las hermafroditas tienen anteras que producen grandes cantidades de polen (aunque las estaminadas producen mayor cantidad), las anteras de las flores pistiladas están atrofiadas y no tienen polen fértil. Las flores pistiladas y hermafroditas tienen estilos y estigmas similares con forma de copa y con múltiples lóbulos; el estilo en las flores estaminadas termina en un estigma con dos o tres lóbulos atrofiados y erectos. El ovario de las flores estaminadas está notablemente reducido en comparación con el ovario de flores hermafroditas y pistiladas y presenta una gran variación aún entre flores del mismo individuo. Los ovarios más grandes presentan entre 0 y 40 óvulos atrofiados en su parte basal. El ovario de las flores pistiladas y las hermafroditas es muy parecido entre sí, menos variable que el ovario de las flores estaminadas y sus paredes están cubiertas por numerosos óvulos.

Los trabajos de Del Castillo (1986), Del Castillo y González (1988), Hoffman (1992), Fleming *et al.* (1994) y Valiente *et al.* (1997) son confiables para describir el verdadero estado sexual de las especies de cactáceas estudiadas que presentan un sistema reproductor distinto al hermafrodita. Sin embargo, en algunas descripciones, el sistema sexual no está bien definido. Tal es el caso de *Selenicereus innesii*, donde Kimnach (1982) reportó "el único ejemplo confirmado de dioicismo completo en la familia Cactaceae". Sin embargo, su descripción de esta especie presenta flores hermafroditas y pistiladas, por lo que no puede ser considerada como una especie dioica, lo apropiado sería llamarla ginodioica. Asimismo, menciona que las flores pistiladas carecen enteramente de estambres y la cámara ovulífera contiene pocos óvulos y está parcialmente llena con estilos rudimentarios que terminan en papilas estigmáticas. Para Parfitt (1985), las características de las flores pistiladas de *S. innesii* junto con el desconocimiento de frutos y semillas, sugiere que las

flores revisadas pueden estar malformadas (mutantes naturales) hasta el punto de ser completamente estériles, por lo que propone que de ser este el caso, la especie no sería ni dioica ni ginodioica, sino funcionalmente hermafrodita como la mayoría de las cactáceas.

Parfitt (1985) menciona que la condición sexual puede ser malentendida por dos razones. La primera tiene que ver con la toma de datos inadecuada dificultando asegurar la condición sexual de las especies, este error puede surgir si las flores unisexuales se asemejan estructuralmente a las flores hermafroditas, pero funcionalmente sean unisexuales (de tal manera que se asume que los individuos y la especie tienen la sexualidad observada en las flores colectadas y se carece de un muestreo adecuado), éste caso es muy marcado en *Echinocereus coccineus* (Hoffman, 1992) y en *Opuntia stenopetala*. En segundo lugar está el poco cuidado que se ha tenido en el uso de la palabra dioico, como en el caso de *Selenicereus innesii*, que Kimnach (1982) señala como dioico cuando realmente sus descripciones indican que es una especie ginodioica. Estas dos razones han oscurecido el conocimiento de la verdadera condición sexual aún cuando las poblaciones o especies hayan sido estudiadas adecuadamente.

En la subfamilia Pereskioideae, Leuenberger (1986) reporta que existen flores estaminadas en las especies *Pereskia portulacifolia*, *P. quisqueyana* y *P. zinniiflora*, las cuales poseen lóculos sin óvulos u óvulos anormales. Estas flores son aparentemente unisexuales con estilo corto, lóbulos estigmáticos filiformes sin papilas y el lóculo del ovario muy pequeño. En *P. portulacifolia* además de las flores estaminadas, ha observado al menos un ejemplar de herbario con flores pistiladas, flores unisexuales fueron descritas también por Areces (1984 en Leuenberger, 1986) para *Rhodocactus cubensis* sinónimo de *P. zinniiflora*, por lo que ambas especies son aparentemente dioicas. Las flores pistiladas de esta última especie tienen lóbulos estigmáticos papilados de casi 5 mm de largo y estambres estériles, en el ovario hay numerosos óvulos con placentación parietal. En el caso de *P. quisqueyana* no observaron flores pistiladas. En el trabajo de Leuenberger, se reporta un espécimen con flores

estaminadas de *P. zinniflora* cultivado, que mostró características teratológicas en el gineceo, el lóculo estaba lleno por otra serie de carpelos y estambres con anteras anormales originándose de la placenta parietal. Este mismo autor señala que *P. nemerosa* es la única especie con estructuras interpretadas como estaminodios. Las flores de esta especie presentan grupos de tricomas uniseriados y multiseriados entre los petaloídes y estambres. El autor cree que dichos tricomas son estaminodios debido a la presencia de largos apéndices individuales transicionales entre tricomas y filamentos. Sin embargo, y a pesar de la presencia de estaminodios también hay estambres funcionales, por lo que las flores de esta especie son hermafroditas.

Un resumen de los sistemas sexuales distintos al hermafrodita referidos anteriormente para la familia Cactaceae, se encuentra en la Tabla 1.

Hay que señalar que las consideraciones sobre el sistema sexual de las cactáceas pudieran cambiar si se realizan algunos estudios (ecológicos, estructurales, de desarrollo, etc.) que permitan caracterizar eficientemente la verdadera expresión sexual de las especies. Tal es el caso de *Pachycereus pringlei*, considerado en un principio como hermafrodita —debido a que todos los individuos reproductivos parecían tener flores perfectas— y que después de estudiar más detalladamente diferentes poblaciones, se encuentran diferentes clases sexuales: hermafroditas, femeninas (estériles masculinas), masculinas (estériles femeninas) y neutras (masculinas y femeninas estériles) formando poblaciones trioicas (Fleming *et al.*, 1994) y ginodioicas (Fleming *et al.*, 1998).

A partir de una revisión de flores en anthesis seccionadas de 39 ejemplares de herbario (MEXU) de *Opuntia stenopetala*, así como de los trabajos de Del Castillo (1986) y Del Castillo y González (1988) y Parfitt (1985), se sospecha que esta especie puede formar poblaciones que presenten un sistema sexual dioico, ginodioico o posiblemente trioico ya que existen ejemplares de herbario con flores unisexuales o hermafroditas; sin embargo, esto no es posible confirmarlo ni por las referencias bibliográficas ni por los ejemplares de herbario, sino haciendo un estudio embriológico para determinar el sexo en una población de *Opuntia stenopetala* y conocer el desarrollo floral de los morfos encontrados en la población.

Tabla 1. Especies de cactáceas descritas con poblaciones que presentan un sistema reproductivo distinto al hermafrodita.

ESPECIE	SISTEMA SEXUAL	REFERENCIA
SUBFAMILIA PERESKIOIDEAE		
<i>Pereskia zinniflora</i>	Dioico	(Leuenberger, 1986)
<i>P. portulacifolia</i>	Dioico	(Leuenberger, 1986)
<i>P. quisqueyana</i>	Androdioico	(Leuenberger, 1986)
SUBFAMILIA OPUNTIOIDEAE		
<i>Opuntia stenopetala</i>	Dioico	(Bravo-Hollis, 1978)
<i>O. grandis</i> ¹	Dioico	(Bravo-Hollis, 1978)
<i>O. glaucescens</i> ¹	Dioico	(Bravo-Hollis, 1978)
<i>O. robusta</i>	Hermafrodita, Dioico y Trioico	(Del Castillo, 1986)
SUBFAMILIA CACTOIDEAE		
<i>Selenicereus innesii</i>	Ginodioico o Hermafrodita	(Kimmach, 1982)
<i>Pachycereus pringlei</i>	Trioico y Ginodioico	(Fleming <i>et al.</i> , 1994)
<i>Mammillaria dioica</i>	Ginodioico o Trioico	(Lindsay <i>et al.</i> , 1952)
<i>M. neopalmeri</i>	Ginodioico o Trioico	(Lindsay <i>et al.</i> , 1952)
<i>Neobuxbaumia mezcalaensis</i>	Androdioico	(Vallente <i>et al.</i> , 1997)
<i>Echinocereus coccineus</i>	Dioico y Hermafrodita	(Hoffman, 1992)
<i>Mitrocereus fulviceps</i>	Androdioico y Hermafrodita.	S. Arias (com. pers.)
¹ Posibles sinonimias de <i>Opuntia stenopetala</i> (Hunt, 1999; Anderson, 2001)		

OBJETIVOS

1. Analizar en ejemplares de herbario la sexualidad floral de diversas especies de cactáceas descritas como no hermafroditas.
2. Determinar el sexo en la población de *O. stenopetala* estudiada.
3. Describir la organogénesis floral y la embriología de *Opuntia stenopetala*.
4. Conocer el momento del desarrollo floral de *O. stenopetala* en que se produce la atrofia de alguno de los órganos reproductores y conocer los tejidos celulares involucrados.

MATERIAL Y MÉTODOS

SISTEMA DE ESTUDIO

Opuntia stenopetala Engelman (Bravo-Hollis, 1978)

Arbustos bajos, con frecuencia formando matorrales. *Ramas* principales procumbentes, apoyándose en el suelo por el margen del artículo, o bien pendulosas y colgantes. *Artículos* oblongos u obovados hasta orbiculares, 10 - 25 centímetros de longitud, verde grisáceo pero casi nunca glaucos, a veces rojizo - purpúreos. *Aréolas* distantes entre sí de 1 a 3 cm, carentes totalmente de espinas en una de las variedades o con espinas únicamente en la parte superior de los artículos, ovales, 3 a 4 mm de diámetro, cuando jóvenes, con fieltro blanco que pronto se torna negro. *Espinas*, cuando presentes, 2 a 6, moreno rojizas hasta negras, de 2 a 5 cm de longitud, la principal algo aplanada; glóquidas morenas muy abundantes en los artículos jóvenes. *Flores*, unisexuadas, de 27 a 32 mm de largo; pericarpelo rugoso, verde grisáceo con tintes rojizos, provisto de aréolas con escamas acuminadas de color rojo carmín, segmentos del perianto angostos, acuminados, rojo anaranjado, filamentos gruesos, cortos y de color anaranjado; estilo abortado en las flores masculinas, en las femeninas muy grueso, anaranjado con base verdosa; lóbulos del estigma generalmente 8 a 9, amarillos. *Fruto* globoso, piriforme; de 5 cm de largo a 4.5 cm de ancho, rojo púrpura, con aréolas prominentes, pequeñas, fieltro grisáceo y escaso, glóquidas de color rojo-anaranjado y algunas espinas de 1 a 2.5 cm de largo, delgadas, color blanco rojizo; pulpa jugosa, purpúrea, dulce. *Semillas* pequeñas, lisas, de 3 mm de espesor, con margen amplio, discoideas, color moreno amarillento.

Distribución: Estados de Coahuila, Nuevo León, San Luis Potosí, Tamaulipas, Zacatecas, Querétaro, Guanajuato e Hidalgo.

Del Castillo (1996) coloca a esta especie dentro de las cactáceas calcícolas, es decir, plantas que se desarrollan en sustratos calizos.

Fenología. De acuerdo a la revisión de ejemplares de herbario realizado en este estudio, *Opuntia stenopetala* florece desde el mes de Marzo hasta Junio y se pueden encontrar frutos a partir de Julio.

ÁREA DE ESTUDIO

El material biológico de *Opuntia stenopetala* fue colectado de dos localidades ubicadas en el Municipio de Cadereyta, en el estado de Querétaro. Dichas localidades se encuentran sobre la carretera que va de Cadereyta a Vizarrón, cerca de la desviación a Bellavista. La primera se localiza en el kilómetro 12 ($26^{\circ} 00.000' N 104^{\circ} 03.750' W$) a 1959 msnm y la segunda en el kilómetro 17 ($20^{\circ} 41.212' N 99^{\circ} 35.933' W$) a 1969 msnm.

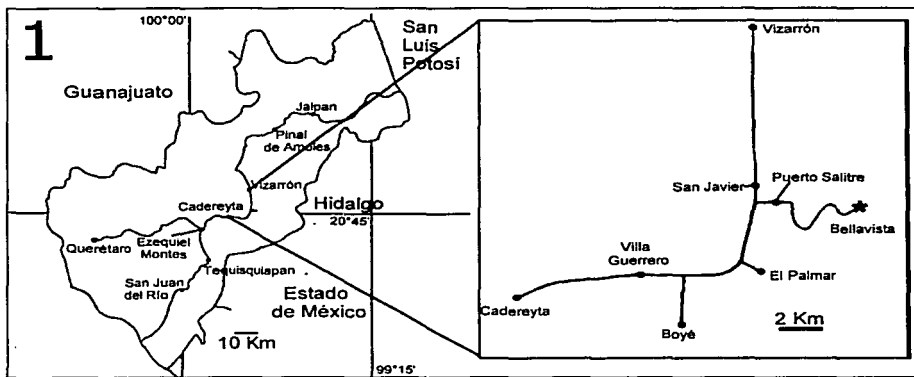


Figura 1. Mapa del Estado de Querétaro, ubicando la zona de colecta de *Opuntia stenopetala*.

El suelo en estas localidades corresponde al tipo rocoso calcáreo. El tipo de vegetación corresponde a matorral rosetófilo con *Hechtia*, *Dasilyrion* y *Agave*.

COLECTA DE MATERIAL

Se realizaron dos transectos en cada una de las dos localidades elegidas. En la primera localidad el transecto número uno constó de 160 metros de largo por 20 metros de ancho. Las coordenadas correspondientes al inicio de transecto son $20^{\circ} 42.007' N$, $99^{\circ} 37.311' W$ a una altura de 2025 metros sobre el nivel del mar (msnm). Las coordenadas finales fueron: $20^{\circ} 41.942' N$, $99^{\circ} 37.324' W$ a 2018 msnm. El segundo transecto, de dimensiones idénticas al primero inició en las coordenadas $20^{\circ} 41.959' N$, $99^{\circ} 37.332' W$ a 2036 msnm y finalizó en las coordenadas $20^{\circ} 41.959' N$, $99^{\circ} 37.276' W$ a 2033 msnm.

En la segunda localidad, el primer transecto se acortó debido a las difíciles condiciones del terreno, por lo que sus dimensiones fueron de 100 metros de largo por 20 metros de ancho. El inicio de este transecto corresponde a las coordenadas $20^{\circ} 41.176' N$, $99^{\circ} 36.154' W$, a 2020 msnm. Las coordenadas finales fueron: $20^{\circ} 41.127' N$, $99^{\circ} 36.094' W$ a una altura de 2008 msnm. El segundo transecto se inició en $20^{\circ} 41.155' N$, $99^{\circ} 36.107' W$, a una altura de 1927 msnm y finalizó en $20^{\circ} 41.215' N$, $99^{\circ} 36.042' W$, a 1932 msnm. Las dimensiones de este transecto fueron de 160 metros de largo por 20 metros de ancho.

Posteriormente se procedió a la localización de individuos de *Opuntia stenopetala*, dentro de cada transecto, que tuvieran flores en antesis ya que es la única forma de determinar el sexo de cada planta dado que a simple vista no hay características morfológicas diferenciables. Para esto, se disectaron tres flores en antesis de cada individuo colectado y se revisaron los ovarios y las anteras para conocer si producían óvulos y/o granos de polen respectivamente.

Todas las plantas encontradas fueron marcadas con cinta de plástico en la cual se rotuló el número de la planta y el sexo determinado (estaminada o masculina -M- y pistilada o femenina -F-) con la finalidad de regresar el siguiente año para saber si la expresión del sexo de los individuos se mantendría constante. Además, se registró la ubicación espacial de todos los individuos en mapas de los transectos.

Después de determinar el sexo de las plantas, se colectó el material biológico (botones florales en distintas etapas de desarrollo y flores en antesis) para ser fijado en FAA (formol, ácido acético, etanol al 96% y agua destilada; 1:0.5:5:3.5).

PROCESAMIENTO DEL MATERIAL

Posteriormente, los botones florales se separaron de acuerdo a su tamaño en longitud y se establecieron trece etapas de desarrollo (Tabla 2). En la última etapa (trece) se incluyeron las flores en antesis.

Tabla 2. Rangos de longitud de las etapas establecidas.

ETAPA	LONGITUD (mm)
1	2.0 - 3.1
2	3.2 - 4.5
3	4.6 - 7.3
4	7.4 - 8.7
5	8.8 - 9.5
6	9.6 - 11.1
7	11.2 - 13.8
8	13.9 - 15.8
9	15.9 - 17.2
10	17.3 - 18.7
11	18.8 - 21.5
12	21.5 - 25
13	>25

LAVADO Y DESHIDRATACIÓN

Para eliminar el exceso de fijador de las muestras, éstas se lavaron con agua corriente para posteriormente deshidratarlas en etanoles graduales (70%, 85%, 96%, 100% y 100%).

Una parte del material se incluyó en Paraplast y LR-White y otra se preparó para ser observada en el microscopio electrónico de barrido:

-INCLUSIÓN EN Paraplast

Para incluir en Paraplast, el material fue pasado inicialmente en Xilol por tres horas y posteriormente en mezclas Paraplast: Xilol en proporciones 1:1 y 2:1 durante 12 y 24 horas respectivamente dentro de una estufa a 56° C aproximadamente. Posteriormente se impregnaron con Paraplast puro durante 72 horas y se incluyeron en moldes metálicos. Se obtuvieron cortes de 10 µm de grosor en un micrótopo de rotación, posteriormente se desparafinaron durante 25 minutos, se pasaron por tres cambios de xilol y se hidrataron hasta etanol 96% durante tres minutos cada uno, y se tñieron con safranina - verde rápido en metilcelosolve de acuerdo a la técnica de López, *et al.* (1998).

-INCLUSIÓN EN LR-WHITE

La inclusión en LR-White tiene como paso previo realizar una mezcla LR-White:Etanol 100%, 1:1, durante dos horas. Posteriormente se incluyeron en LR-White puro durante 12 horas (2 cambios). La polimerización se llevó a cabo en cápsulas de plástico en una estufa a 56° C en ausencia de oxígeno. Se realizaron cortes de 1-2 µm de grosor en un ultramicrotomo RMC-MT990 con cuchillas de vidrio y se tñieron con azul de toluidina. Las laminillas obtenidas mediante las dos técnicas, se observaron por microscopía de luz y se tomaron fotomicrografías.

- MICROSCOPIA ELECTRÓNICA DE BARRIDO (MEB)

Para conocer la organogénesis floral, botones y flores de todas las etapas de flores pistiladas y estaminadas, se disectaron total o parcialmente removiendo las unidades del perianto. Después de deshidratarlo se procesó el material en una desecadora de punto crítico con CO₂ marca Bal-Tec, este material se montó en portamuestras metálicos y se cubrió con oro con una ionizadora CPD 030 para posteriormente ser observado en el microscopio electrónico de barrido JEOL 5310 LV. Del material observado se tomaron placas fotográficas.

RESULTADOS

EXPLORACIÓN DE EJEMPLARES DE HERBARIO

La búsqueda de ejemplares de las cactáceas descritas con sistema sexual distinto al hermafrodita en el Herbario Nacional (MEXU) se limitó a cuatro especies: *Opuntia stenopetala*, *Mammillaria dioica*, *Mitrocereus fulviceps* y *Pachycereus pringlei*, pues de las otras especies mencionadas en la tabla 1, no existen ejemplares. En total se revisaron 227 ejemplares de herbario, de los cuales 185 fueron de *O. stenopetala*, 20 de *M. fulviceps*, 14 de *M. dioica* y 8 de *P. pringlei*.

Para obtener información acerca del sistema sexual que presentan las plantas mencionadas, es necesario considerar el estado de desarrollo de los verticilos sexuales en flores en antesis. Por esta razón, sólo los ejemplares que presentan flores en antesis seccionadas fueron útiles para reconocer el sistema reproductor.

De las cuatro especies encontradas en el MEXU, sólo los ejemplares de *P. pringlei*, *M. fulviceps* y *O. stenopetala* presentan flores en antesis seccionadas en corte longitudinal (tabla 3).

Para determinar el sexo de estas plantas se tomaron en cuenta la presencia de algunas de las siguientes características morfológicas en las flores en antesis seccionadas:

Para el caso de las flores estaminadas.

1. Estilo en punta (estilodio) sin lóbulos estigmáticos.
2. Cámara del ovario reducida o ausente, con óvulos sólo en la base del ovario o sin óvulos.
3. Anteras con polen.

Para el caso de las flores pistiladas:

1. Estilo y estigma bien desarrollados, con lóbulos estigmáticos.
2. Cámara del ovario llena de óvulos.
3. Estambres sin polen (estaminodios).

Tabla 3. Ejemplares de herbario revisados en el MEXU con flores en anthesis seccionadas en corte longitudinal.

	Especie	Ejemplar	Flores	Localidad
1	<i>Opuntia stenopetala</i>	MEXU 830440	Estaminadas	Mpio. Guadalcázar, S.L.P.
2	<i>Opuntia stenopetala</i>	MEXU 856020	Estaminadas	Mpio. Guadalcázar, S.L.P.
3	<i>Opuntia stenopetala</i>	MEXU 831863	Estaminadas	Mpio. Guadalcázar, S.L.P.
4	<i>Opuntia stenopetala</i>	MEXU 736529	Estaminadas	Mpio. Dr. Arroyo, N. L.
5	<i>Opuntia stenopetala</i>	MEXU 746525	Estaminadas	Mpio. Mier y Noriega, N.L.
6	<i>Opuntia stenopetala</i>	MEXU 746527	Pistiladas	Mpio. Mier y Noriega, N.L.
7	<i>Opuntia stenopetala</i>	MEXU 746529	Estaminadas	Mpio. Guadalcázar, S.L.P.
8	<i>Opuntia stenopetala</i>	MEXU 662703	Estaminadas	Mpio. Matehuala, S.L.P.
9	<i>Opuntia stenopetala</i>	MEXU 662458	Estaminadas	Mpio. Mier y Noriega, N.L.
10	<i>Opuntia stenopetala</i>	MEXU 662264	Bisexuales	Mpio. Guadalcázar, S.L.P.
11	<i>Opuntia stenopetala</i>	MEXU 761900	Estaminadas	Mpio. Guadalcázar, S.L.P.
12	<i>Opuntia stenopetala</i>	MEXU 741420	Estaminadas	Mpio. Guadalcázar, S.L.P.
13	<i>Opuntia stenopetala</i>	MEXU 708203	Pistiladas	Mpio. Villa Guadalupe, S.L.P.
14	<i>Opuntia stenopetala</i>	MEXU 647014	Estaminadas	Mpio. Ahaululco, S.L.P.
15	<i>Opuntia stenopetala</i>	MEXU 708214	Estaminadas	Mpio. Mier y Noriega, N.L.
16	<i>Opuntia stenopetala</i>	MEXU 658072	Estaminadas	Mpio. Bustamante, Tam.
17	<i>Opuntia stenopetala</i>	MEXU 856007	Estaminadas	Mpio. Guadalcázar, S.L.P.
18	<i>Opuntia stenopetala</i>	MEXU 658097	Estaminadas	Mpio. Mier y Noriega, N.L.
19	<i>Opuntia stenopetala</i>	MEXU 746347	Estaminadas	Mpio. Mier y Noriega, N.L.
20	<i>Opuntia stenopetala</i>	MEXU 830324	Estaminadas	Mpio. Guadalcázar, S.L.P.
21	<i>Opuntia stenopetala</i>	MEXU 661959	Estaminadas	Mpio. Guadalcázar, S.L.P.
22	<i>Opuntia stenopetala</i>	MEXU 746352	Estaminadas	Mpio. Guadalcázar, S.L.P.
23	<i>Opuntia stenopetala</i>	MEXU 746474	Estaminadas	Mpio. Bustamante, Tam.
24	<i>Opuntia stenopetala</i>	MEXU 746542	Estaminadas	Mpio. Peñamiller, Qro.
25	<i>Opuntia stenopetala</i>	MEXU 658101	Estaminadas	Mpio. Mier y Noriega, N.L.
26	<i>Opuntia stenopetala</i>	MEXU 661973	Estaminadas	Mpio. Mier y Noriega, N.L.
27	<i>Opuntia stenopetala</i>	MEXU 830367	Estaminadas	Mpio. Guadalcázar, S.L.P.
28	<i>Opuntia stenopetala</i>	MEXU 836231	Estaminadas	Mpio. Guadalcázar, S.L.P.
29	<i>Opuntia stenopetala</i>	MEXU 855984	Estaminadas	Mpio. Mier y Noriega, N.L.
30	<i>Opuntia stenopetala</i>	MEXU 856011	Estaminadas	Mpio. Guadalcázar, S.L.P.
31	<i>Opuntia stenopetala</i>	MEXU 661976	Pistiladas	Mpio. Dr. Arroyo, N. L.
32	<i>Opuntia stenopetala</i>	MEXU 830354	Estaminadas	Mpio. Guadalcázar, S.L.P.
33	<i>Opuntia stenopetala</i>	MEXU 830357	Estaminadas	Mpio. Cerritos, S.L.P.
34	<i>Opuntia stenopetala</i>	MEXU 658073	Estaminadas	Mpio. Mier y Noriega, N.L.
35	<i>Opuntia stenopetala</i>	MEXU 658075	Pistiladas	Mpio. Bustamante, Tam.
36	<i>Opuntia stenopetala</i>	MEXU 925950	Pistiladas	Mpio. Real de Catorce, S.L.P.
37	<i>Opuntia stenopetala</i>	MEXU 670244	Estaminadas	Mpio. Guadalcázar, S.L.P.
38	<i>Opuntia stenopetala</i>	MEXU 746476	Estaminadas	Mpio. Bustamante, Tam.
39	<i>Opuntia stenopetala</i>	MEXU 831864	Estaminadas	Mpio. Guadalcázar, S.L.P.
40	<i>Opuntia stenopetala</i>	MEXU 746516	Pistiladas	Mpio. Mier y Noriega, N.L.
1	<i>Pachycereus pringlei</i>	MEXU 550502	Bisexuales	Mpio. Hermosillo, Son.
2	<i>Pachycereus pringlei</i>	MEXU 87383	Bisexuales	Mpio. Bahía San Carlos, Son.
1	<i>Mitrocereus fulviceps</i>	MEXU 144057	Bisexuales	Mpio. Texcala, Puebla.
2	<i>Mitrocereus fulviceps</i>	MEXU 518100	Bisexuales	Mpio. Ixcatlán, Oaxaca.
3	<i>Mitrocereus fulviceps</i>	MEXU 771943	Bisexuales	Mpio. Zapotitlán Salinas, Pue.
4	<i>Mitrocereus fulviceps</i>	MEXU 538227	Bisexuales	Mpio. Tehuacan, Puebla.
5	<i>Mitrocereus fulviceps</i>	MEXU 518260	Bisexuales	Mpio. Zapotitlán Salinas, Pue.

Para *P. pringlei* se encontraron dos ejemplares que podían proporcionar información sobre el sistema sexual; sin embargo, uno de los ejemplares (MEXU 87383) es muy antiguo (1929) y se encuentra deteriorado, por lo que es imposible caracterizar el sexo de la flor seccionada, el otro ejemplar (MEXU 550502), en buen estado, resultó ser bisexual debido a que presenta óvulos y anteras con polen.

Sólo 5 ejemplares (ver tabla 3) de *M. fulviceps* presentaron flores en antesis seccionadas. Sin embargo, todas presentaron características de flores bisexuales, es decir, anteras con polen y ovario con óvulos.

Para *Opuntia stenopetala*, del total de ejemplares revisados (tabla 3), sólo 40 poseen flores seccionadas y que por lo tanto son susceptibles de ser caracterizadas. 33 flores seccionadas (82.5%) reunieron las características de las flores estaminadas, 6 las de flores pistiladas (15%) y únicamente una (MEXU 662264) resultó ser bisexual (2.5%). Al analizar las zonas de colecta de los ejemplares, se observó que provienen de diversas localidades.

La presencia de flores bisexuales en los ejemplares de herbario nos llevó a pensar que *O. stenopetala* no es una especie completamente dioica ya que algunas poblaciones pueden presentar individuos con flores bisexuales y/o individuos con flores unisexuales.

DETERMINACIÓN DEL SEXO EN LA POBLACIÓN ESTUDIADA

Respecto al trabajo de campo, la realización de dos transectos en cada una de las dos localidades con el objetivo de determinar las proporciones sexuales en estas arrojó los siguientes resultados:

En la primera localidad, en el transecto número 1 se encontraron un total de 19 plantas de *O. stenopetala* con flores, 11 de las cuales resultaron ser plantas con flores estaminadas, las 8 restantes presentaron flores pistiladas. En el segundo transecto de esta localidad, se encontraron 32 plantas con flor, 23 estaminadas y 9 pistiladas.

En la segunda localidad, en el primer transecto se encontraron un total de 19 plantas con flor, 12 estaminadas y 7 pistiladas. En el segundo transecto se encontraron 28 plantas con flores, 14 estaminadas y 14 pistiladas. Aunque se encontraron más plantas, éstas no tenían flor, por lo que no fue posible evaluar su sexo.

En la primera localidad de un total de 51 plantas con flor, 34 (66.6%) resultaron ser estaminadas y 17 (33.4%) pistiladas, es decir una proporción 2:1. En la segunda localidad no hubo tal proporción: de un total de 47 plantas, 26 resultaron ser estaminadas (55.3%) y 21 pistiladas (44.7%). En esta localidad la proporción de sexos es cercana a 1:1. Tomando los datos de ambas localidades tenemos que de 98 plantas, 60 son masculinas (61.2%) y 38 son femeninas (38.8%). Esta proporción sexual de 1.5:1, es distinta a la proporción 1:1 esperada en una población dioica (Decker y Pilson, 2000). En la tabla 4, se resume la información de las proporciones sexuales de *O. stenopetala* encontradas en el campo.

Tabla 4. Proporciones sexuales de la población estudiada de *Opuntia stenopetala*.

	Transecto 1	Transecto 2	Porcentajes	Proporciones sexuales
Localidad 1	11 ♂	23 ♂	66.6% ♂	2:1
	8 ♀	9 ♀	33.4% ♀	
Localidad 2	12 ♂	14 ♂	55.3% ♂	1:1
	7 ♀	14 ♀	44.7% ♀	
TOTALES		60 ♂	61.2% ♂	1.5:1
		38 ♀	38.8% ♀	

De acuerdo a las disecciones realizadas en el campo, se detectaron tres variantes florales para los individuos masculinos y uno para los individuos femeninos. Las flores femeninas en antesis (figura 2) presentan la cámara del

la base y en el ápice forma múltiples lóbulos estigmáticos. Las anteras de estas flores están atrofiadas y son indehiscentes. Las flores masculinas en antesis presentan variación en la formación de la cámara del ovario y el desarrollo de óvulos. En el primer tipo floral de las flores estaminadas (figura 3), la cámara del ovario está reducida respecto a la de las flores pistiladas, además presenta óvulos únicamente en la base del ovario, este tipo floral es el que se observó de manera más frecuente. El segundo tipo floral (figura 4) de las flores estaminadas, presenta cámara del ovario pero en él no hay formación de óvulos. En el tercer tipo floral (figura 5), la cámara del ovario no se forma, este tipo floral fue el que se observó con menor frecuencia. En los tres morfos florales, el estilo está ensanchado en la base y no forma lóbulos estigmáticos en el ápice. Las anteras son dehiscentes y producen gran cantidad de granos de polen.



Figuras 2-5. Tipos florales encontrados en la población estudiada de *Opuntia stenopetala*. Fig. 2. Flor pistilada; Figuras 3-5, diferentes expresiones de flores estaminadas. Fig. 3. Flor con óvulos en la base del ovario. Fig. 4. Flor con ovario vacío. Fig. 5. Flor sin cavidad de ovario.

ORGANOGENESIS FLORAL Y EMBRIOLOGÍA

Utilizando el microscopio electrónico de barrido y realizando cortes histológicos se comparó y describió el desarrollo floral de *Opuntia stenopetala* y se reportan los principales eventos a largo de las 13 etapas de desarrollo establecidas. La

los principales eventos a largo de las 13 etapas de desarrollo establecidas. La transición de meristemo vegetativo a meristemo floral y el surgimiento inicial de los tépalos no fueron observados. La presente descripción inicia a partir del momento en que los carpelos se hacen evidentes entre los primordios de estambres.

Las flores de individuos masculinos y femeninos inician el desarrollo de los dos órganos sexuales, el androceo y el gineceo, es decir, son bisexuales en etapas tempranas del desarrollo (figura 6).

De las etapas 1 a 5 (2 - 9.5 mm) se pueden encontrar primordios carpelares y estaminales tanto en las flores de los individuos masculinos (figuras 7 y 9) como en las flores de individuos femeninos (figuras 8 y 10). El dimorfismo floral surge en las subsecuentes etapas (6 a 13), estas diferencias son muy notables en la formación del gineceo, no así en el crecimiento de los estambres en las flores pistiladas, los cuales tienen una morfología externa similar a la de los estambres de las flores estaminadas.



Figura 6. Botones florales de las etapas de desarrollo establecidas. Durante las primeras 5 etapas los botones son potencialmente bisexuales, a partir de la etapa 6 se distinguen las flores estaminadas de las pistiladas.

Para completar el estudio del desarrollo, se realizaron cortes histológicos a fin de conocer qué es lo que sucede en el interior del ovario y los óvulos, así como en las anteras, tanto de flores pistiladas como de flores estaminadas (figuras 10 y 11).

En las etapas 1 a 5, los primordios carpelares se localizan en el centro de la flor y alrededor encontramos aproximadamente 120 primordios estaminales los cuales tienen una apariencia cilíndrica. El desarrollo de estos últimos es centrífugo, es decir, los primordios más cercanos al gineceo están ligeramente más desarrollados que los que se encuentran en la periferia (figuras 7 y 8).

Se encuentran de cuatro a seis primordios carpelares por debajo de los primordios estaminales. Los ápices carpelares están separados unos de otros (figura 9).

FLOR ESTAMINADA

Desarrollo del androceo (♂)

La organogénesis de los verticilos sexuales comienza con la diferenciación de los estambres (etapa 4). La parte apical de cada primordio estaminal comienza a aplanarse para formar posteriormente la antera, esto no ocurre en la parte basal que formará el filamento (figuras 12 y 13).

En los cortes histológicos se observa que los primordios de la antera están formados por una protodermis que rodea al tejido arquesporral (figura 14). Este último se divide mitóticamente en sentido periclinal a la superficie para dar origen a dos tejidos: el más interno se diferencia en tejido esporógeno y el más externo y en posición subepidérmica en capa parietal primaria, la cual se divide para formar a las capas parietal secundaria externa e interna (figura 15) a partir de las cuales se formará la pared de la antera.

En la siguiente etapa (5), es notable el desarrollo asincrónico de las anteras (figura 16), las más cercanas al centro de la flor, muestran la formación de dos lóbulos con dos esporangios cada uno. Las anteras que se desarrollan en la periferia, se asemejan mucho a las de la etapa de desarrollo anterior ya que aún muestran el aplanamiento en la parte apical (figura 16). En las etapa 6

todos los estambres tienen filamentos y anteras bilobuladas y tetraesporangiadas (figuras 17 y 18). En la etapa 7 se observaron las divisiones celulares que dan origen a la pared de la antera.

En el interior de la antera las células esporógenas se multiplican mitóticamente y aumentan de tamaño convirtiéndose en células madres de las microsporas (etapa 8) con un núcleo grande y citoplasma denso producto de una gran actividad metabólica (figuras 19—21).

Al centro de cada microsporangio se encuentran las células madres de las microsporas. Generalmente en corte histológico transversal se observa una sola célula madre de la microspora porque se forma una sola hilera celular a lo largo del microsporangio (figura 21 y 22).

Posteriormente (etapa 9) las células madres de las microsporas se preparan para meiosis depositando calosa alrededor de ellas (figura 23 y 24). La meiosis da como resultado una tétrada tetraédrica de microsporas rodeada de calosa (etapa 10, figura 25). Cuando las microsporas son liberadas de la tétrada, puede observarse la pared de exina formada (figura 26). En la etapa 11 se observan granos de polen jóvenes y sobre ellos, posibles cuerpos de Übisch que han sido secretados por el tapete de tipo secretor, estos cuerpos servirán para completar la formación de la pared del grano de polen (figura 27). En la etapa 12 la capa media y el tapete son reabsorbidos por lo que la antera madura sólo consta de epidermis y endotecio con engrosamientos en la pared celular (figura 28).

Una vez que la pared de calosa se ha degradado, se tiene un grano de polen joven de forma casi esférica debido a que está hidratado (figura 28).

Cuando la antera está madura (etapa 13), se abre para liberar al polen (figura 29 y 30). En esta etapa los granos de polen están rodeados de restos de tapete y pueden observarse las aperturas en forma de poros (figura 31).

Un grano de polen maduro y deshidratado muestra múltiples poros en forma ligeramente ovalada (figuras 32) y se observa una ornamentación reticulada para la exina (figura 33). El grano de polen maduro es esferoidal de 80 μm de diámetro aproximadamente, apolar, poliporado. La exina es semitectada y reticulada.

Desarrollo de la pared de la antera (σ)

En la etapa 7 se observó que la capa parietal primaria se divide para formar a las capas parietal secundaria externa e interna, la interna formará directamente el endotecio, ubicado adyacente a la epidermis.

La capa parietal interna se divide periclinalmente para dar origen a una capa media uniestratificada y al tapete de tipo secretor. Este tipo de desarrollo de la pared de la antera es de tipo monocotiledóneo (figura 19).

Un corte transversal de una antera, muestra la forma bilobulada y tetraesporangiada (figuras 15 y 16), así como un tejido conectivo con el haz vascular y drusas. Cada esporangio muestra cuatro capas celulares uniestratificadas que forman la pared de la antera, éstas son, de afuera hacia adentro: epidermis, endotecio con algunas de sus células conteniendo drusas, capa media y el tapete (figuras 20, 24 y 26). Las cuatro capas de la pared de la antera se mantienen hasta la etapa 12, a partir de esta, empiezan a degenerar el tapete y la capa media, por lo que en la etapa 13 encontramos sólo a la epidermis y al endotecio (figura 28).

Desarrollo del gineceo (σ)

Los carpelos, que en un inicio se mostraban separados (figura 9), se van fusionando en la parte apical (figura 12) para formar el ovario. Una vez fusionados, inician la formación de un estilo. Los ápices del carpelo se bifurcan

varias veces en el ápice pero sin llegar a formar lóbulos estigmáticos (figuras 17 y 18), de tal manera que el estilo termina en punta. El estilo detiene su desarrollo en la etapa 5.

La parte correspondiente al ovario, tiene una amplia variación en cuanto a la formación de óvulos y desarrollo de los mismos.

En el ovario, los óvulos solamente inician su desarrollo en la base del ovario, por lo tanto la placentación es de tipo basal (figura 34). Estos primordios de óvulo, en algunas flores sólo se alargan hasta formar unas protuberancias amorfas (figura 35), en las cuales no se pueden distinguir los primordios tegumentarios, sino únicamente nucelas aplanadas, que permanecen así hasta la antesis (figura 36).

En otras ocasiones, los primordios de óvulo tienen un inicio de desarrollo aparentemente normal que sin embargo no se completa (figuras 37 y 38). En estos casos en las nucelas se llegan a formar los primordios del tegumento interno y el externo, sin embargo, el desarrollo se detiene debido a la falta de divisiones celulares, esto ocurre en la etapa de desarrollo número 8, permaneciendo así, en ambos casos, hasta la antesis.

El funículo que en las flores pistiladas envuelve por completo al óvulo, en estos individuos no lo hace, aunque si hay una ligera curvatura del primordio nucelar (figuras 37 y 38).

En otros individuos, el ovario permanece completamente vacío ya que nunca se inicia el desarrollo de los primordios de óvulo (figura 39).

En los tres morfos de las flores estaminadas, la parte del gineceo que correspondería al estigma nunca se forma, por lo que se reconoce como un estilodio (figuras 40 y 41).

FLOR PISTILADA

Desarrollo del gineceo (♀)

En el inicio del desarrollo, la flor pistilada es muy parecida a la estaminada, dado que se forman primordios carpelares y estaminales. Sin embargo, pronto son notables las diferencias en el desarrollo de los dos morfos florales.

Los carpelos, separados en un inicio, pronto se fusionan iniciando la formación de un estilo (figura 42).

En las flores pistiladas al fusionarse los carpelos (etapa 4) se forma un solo lóculo en el cual los óvulos tienen placentación parietal y se arreglan formando una hilera en la parte media de cada carpelo (figura 43).

En la siguiente etapa (5), sobre el estilo se observa la formación de los lóbulos estigmáticos (figura 44).

El desarrollo de los óvulos comienza con la formación de nucelas originadas de la placenta como un tejido parenquimático de posición subprotodérmica (figuras 45 y 46), éstas inician su desarrollo (etapa 5) en la zona donde los carpelos se fusionaron formando dos hileras de primordios de óvulo por cada carpelo, en cada hilera los óvulos se arreglan a la derecha e izquierda de un septo incompleto (figura 43). En esta etapa, se nota que los óvulos se desarrollan de manera asincrónica, se observa que hay protuberancias de mayor tamaño que otras. Las de menor tamaño se localizan hacia la base del ovario (figura 43). Estas nucelas crecen (etapa 6) y empiezan a curvarse debido a que la parte dorsal tiene una tasa de crecimiento mayor que la parte ventral (figuras 47 y 48). Al mismo tiempo, en algunas nucelas, en la parte apical empieza el desarrollo del tegumento interno (figura 48). Pronto, surge una nueva protuberancia que se diferenciará en el tegumento externo (figura 49).

están bien diferenciados, en otros apenas se inicia el desarrollo del tegumento interno, también se encuentran etapas intermedias a estas dos (figuras 50).

Al mismo tiempo que se forman los tegumentos, una célula hipodérmica de la nucela se diferencia como célula arquesporial y aumenta su tamaño. La célula arquesporial se divide para formar dos células: una parietal localizada por debajo de la epidermis y una célula esporógena, la cual se convierte en la célula madre de las megasporas (etapa 10, figura 51). La célula parietal tiene varias divisiones mitóticas que forman una nucela abundante, lo cual ocasiona que la célula madre de las megasporas tenga una posición profunda en la nucela (al menos dos estratos por debajo de la epidermis) alejada de su posición hipodérmica original, por lo tanto el óvulo es crasinucelado.

El óvulo continúa curvándose (etapa 11) y el ápice de los tegumentos rodea casi por completo a la nucela. El micrópilo está formado por el tegumento interno, por lo tanto el óvulo es endostomo. En este momento el micrópilo está orientado hacia la parte superior del ovario. Los tegumentos tienen dos estratos, excepto en la parte micropilar, donde el tegumento interno llega a estar formado por tres estratos (figura 51).

Hacia la etapa 12, el funículo continúa su crecimiento hasta que envuelve por completo al óvulo de modo que éste queda oculto (figuras 52 y 53). Por ello, fue necesario remover una parte del funículo para poder observar la formación del micrópilo en cada óvulo (figuras 54 y 55). En la parte ventral del funículo se encuentran pequeñas papilas o tricomas epidérmicos que van creciendo conforme el óvulo va alcanzando su madurez (figura 52).

Cuando los tegumentos cubren totalmente a la nucela queda únicamente una abertura ó micrópilo formado por el tegumento interno (figura 55). El funículo en este momento da casi una vuelta y media rodeando al óvulo, de tal manera que el micrópilo ahora queda dirigido hacia la placenta y ésta es su posición final (figura 56). El funículo tiene un ensanchamiento en su parte dorsal, este

final (figura 56). El funículo tiene un ensanchamiento en su parte dorsal, este ensanchamiento alcanza la parte ventral y se fusiona con ella formando la cubierta funicular (etapa 13, figura 57).

La mayoría de los óvulos poseen un funículo propio (figura 57), sin embargo en ocasiones dos óvulos comparten la parte basal de un mismo funículo (figura 58).

En antesis, el óvulo es campilótropo (debido a que la nucela es curva), bitégmico, crasinucelado y endóstomo.

Por otra parte, los carpelos se fusionan para formar el estilo, el cual se bifurca en el ápice varias veces para dar origen a los lóbulos estigmáticos (figura 59 y 60), cada uno de estos lóbulos desarrolla numerosas papilas, completando así la zona receptiva del estigma (figura 61). En flores pistiladas en antesis se encontraron granos de polen germinando sobre las papilas estigmáticas (figura 62). Los óvulos encontrados en esta etapa (13) al parecer ya están fecundados, pues al remover el funículo se observa el inicio de la formación de la testa (figuras 63).

Desarrollo de la pared de la antera (♂)

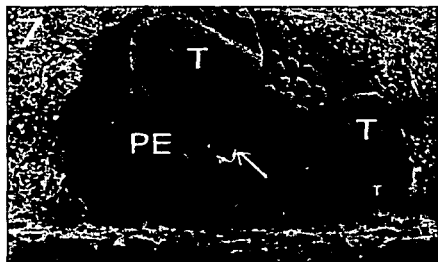
En las flores pistiladas, la formación de la pared de la antera es igual que en las anteras de las flores estaminadas, es decir, el desarrollo es de tipo monocotiledóneo porque la capa parietal interna se divide para formar la capa media y el tapete, dando una pared formada por epidermis, endotecio, capa media y tapete, todas estas capas celulares son uniestratificadas.

Los primordios estaminales observados en etapas tempranas del desarrollo, tienen una morfología externa semejante (figura 64—66) a la que se presenta en flores estaminadas (etapas 1—9).

En cortes histológicos, la antera tiene un desarrollo normal hasta que las células madres de las microsporas se rodean de calosa (figuras 67 y 68), al continuar el desarrollo, no se forma una tétrada de microsporas, sino que en su lugar se encuentran secreciones irregulares (figuras 69 y 70) que pueden ser cantidades excesivas de calosa o bien sustancias producto de la degeneración del tapete, rodeando a la células madres de las microsporas, las cuales no entran a meiosis y muestran una estructura amorfa, el tapete que debiera tener una actividad intensa en esta etapa no la tiene y se observa desorganizado y amorfo (figura 71). La apariencia amorfa de estas células surge en la transición que el botón tiene al pasar de la etapa 10 a la etapa 11.

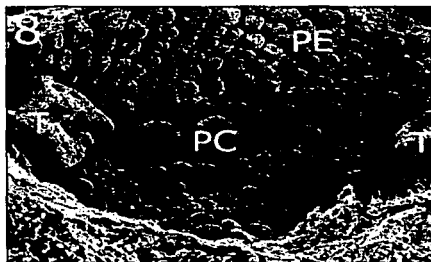
Los filamentos y las anteras detienen su crecimiento y comienzan a colapsarse, de tal manera que al llegar a la antesis (etapa 13), los estambres son de menor tamaño que los de las flores estaminadas y las anteras son indehiscentes. Para comparar la longitud de los estambres de flores estaminadas y pistiladas, se midieron con un vernier las longitudes de 10 estambres en 4 flores pistiladas y 6 estaminadas. La longitud media de los estambres de las flores estaminadas es de 6.6 mm, la de los estambres de las flores pistiladas es de 3.81 mm. Como se puede observar, el tamaño de los estambres en las flores estaminadas es de casi el doble que los estambres de las flores pistiladas.

♂



Vista frontal de botón estaminado, se observan los tépalos (T) arreglados en espiral, los múltiples primordios estaminales (PE) y los primordios carpelares (flecha). MEB. 150x.

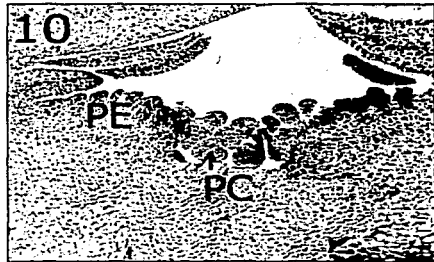
♀



Vista frontal de botón pistilado, se observan los primordios estaminales (PE), los primordios carpelares (PC) al centro y dos tépalos (T). MEB. 200x.

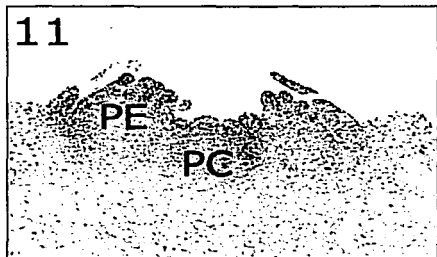


Botón estaminado visto lateralmente, los primordios carpelares (PC) se localizan por debajo de los primordios estaminales (PE). MEB. 200x.



Corte longitudinal de botón pistilado. Al centro, los primordios carpelares (PC) y rodeándolos los primordios estaminales (PE). 33x.

♂



11
Corte longitudinal de botón estaminado. Al centro los primordios carpelares (PC) y alrededor los primordios estaminales (PE). 33x.



12
Panorámica de flor estaminada, se observan los carpelos fusionados (G) y el aplanamiento de los estambres (E) en su parte apical. MEB. 100x.



13
Acercamiento a los estambres para observar el aplanamiento apical que diferenciará a la antera (A) del filamento (F). MEB. 350x.



Corte longitudinal de antera formada por una protodermis (Pt) y por el tejido arquesporial (TA). 330x.

♂



Corte transversal de antera, se observan la capa parietal secundaria externa (PE) e interna (PI) producto de la división de la capa parietal primario. 330x.



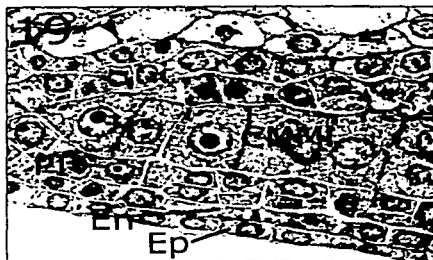
Desarrollo asincrónico de los estambres. Con respecto a la posición del gineceo (G), los estambres más cercanos (E*) muestran ya la forma que tendrán en la madurez, mientras que los más alejados (E) se asemejan a los de la etapa anterior. Los carpelos ya se han fusionado. MEB. 100x.



Los estambres (E) continúan diferenciándose, todas las anteras tienen ya forma bilobulada, además, los carpelos fusionados (C) muestran bifurcaciones en el ápice. MEB. 75x.



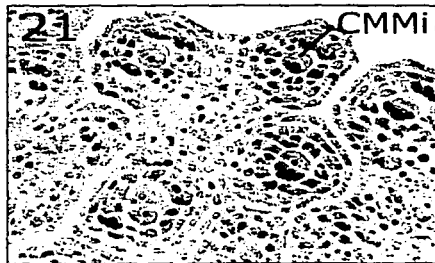
Estambres diferenciados en anteras con forma bilobulada (A) y filamento (F). El carpelo (C) muestra bifurcaciones en el ápice (flechas). MEB. 150x.



Corte longitudinal de antera mostrando el desarrollo de la pared de la antera, compuesta en este momento por una epidermis (Ep), un endotecio (En) y la capa parietal secundaria interna (PI) dividiéndose. En otra parte de la pared de la antera, ya se formó el tapete (T) y la capa media (CM). Al centro las células madres de las microsporas (CMMi). 330x.



Corte longitudinal de antera, mostrando las células madres de las microsporas (CMMi), y los estratos de la pared de la antera: epidermis (Ep), endotecio (En), capa media (CM) y tapete (T). 330x.

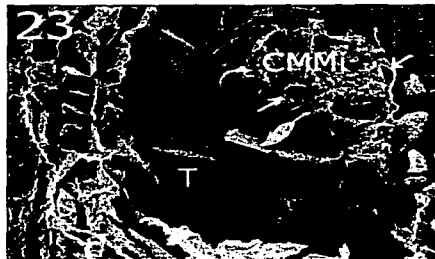


Corte transversal de antera mostrando las células madres de las microsporas (CMMi) en el esporangio que forman una hilera a lo largo de éste. 132x.



Antera inmadura mostrando la forma bilobulada tetraesporangiada. MEB. 350x.

♂



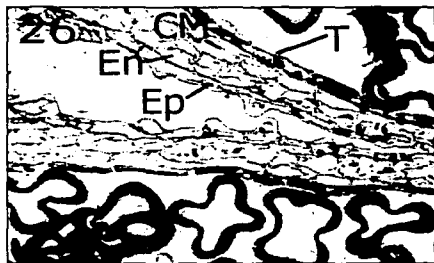
Acercamiento a uno de los esporangios de la antera. Se observa a las células madres de las microsporas (CMMi) rodeadas de calosa (flechas) y a las células del tapete (T). MEB. 1500x.



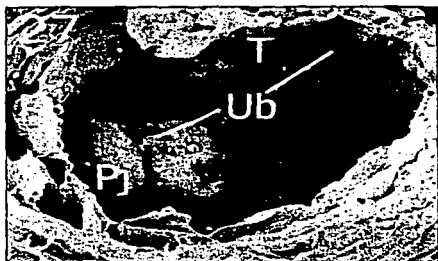
Corte longitudinal de antera mostrando a las células madres de las microsporas (CMMi). La pared de la antera formada por epidermis (Ep), endotecio (En), una capa media (CM) y el tapete (T). 132x.



Corte longitudinal de antera mostrando una tétrada tetraédrica de microsporas (TMi) rodeada de calosa (flecha) y un tapete secretor (T). 132x.



Corte longitudinal de antera. En la pared de la antera permanecen la epidermis cuyas células se vuelven papiladas (Ep), el endotecio (En) que presenta drusas (flecha), la capa media (CM) y el tapete (T), aunque este comienza a degenerar. 132x.



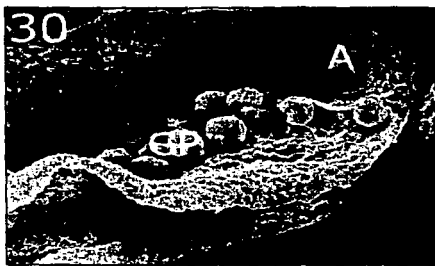
Cuerpos de Übisch (Ub) tanto en el tapete (T), como en los granos de polen jóvenes (Pj), recién liberados de la tétrada. MEB. 1000x.



Corte histológico de antera madura, mostrando granos de polen (GP) y pared de la antera (PA) formada por epidermis y endotecio. 132x.



Antera dehiscente (A) liberando los granos de polen (GP). MEB. 35x.

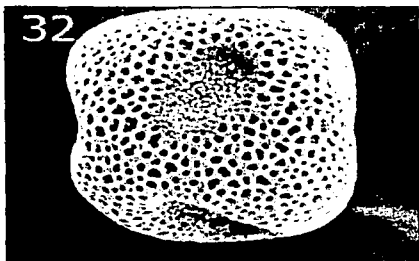


Antera dehiscente (A) liberando los granos de polen maduros (GP). MEB. 200x.

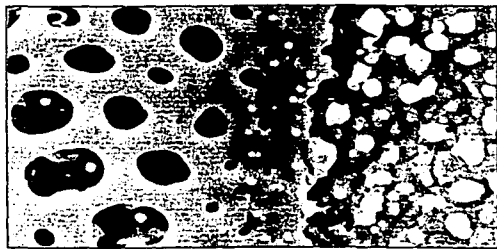
♂



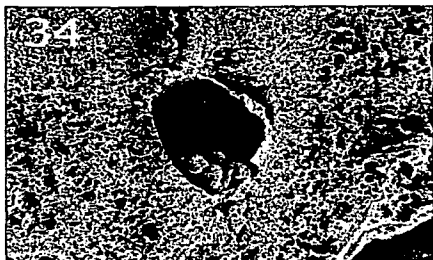
Granos de polen liberados, rodeados de restos del tapete (RT). MEB. 500x.



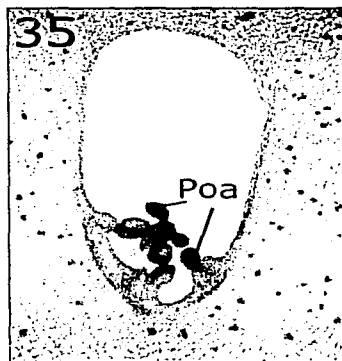
Grano de polen maduro e hidratado mostrando sus múltiples poros. MEB. 1000x.



Acercamiento a la exina mostrando la ornamentación semitectada reticulada y la ornamentación de los poros. MEB. 7500x.



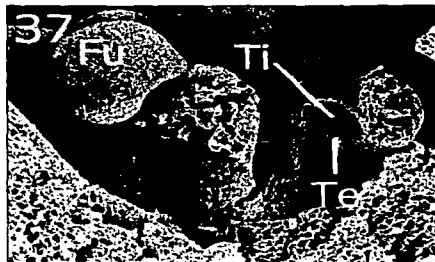
Ovario de flor estaminada mostrando la placentación basal. MEB. 35x.



Corte histológico de ovario de flor estaminada mostrando placentación basal de las primordios de óvulo amorfos (Poa). 33x.

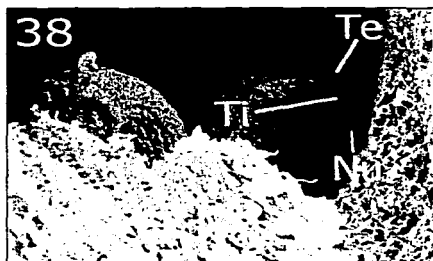


Base del ovario de una flor estaminada mostrando protuberancias nucelares amorfas. MEB. 150x.

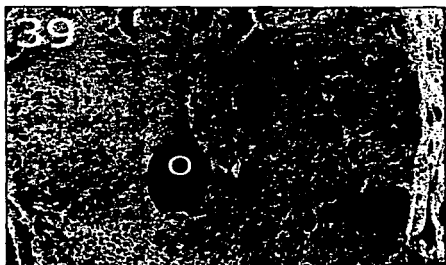


Óvulos de flor estaminada en antesis. Se observa la formación de tegumento interno (Ti) y del externo (Te). El funículo (Fu) no envuelve por completo al óvulo. MEB. 200x.

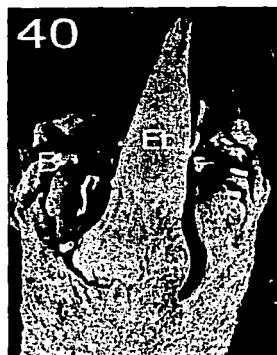
♂



38 Desarrollo de óvulo en flor estaminada, se observa la formación del tegumento interno (Ti) y el inicio del externo (Te), que no llegan a cubrir a la nucela (Nu). MEB. 350x.



39 Flor estaminada mostrando el ovario vacío (O), no hay formación de óvulos. MEB. 50x.

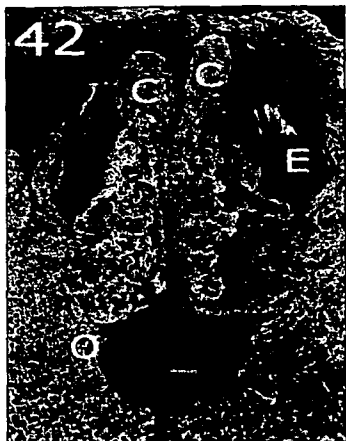


40 Vista panorámica de flor estaminada, mostrando el estilodio (Et). Los estambres (E) casi completan su desarrollo. MEB. 15x.



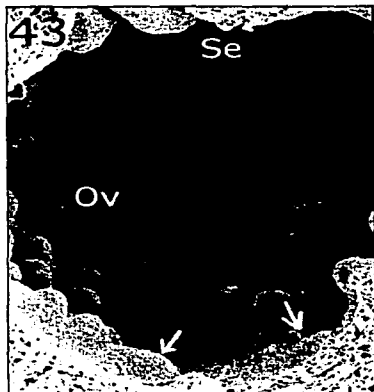
41 Flor estaminada mostrando el estilodio (Et) con bifurcaciones incompletas que no formarán lóbulos estigmáticos. Los estambres (E) casi completan su desarrollo. MEB. 35x.

♀



Corte longitudinal de botón de flor pistilada. Los carpelos (C) aún no terminan de fusionarse para formar el estilo y estigma. El ovario (O) muestra el desarrollo de primordios de óvulos. Los estambres (E) tienen un desarrollo similar a los de las flores estaminadas. MEB. 50x.

Corte longitudinal de ovario de flor pistilada mostrando placentación parietal y el arreglo de los óvulos en hileras a la derecha e izquierda de cada septo incompleto (Se). Las flechas indican los primordios de óvulos más pequeños. MEB. 200x.



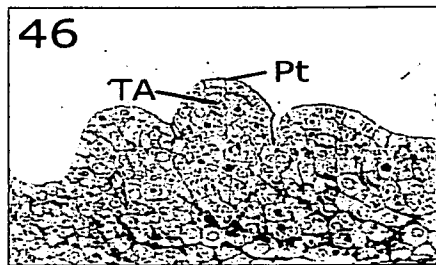
♀



Flor pistilada. El gineceo diferenciado en Ovario (O), estilo (E) y estigma con lóbulos estigmáticos (Le). Los estambres (E) dan la apariencia morfológica de flor hermafrodita. MEB. 50x.

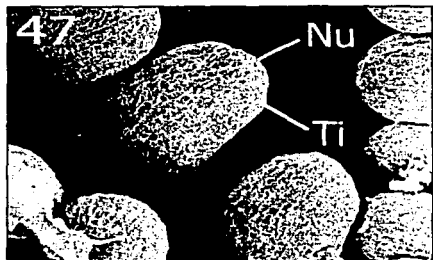


Primordios de óvulo o nucelas (Nu) originándose de la placenta. MEB. 500x.

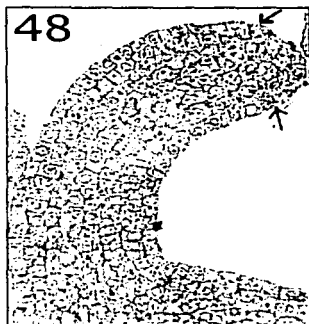


Corte longitudinal de primordios de óvulo formados por protodermis (Pt) y tejido arquesporial (Ta). 132x.

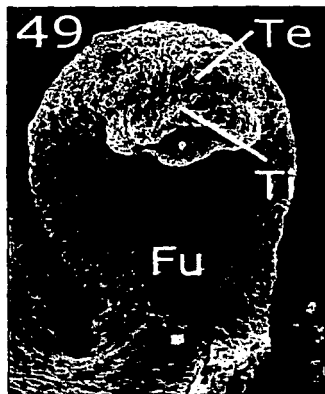
♀



47 Primordios de óvulo curvándose. Se observa la nucela (Nu) y el primordio del tegumento interno (Ti). MEB. 500x.

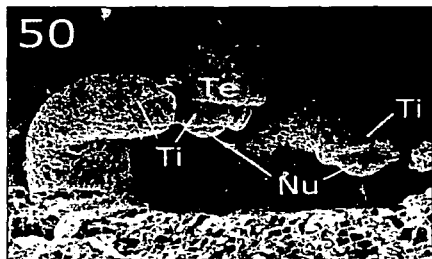


48 Corte longitudinal de primordio de óvulo. Las flechas indican los primordios del tegumento interno. 132x.

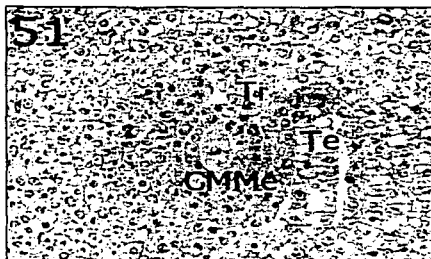


49 Óvulo con los primordios del tegumento interno (Ti) y externo (Te). El funículo (Fu) continúa creciendo y ensanchándose. MEB. 500x.

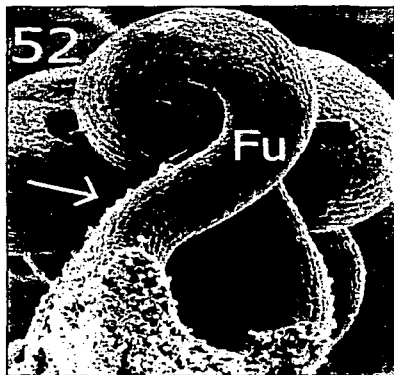
♀



Óvulos con desarrollo asincrónico. En el central se ha iniciado el desarrollo de los dos tegumentos: interno (Ti) y externo (Te). En los óvulos de los extremos el tegumento interno en distinta etapa de desarrollo. MEB. 350x.

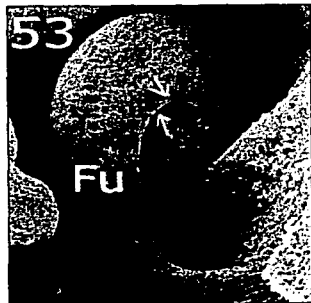


Corte longitudinal de óvulo en el cual se observa la célula madre de las megasporas (CMMe). El tegumento interno (Ti) que forma al micrópilo, en su parte apical tiene más de dos estratos de grosor. Te (tegumento externo). 132x.



Óvulo enrollado debido al crecimiento diferencial del funículo (Fu) que presenta tricomas (flecha) en la parte ventral. MEB. 200x.

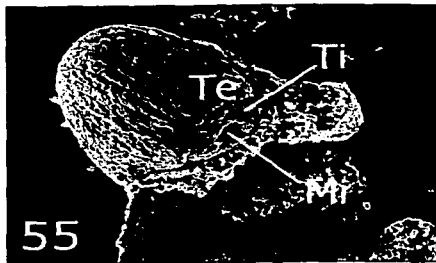
♀



El funículo (Fu) crece más en la parte dorsal que en la ventral ocasionando que se enrolle y cubra al óvulo, además, se va ensanchando lateralmente (flechas). MEB. 200x.

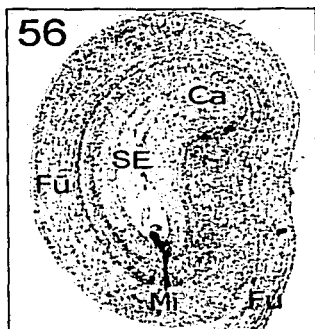


Óvulo con el funículo (Fu) parcialmente removido de modo que se observan los tegumentos interno (Ti) y externo (Te). MEB. 350x.

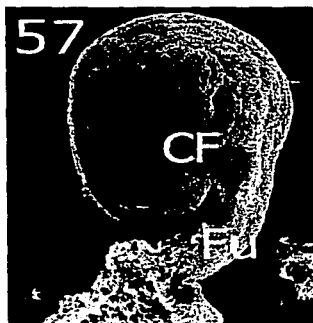


Óvulo con el funículo removido. Se observa al tegumento interno (Ti) y al tegumento externo (Te). El interno forma el micrópilo (Mi). MEB. 350x.

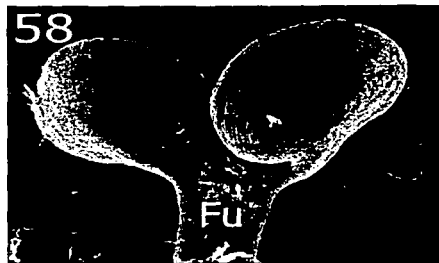
♀



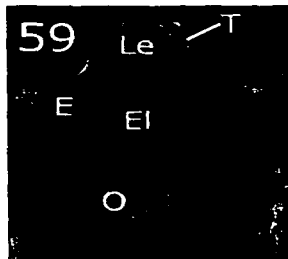
56
Corte longitudinal de óvulo. El micrópilo (MI) queda dirigido hacia la placenta, mientras que el funículo (Fu) da una vuelta y media cubriendo al óvulo. Ca (cálaza), SE (saco embrionario). 33x.



57
Cubierta funicular (CF) formada por un ensanchamiento y fusión de la parte lateral del funículo. MEB. 100x.



58
Óvulos compartiendo un mismo funículo (Fu). MEB. 100x.



59
Vista panorámica de botón floral. Se observa el ovario (O), estilo (EI) y estigma bifurcado en lóbulos estigmáticos (Le), estos junto con los estambres (E) están cubiertos por tépalos (T). MEB. 15x.



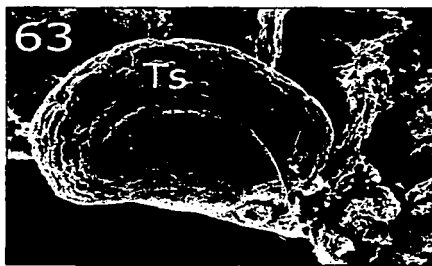
60 Flor pistilada. Acercamiento a los lóbulos estigmáticos en el cual se observa la formación de papilas estigmáticas que al extenderse forman la zona receptiva del estigma. MEB. 100x.



61 Flor pistilada casi en anthesis, los lóbulos estigmáticos extendidos formando la zona receptiva del estigma. MEB. 50x.



62 Grano de polen germinando sobre las papilas estigmáticas de una flor pistilada. MEB. 750x.

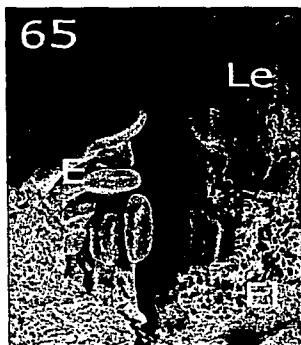


63 Óvulo fecundado en el cual se empieza a formar la testa (Ts). El funículo ha sido removido. MEB. 150x.

♀



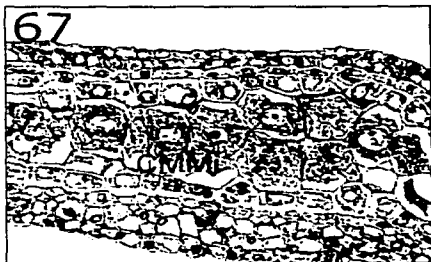
Vista de flor pistilada, los estambres (E) se parecen mucho a los de las flores estaminadas. Los carpelos (C) aún no se fusionan. MEB. 75x.



Flor pistilada, los estambres (E) muestran una morfología normal semejante al de las flores estaminadas, pero a diferencia de éstas, hay formación de lóbulos estigmáticos (Le) a partir del estilo (Ei). MEB. 100x.



Estambres de una flor pistilada, las anteras (A) y el filamento (F) tienen una estructura morfológica externa similar a la de las flores pistiladas. MEB. 100x.

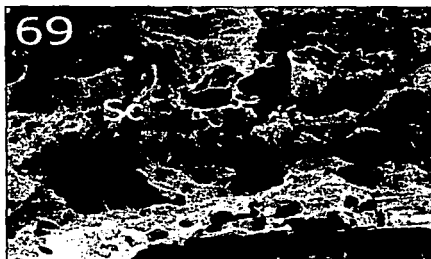


Corte longitudinal de antera de flor pistilada, las células madres de las microsporas (CMMi) están rodeadas de calosa, la pared de la antera al igual que en las anteras de las flores estaminadas, se compone de 4 estratos. 132x.

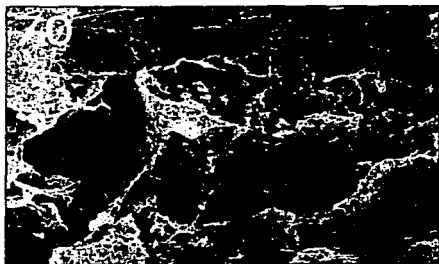
♀



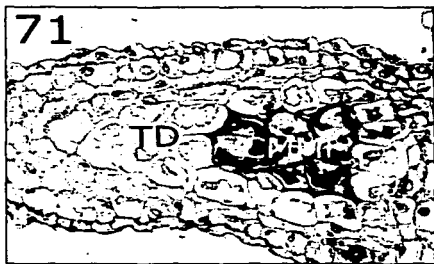
Antera de flor pistilada en la que se observa una célula madre de las microsporas (CMMi) rodeada de calosa (Ca).



Interior de una antera de flor pistilada en la que se observan secreciones irregulares (Sc) provenientes probablemente del tapete. MEB. 1500x.



Acercamiento del interior de una antera de flor pistilada en la que se observa una célula irregular. MEB. 3500x.



Corte histológico de antera de flor pistilada en la que las células del tapete están degeneradas (TD) al igual que las células madres de las microsporas (CMMi). 132x.

DISCUSIÓN

La familia Cactaceae es predominantemente hermafrodita, ya que de las aproximadamente 2000 especies que se han reportado (Anderson, 2001), únicamente 14 especies agrupadas en 8 géneros se han descrito que presentan flores unisexuales (ver tabla 1).

La unisexualidad en los miembros de la familia Cactaceae posiblemente ha surgido en múltiples ocasiones teniendo también diversos orígenes, esta suposición se hace basándonos en que los taxa que presentan flores unisexuales no tienen relación filogenética estrecha entre sí. La clasificación filogenética de la familia, hecha por Nyffeler (2002), fue tomada como modelo para ubicar la posición de las especies de la tabla 1. *Opuntia stenopetala*, *O. grandis*, *O. glaucescens*, *O. robusta*, *Selenicereus innesii*, *Mammillaria dioica*, *M. neopalmeri*, *Echinocereus coccineus* y *Pachycereus pringlei* fueron colocados junto a especies del mismo género incluidas en el análisis. Debido a que los géneros *Neobuxbaumia* y *Mitrocereus* no aparecen en el análisis, las especies *Neobuxbaumia mezcalaensis* y *Mitrocereus fulviceps* fueron colocadas junto al taxa filogenéticamente más cercano, en este caso, la especie *Pachycereus schottii*, porque las tres especies pertenecen a la misma tribu: Pachycereeae.

En la figura 72 se muestra la posición que guardan los taxa mencionados, y se observa que con excepción de las especies del género *Opuntia* y las que pertenecen a la tribu Pachycereeae de la subfamilia Cactoideae, las demás no tienen relación filogenética estrecha, por lo que podemos suponer que la unisexualidad floral ha surgido de manera independiente en estos taxa. Otro hecho que apoya que la unisexualidad ha surgido de manera independiente en varias ocasiones en la familia, es que las flores unisexuales presentan patrones morfológicos diferentes. En el primero de estos patrones, las flores son casi completamente unisexuales desde que comienzan su desarrollo, es decir no hay vestigios del sexo opuesto en las flores unisexuales, tal es el caso de *Selenicereus innesii* (Kimnach, 1982), en el que las flores pistiladas no presentan estambres vestigiales. Esta especie, es la única que se ha reportado que presente este tipo de estrategia.

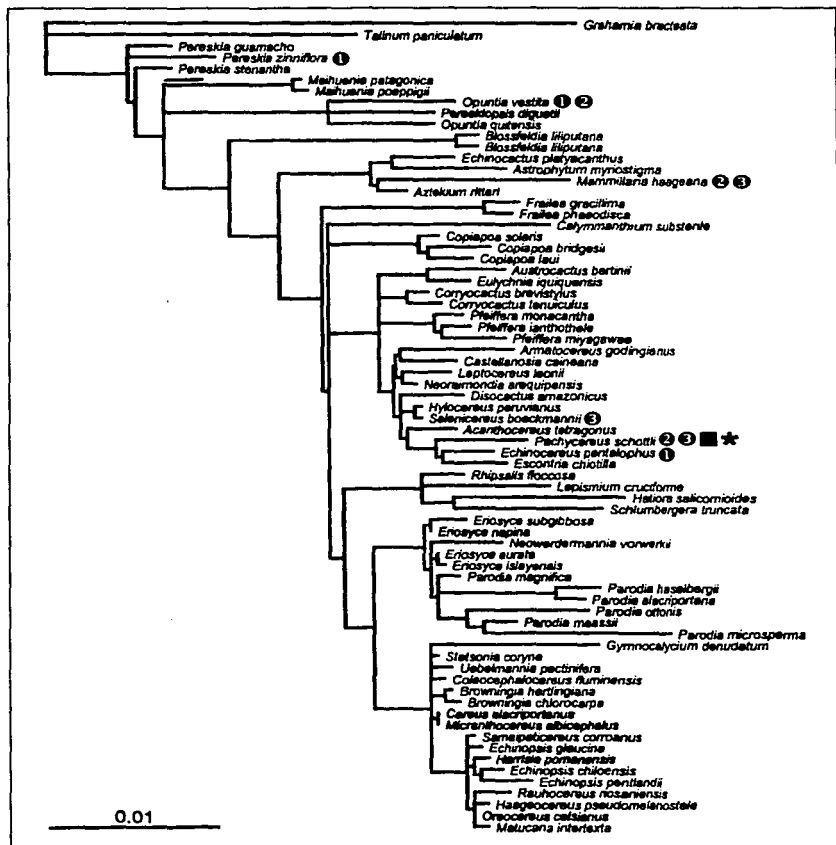


Figura 72. Árbol de máxima similitud para la familia Cactaceae derivado de un análisis de aproximación sucesiva del conjunto de datos *trnK/matK* basado en el modelo de evolución molecular HKY85 + Γ . Se distinguen los taxa donde se han originado sistemas sexuales distintos del hermafrodita. ①=dicoico, ②=trioico, ③=ginodioico, ★=*Neobuxbaumia mezcalaensis* (Androdioico) y ■=*Mitrocereus fulviceps* (Androdioico), estos géneros no están en el análisis, pero se muestran con taxa relacionados (tribu Pachycereae) (Modificado de Nyffeler, 2002).

El otro mecanismo que lleva a la unisexualidad floral en la familia, es aquel donde las flores son potencialmente bisexuales en el inicio del desarrollo, pero conforme éste avanza, alguno de los dos órganos sexuales detiene su desarrollo quedando como órgano vestigial (no funcional) en las flores maduras. Con este tipo de estrategia se reportan la mayoría de las cactáceas que presentan flores unisexuales, tales como *Pachycereus pringlei* (Fleming et al., 1994), *Opuntia robusta* (Del Castillo, 1986; Del Castillo y González, 1988), *Echinocereus coccineus* (Hoffman, 1992), *Neobuxbaumia mezcalaensis* (Valiente et al., 1997), *Pereskia zinniflora*, *P. portulacifolia* y *P. quisqueyana* (Leuenberger, 1986), *Mammillaria dioica*, *M. neopalmeri* (Bravo-Hollis, 1978; Lindsay y Dawson, 1952) y *Opuntia stenopetala*.

Los estudios que describan el desarrollo floral de las especies anteriores son nulos, por lo que no es fácil concluir que en dichas especies el desarrollo de los órganos sexuales se detenga en una etapa determinada y que esa etapa sea la misma para todos los taxa en los que se presenta unisexualidad floral, la cual posiblemente se deba a la participación de diversos genes involucrados en el desarrollo floral.

Lo anterior hace necesario un análisis de las diferentes especies para conocer los mecanismos que cada una ha desarrollado evolutivamente para llegar a la unisexualidad floral, por ello se considera que trabajos como éste, realizado con *Opuntia stenopetala*, son importantes.

Los individuos que presentan flores unisexuales, al parecer pueden ser exclusivos de ciertas poblaciones de una misma especie formando poblaciones completamente dioicas (e.g. *Opuntia stenopetala*, *O. grandis*, *O. glaucescens*, *O. robusta*, *Pereskia zinniflora*, *P. portulacifolia* y *Echinocereus coccineus*), o bien alguno de los sexos mezclado con individuos que presentan flores bisexuales formando poblaciones ginodioicas (e.g. *Selenicereus innesii*, *Pachycereus pringlei*, *Mammillaria dioica* y *M. neopalmeri*) o bien androdioicas (e.g. *Pereskia quisqueyana*, *Mitrocereus fulviceps* y *Neobuxbaumia mezcalaensis*) o ambos individuos con flores unisexuales mezclados con

individuos con flores bisexuales formando poblaciones trioicas (e.g. *O. robusta*, *M. dioica*, *M. neopalmeri* y *Pachycereus pringlei*).

Los investigadores que trabajan con especies de cactáceas que presentan flores unisexuales, han dado a sus estudios un enfoque ecológico en el que se aborda principalmente la biología floral de las especies, incluyendo producción de polen y frutos por los diversos individuos, polinizadores, morfología floral y una descripción del sistema reproductor que presentan las especies (Del Castillo y González, 1988; Hoffman, 1992; Fleming *et al.*, 1994; Valiente *et al.*, 1997).

Los resultados del análisis del desarrollo floral, muestran que *Opuntia stenopetala* tiene un sistema reproductor funcionalmente dioico, aunque la morfología externa semeje flores bisexuales; sin embargo, en las flores pistiladas las anteras son indehiscentes y no producen polen, y en las flores estaminadas, los óvulos no maduran completamente y el estilo carece de lóbulos estigmáticos.

Mientras que para Bawa (1980) el dioicismo pudo haber evolucionado directamente del hermafroditismo o pudo hacerlo vía ginodioicismo, androdioicismo y monoicismo. Para Ainsworth (2000) hay tres posibles rutas para llegar al dioicismo: del hermafroditismo, vía monoicismo o vía distilia y señala que la evolución de una especie dioica directamente de una hermafrodita es considerada improbable debido a que deben aparecer y establecerse dos mutaciones independientes, una que origine esterilidad masculina y la otra que origine esterilidad femenina.

Estas mutaciones deben aparecer simultáneamente y los genes mutantes (o múltiples loci) deben estar estrechamente ligados para que la generación de hermafroditas no aparezca por recombinación. Es más probable que el dioicismo haya evolucionado a través del ginodioicismo como intermediario (la coexistencia de individuos femeninos y hermafroditas) (Ainsworth, 2000). En ambos casos, el paso inicial es el establecimiento de una sola forma mutante.

En el androdioicismo, la primera mutación debe causar esterilidad femenina parcial o total. Es probable que las poblaciones androdioicas evolucionen rápidamente al dioicismo y que aquellas especies que presenten buena evidencia de androdioicismo, sólo sean resultado de la ruptura del dioicismo completo (Charlesworth y Charlesworth, 1978 en Ainsworth, 2000).

Mucho más común que el androdioicismo en las plantas, es el ginodioicismo, el cual debe ser considerado como un paso intermedio al dioicismo más probable que al androdioicismo (Ainsworth, 2000). Una sola mutación genética o un sistema de esterilidad citoplásmica masculina que genera individuos femeninos (causando esterilidad masculina), se extenderá a través de una población si la abolición de la producción de polen incrementa la producción de óvulos, como resultado de una reasignación de recursos disponibles para la reproducción. La evolución de poblaciones ginodioicas a dioicas requiere una segunda mutación, causante de esterilidad femenina en los individuos hermafroditas, generando así individuos masculinos y de una reducción gradual en la fertilidad de las semillas de las plantas hermafroditas. El cese de desarrollo de óvulos puede causar un incremento en la producción de polen como resultado de una redistribución de los recursos reproductivos, y ésto puede ayudar a dispersar la mutación (Galli *et al.*, 1993).

La segunda ruta probable que da origen al dioicismo, es el monoicismo. Una población monoica puede evolucionar a una dioica tras una serie de mutaciones que alteren la tasa de flores estaminadas y pistiladas sobre una misma planta. Donde el dioicismo ha evolucionado vía monoicismo, puede esperarse que las especies muestren labilidad en el sexo y que bajo ciertas condiciones ambientales, se produzcan flores del sexo incorrecto (Ainsworth, 2000).

La tercer ruta posible al dioicismo es vía distilia que describe la condición donde los individuos son polimórficos para las posiciones de estilos y anteras, como dos distintos tipos florales hermafroditas. La distilia probablemente se originó para promover la dispersión del polen (y por tanto el entrecruzamiento) y es frecuentemente asociada con la autoincompatibilidad. La especialización de un tipo para la función masculina y de otro para la femenina puede progresar hasta el dioicismo completo (Bhojwani y Bhatnagar, 1974).

El sistema sexual trioico (plantas con flores pistiladas, estaminadas y hermafroditas), es un sistema sexual especialmente poco común en las angiospermas; sin embargo, el trioicismo es de considerable interés teórico porque puede servir para el esclarecimiento de la evolución de otros sistemas sexuales en las plantas, especialmente la del dioicismo (Ainsworth, 2000).

Las características mencionadas anteriormente sobre la morfología floral, parecen indicar que el dioicismo funcional de *O. stenopetala* ha evolucionado a partir de un estado ancestral hermafrodita, aunque la presencia de ejemplares de herbario con flores hermafroditas o bisexuales, indica que no se puede ignorar la posible presencia de poblaciones trioicas, ginodioicas o androdioicas, lo cual llevaría a cambiar la posible ruta evolutiva que culmine con el dioicismo funcional. Para tener un mejor acercamiento sobre la vía evolutiva que da origen al dioicismo, es necesario realizar descripciones detalladas de la morfología floral y el sistema reproductor funcional de *O. stenopetala* y de otros taxa estrechamente relacionados provenientes de distintas poblaciones.

Debido a que la mayoría de las angiospermas dioicas con ancestros hermafroditas evolucionan al dioicismo por la ruta del ginodioicismo (con una posible mutación que provoca esterilidad masculina seguida de una reducción de la adecuación de la función femenina en las plantas hermafroditas, esta reducción es observable con la esterilidad en diversos grados de los órganos femeninos) (Galli *et al.*, 1993; Ainsworth, 2000), es muy probable que *O. stenopetala* haya evolucionado al dioicismo a través de esta ruta. Las observaciones concuerdan con la hipótesis anterior, todos los genotipos femeninos son del mismo tipo y muestran esterilidad masculina completa (no hay producción de polen), y los individuos masculinos muestran flores con el gineceo abortado en mayor o menor grado, es decir, hay un mayor número de genotipos masculinos que femeninos, producto de la aborción diferencial de los órganos femeninos.

Respecto a los posibles orígenes de la unisexualidad en las diferentes cactáceas reportadas, sólo Del Castillo (1986) aborda el tema señalando que la selección sexual pudo haber sido una presión para la separación de sexos, de

modo que los recursos se canalizarían a la función con mayores probabilidades de éxito (masculina o femenina) para incrementar la aptitud. Para el autor, la heterostilia precede al dioicismo en *O. robusta*, y al surgir esta última, se favoreció a los individuos cuyo sexo estaba asociado con el estilo que le permite un funcionamiento mejor, ya que en las flores estaminadas, el estilo es corto y carece de lóbulos estigmáticos, lo que podría favorecer el acceso de los polinizadores a las anteras en su trayecto hacia la zona nectarífera localizada en la base de los estambres, por el contrario, en las flores pistiladas un estilo con estigma desarrollado reduce las posibilidades de que un visitante alcance la zona nectarífera sin haber tocado previamente el estigma.

Para *O. stenopetala* esta hipótesis podría aplicarse parcialmente, ya que no se detectó heterostilia, pero al igual que en *O. robusta*, las flores estaminadas presentan estilo con estigma hipotrofiado y las pistiladas estilo con estigma desarrollado (figuras 2-5), es probable que estas características hayan favorecido el establecimiento de individuos que presentaran dichas flores respecto a los que presentaban flores bisexuales, debido a que la morfología del estilo y estigma favorece la función de los polinizadores.

La presencia del sistema reproductor dioico, no solamente es útil para promover el entrecruzamiento, la separación de sexos puede también representar el patrón alterado de asignación de recursos para las funciones masculina y femenina en respuesta a la selección sexual, es decir, parece optimizar la reproducción al permitir una asignación de recursos eficiente (Lebel-Hardenack y Grant, 1997). Los modelos clásicos de asignación de recursos asumen que la asignación reproductiva masculina y femenina ocurren simultáneamente de una fuente de recursos mezclada. Esto es incierto para las plantas, donde la asignación masculina ocurre durante la floración y la mayoría de la inversión femenina ocurre posteriormente, durante la maduración de las semillas (Barret, 1998). La expresión sexual de las plantas está influenciada por diversos factores. Barret (1998) señala la posibilidad de que las condiciones estresantes promuevan la evolución de sexos separados en algunos grupos. Esto ocurre si las plantas son incapaces de mantener ambas

funciones sexuales bajo condiciones en las que los recursos son limitados o la depresión endogámica es magnificada bajo condiciones estresantes, favoreciendo el establecimiento de individuos unisexuales. La canalización de todos los recursos reproductivos hacia la función (materna o paterna) con mayores posibilidades de éxito incrementaría aún más la aptitud. Además, Bawa (1980) señala que la separación de sexos comparado con el hermafroditismo, puede ser un sistema en el que se utilicen más eficientemente los recursos en aspectos relacionados con la selección sexual, polinización y dispersión de semillas (debido a que se cambia la distribución espacial de recursos para polinizadores, dispersores de semillas y depredadores).

Dadas las difíciles condiciones ambientales de los lugares en donde *Opuntia stenopetala* crece, la teoría de asignación diferencial de recursos explicaría en gran medida las razones por las que actualmente presenta un sistema reproductor dioico, sin embargo, no podemos dejar de lado que la mayoría de las cactáceas crece en condiciones similares y muy pocas de ellas presentan sistemas reproductores distintos al hermafrodita por lo tanto, otros factores deben estar involucrados (señalados anteriormente) y éstos podrían también estar relacionados con las diferencias presentadas en las proporciones sexuales de *Opuntia stenopetala* encontradas en la población estudiada (ver tabla 4).

Generalmente se acepta que las poblaciones de organismos en etapa reproductiva, mantengan proporciones sexuales que reflejen igual número de masculinos y femeninos, aunque en el caso de determinación ambiental del sexo, se espera que localmente las proporciones sexuales vayan de predominantemente masculinos a predominantemente femeninos a lo largo de un gradiente ambiental (Decker y Pilson, 2000). En un estudio realizado con *Spinacia oleracea*, Freeman y Vitale (1985) sugieren que los ambientes áridos pueden modificar las proporciones sexuales a favor de los individuos masculinos y que este cambio no es debido a la mortalidad diferencial de las plántulas masculinas y femeninas. Para *Croton texensis*, Decker y Pilson (2000) proponen que en algunas especies los factores ambientales así como

los genéticos actúan en conjunto para determinar el sexo de los individuos y como consecuencia, las proporciones sexuales de la población. En *Opuntia stenopetala*, pudiera suceder algo similar y que no sea un solo factor el que determine el sexo, sino una acción conjunta. Sin embargo, para poder saberlo, tendría que haber un seguimiento de la expresión del sexo en la planta a lo largo de varios años, para observar si la proporción sexual de la población varía y relacionarlo con las condiciones ambientales existentes, para ver si éstas tienen influencia en la determinación del sexo, o bien si la determinación del sexo es genética o por una mezcla de ambas.

En *O. robusta* (Del Castillo, 1986), para explicar la diferencia observada en la proporción de sexos (a favor de los individuos masculinos en todas las poblaciones dioicas), se recurre a la asignación diferencial de recursos. El autor propone que los individuos femeninos tienen un mayor costo reproductivo que hace más difíciles sus oportunidades de maternidad que las de paternidad en los individuos masculinos, además agrega que debido a la reducción en la cobertura vegetal, las heladas son más intensas afectando la diferenciación del carpelo, vulnerable a las bajas temperaturas. Fleming *et al.* (1994) señalan que en las poblaciones trílicas de *Pachycereus pringlei*, la presencia de individuos con flores unisexuales está correlacionada con la abundancia de polinizadores, es decir los individuos masculinos y femeninos serán más comunes que los hermafroditas en los lugares donde los polinizadores sean abundantes. Sin embargo, aunque reportan poblaciones en las que existe una tendencia a tener mayor número de individuos femeninos que masculinos, no hay explicación para este hecho.

En *Echinocereus coccineus*, especie que presenta poblaciones dioicas, las proporciones sexuales masculinos:femeninos, no difieren significativamente de 1:1 (Hoffman, 1992).

Aunque en algunas ocasiones el sesgo en las proporciones sexuales puede deberse a diferencias en la propagación vegetativa, no parece ser el caso para *O. stenopetala* debido a que es aceptable suponer que la depredación afectaría en mayor grado a los individuos femeninos (principalmente por la presencia de

frutos apetecibles para los herbívoros), dicha depredación podría incidir en la propagación, con lo que se vería un mayor número de individuos femeninos que masculinos. Esto no concuerda con lo observado en la población de *O. stenopetala* estudiada, aunque hay que señalar que la distribución espacial de los individuos sí parece estar afectada por la herbivoría, ya que se observó que en ocasiones varios individuos de un mismo sexo tenían estrecha cercanía espacial llegando a formar pequeños grupos, esto probablemente se deba a la reproducción vegetativa, causada o no por la dispersión por depredación.

Se debe señalar que no se sabe si los individuos de *O. stenopetala* mantienen el mismo sexo a lo largo de los años, es importante tener un seguimiento de este hecho debido a que si ocurriera un cambio en el sexo, las proporciones sexuales seguramente cambiarían entre los diferentes periodos reproductivos. En las demás cactáceas con flores unisexuales tales como *P. pringlei* (Fleming *et al.*, 1994), *E. coccineus* (Hoffman, 1992), *N. mezcalaensis* (Valiente *et al.*, 1997) y *O. robusta* (Del Castillo, 1986), no se reportan cambios de sexo de los individuos a lo largo de distintos años.

Por otra parte, usualmente se acepta que los individuos femeninos exhiben mayor mortandad porque experimentan mayor estrés y demanda de recursos durante la maduración de las semillas que los masculinos durante la producción de polen (Decker y Pilson, 2000). En *Opuntia stenopetala* un menor número de individuos femeninos pudiera prevenir un posible gasto innecesario de energía utilizada en el desarrollo de frutos, de los cuales una gran proporción no madurarán debido a la limitación de recursos. Aunque no se puede dejar de lado que las causas de proporciones sexuales sesgadas a uno u otro sexo, en la mayoría de los casos son desconocidas y las hipótesis hechas no son probadas.

Además del mayor número de individuos masculinos encontrado en *O. stenopetala*, hay que señalar que las flores de éstos presentaron mayor variabilidad en cuanto a su morfología que las de los individuos femeninos. La esterilidad de los órganos femeninos en las flores estaminadas es desigual

llevando a un número de variantes que difieren entre sí por el mayor o menor grado de aborción de los órganos femeninos. Esto también ocurre con *Asparagus officinalis* (Galli *et al.*, 1993), donde las flores estaminadas muestran una gran variedad de órganos femeninos vestigiales.

A pesar de no haber visto el surgimiento de los verticilos sexuales, se pudo constatar que las flores de *O. stenopetala* durante el desarrollo de las etapas más tempranas estudiadas, son imposibles de distinguir entre las flores de individuos masculinos y femeninos, debido a que se inicia el desarrollo tanto de primordios de carpelos como de estambres en ambos tipos florales. Lebel-Hardenack y Grant (1997) señalan que esto es común para la mayoría de las flores de especies monoicas y dioicas, el aborto o cese del desarrollo de los primordios carpelares en las flores estaminadas y los primordios estaminales en las flores pistiladas ocurre posteriormente variando la etapa de desarrollo según la especie. El hecho de que *O. stenopetala* presente el inicio del desarrollo de ambos sexos en una misma flor con el aborto posterior o cese del desarrollo de uno, la coloca dentro de la categoría más común de las plantas dioicas según la división de Ainsworth (2000), en el otro grupo de plantas que abarca la clasificación, durante el desarrollo no hay indicio del inicio del desarrollo del sexo opuesto en una flor masculina o femenina. Sin embargo, la divergencia en el desarrollo ocurre en etapas tan tardías que las flores pistiladas y estaminadas no se distinguen fácilmente entre ellas ni de las flores hermafroditas. Otra planta que tienen esta divergencia tardía es *Asparagus officinalis* (Galli *et al.*, 1993; Caporali *et al.*, 1994).

En el primer grupo, además de *O. stenopetala* se encuentran casi todas las demás cactáceas que no son hermafroditas, a excepción de *Selenicereus innesii*, en cuyas flores pistiladas no se presentan estaminodios (Kímnach, 1982).

Debido a que en *O. stenopetala* las anteras de los individuos femeninos no entran a meiosis y por tanto no producen polen, de acuerdo a la clasificación de mutantes de Chaudhury (1993) puede tratarse de mutantes estructurales estériles masculinos, ya que las mutaciones deterioran la formación de estos

órganos sexuales pero no impiden la formación de órganos sexuales femeninos.

Los mutantes son los siguientes:

- 1) Mutantes que perturban los órganos sexuales masculinos, entre estos casos se encuentran las mutaciones que afectan la identidad de los estambres y los cambian por sépalos o carpelos resultando en individuos estériles masculinos;
- 2) mutantes en los que hay formación de estambres pero no formación de tejido esporógeno, es decir no hay formación de anteras o éstas se encuentran malformadas;
- 3) mutantes en los que el filamento no crece ocasionando problemas en la polinización y como consecuencia formando individuos masculino-estériles;
- 4) mutantes en los que no se forma polen debido a que se altera el desarrollo de las microsporas antes, durante o después de la meiosis;
- 5) mutantes en los que se afecta la dispersión del polen, en estos, los granos de polen funcionales permanecen en los lóculos de la antera debido a defectos en la dehiscencia y
- 6) mutantes en los cuales los genes del control esporofítico alteran la interacción con el estigma, aunque hay abundancia de granos de polen.

En *O. stenopetala* la microsporogénesis no se concluye, por lo que las anomalías en el desarrollo de los granos de polen que llevan a la esterilidad masculina en las flores pistiladas (debido a que no se forma polen), se presentan durante esta etapa de desarrollo, coincidiendo con los mutantes tipo 4 propuestos por Chaudhury (1993). En las demás cactáceas en las que se presentan flores unisexuales, no hay reportes de la etapa en la que se inicia el aborto de estructuras reproductoras.

Los mutantes tipo 4 (Chaudhury, 1993) están divididos en dos categorías: aquellos que tienen tétradas de microsporas normales y por consiguiente meiosis normal, y aquellos en los que las tétradas de microsporas son aberrantes sugiriendo un defecto premeiótico o meiótico. En las flores pistiladas de *O. stenopetala*, las células madres de las microsporas tienen una

aparición normal hasta los instantes posteriores a la depositación de calosa alrededor de ellas y previa a la meiosis, la cual no da inicio y en su lugar se observa un exceso de calosa o alguna sustancia derivada del tapete, acompañada de la degeneración de las células madres de las microsporas y de las células del tapete. El tapete muestra un crecimiento exagerado y un citoplasma poco denso debido quizá, a la escasa actividad metabólica (comparado con el tapete de una antera de flor masculina). En la tabla 5 se describe el grado máximo de desarrollo de anteras y óvulos en flores pistiladas y estaminadas.

Tabla 5. Grados de desarrollo que alcanzan los órganos sexuales tanto en flores pistiladas como en flores estaminadas.

	ÓRGANO	DESCRIPCIÓN DEL DESARROLLO
Flor ♀	Desarrollo de anteras	No da inicio la meiosis por lo que no se forman granos de polen.
	Desarrollo de óvulos	Formación de saco embrionario, óvulo campilótropo, bitégmico, crasinucelado y endóstomo.
Flor ♂	Desarrollo de anteras	Se concluye la formación de granos de polen.
	Desarrollo de óvulos	Hay formación de protuberancias nucleares amorfas, o bien se inicia la formación del segundo tegumento, pero al parecer no ocurre la meiosis.

Worrall *et al.* (1992) relacionan el alargamiento de las células del tapete con el aborto de las microsporas en líneas estériles de *Nicotiana tabacum*, la variación de la morfología y ancho del tapete no es observada en las líneas fértiles. La probable causa que los autores proponen de este crecimiento anormal, es la retención de materiales que normalmente son utilizados para el desarrollo de las microsporas o bien puede ser reabsorción de azúcares originados de la degradación prematura de la calosa, que en éste caso es la causa de la esterilidad. No obstante, a los autores les queda la interrogante de si la hipertrofia del tapete es causa de la interrupción del desarrollo de las

microsporas o es consecuencia. La duda surge debido a que en estudios de esterilidad masculina, se ha encontrado que los primeros signos de anormalidad en el desarrollo no son encontrados en los microsporocitos o microsporas en desarrollo, sino en el tapete, pero en ocasiones la degeneración del tapete ocurre simultáneamente a la degeneración de la microsporas, y por tanto no es claro si la degeneración de las microsporas estimula la proliferación del tapete o si la proliferación del tapete interfiere con el desarrollo de las microsporas. Laser y Lersten (1972) remarcan la importancia directa o indirecta del tapete en el aborto de las células madres de las microsporas.

La importancia del tapete en el desarrollo del polen es reseñada por Bhojwani y Bhatnagar (1974), algunas de las funciones del tapete son:

1. Transporte de nutrientes al lóculo de la antera durante la meiosis.
2. Síntesis de la enzima calasa para la degradación de la calosa que rodea a las tétradas.
3. En etapa post-meiótica, el tapete sintetiza esporopolenina.
4. Transferencia de sustancias componentes del pollenkitt y trifina al polen.
5. Síntesis de proteínas contenidas en las cavidades y espacios de la exina de la pared del grano de polen útiles en el reconocimiento de pistilos compatibles.

En *Opuntia stenopetala*, sucede algo parecido a lo descrito en el punto número dos, al parecer, el exceso de calosa interfiere con la división meiótica ocasionando que se interrumpa el desarrollo del grano de polen, teniendo como consecuencia final la esterilidad masculina. En este caso y de acuerdo con la importancia del tapete en el desarrollo del grano de polen así como en las observaciones hechas, se considera a este tejido como el posible responsable de la esterilidad masculina en las flores pistiladas de *O. stenopetala*. El crecimiento exagerado del tapete bien podría deberse a la retención del material destinado al desarrollo del grano de polen.

La pérdida de la función principal de los estambres como productores de gametofitos masculinos viables, los transforma en estaminodios, éstos pueden estar presentes en especies dioicas y monoicas debido a la supresión incompleta de la función masculina (Walker-Larsen y Harder, 2000). Dado que en *O. stenopetala* los estambres de las flores pistiladas no producen polen, se les puede denominar estaminodios.

El destino evolutivo de los estaminodios parece depender del asumir nuevas funciones. Debido a que los estaminodios no funcionales probablemente interfieren con las interacciones entre las flores y los vectores de remoción del polen, podrían perderse rápidamente. En contraste, los estaminodios funcionales persisten convirtiéndose en características integrales de la morfología floral. Entre los papeles que juegan los estaminodios, están el ser visualmente atractivos para los polinizadores y/o proveerlos de recompensas, evitar autopolinizaciones y facilitar la recepción de polen. Los estaminodios no funcionales parecen ser resultado de las reducciones de estambres a través de progresión sucesiva: estambres fértiles - estaminodios - pérdida de estambres (Walker-Larsen y Harder, 2000).

El desarrollo de óvulos anormales ha sido poco estudiado aún en plantas que son sujetos de extensos análisis y manipulaciones genéticas. Un estudio con mutantes estériles femeninos de *Arabidopsis*, muestra que el desarrollo de óvulos inicia de manera muy similar al de los óvulos de individuos fértiles. En ambos mutantes (*bel1* -inicia el primer tegumento para posteriormente desarrollarse anormalmente- y *sin1* -inicia el desarrollo de dos tegumentos pero después cesan su desarrollo), los tegumentos son morfológicamente anormales y en ninguno hay formación de sacos embrionarios normales. Los óvulos de uno de los mutantes parecen detener su desarrollo morfológico, aunque el desarrollo en su totalidad no se detiene. El estudio concluye que algunos genes requeridos para el desarrollo normal de los tegumentos también son requeridos para la megagametogénesis normal (Robinson-Beers *et al.*, 1992). En *Opuntia stenopetala* la esterilidad femenina se debe a que los óvulos (cuando están presentes) no completan su desarrollo. Al igual que en el

estudio de los mutantes de *Arabidopsis*, el inicio del desarrollo de los óvulos es similar al de los óvulos de individuos fértiles femeninos. En el caso de que los genes del desarrollo de tegumentos y megagametogénesis normal estén relacionados (como en los mutantes de *Arabidopsis*), esperaríamos que en los individuos estériles femeninos de *O. stenopetala* no se desarrollara un saco embrionario normal, debido a que los tegumentos no completan su desarrollo dejando a la nucela descubierta, aunque esto no se puede asegurar debido a que no se observó la megagametogénesis en estos individuos.

En el caso del aborto de los órganos femeninos en las flores estaminadas de *O. stenopetala*, encontramos 3 variantes:

- 1) No hay inicio de los procesos de desarrollo de óvulos por lo que los ovarios carecen de primordios ovulares.
- 2) Las nucelas son amorfas y no hay desarrollo de tegumentos.
- 3) Los óvulos inician el desarrollo de los primordios tegumentarios permaneciendo así hasta la antesis.

En todos los casos, se presenta un pistilo vestigial carente de lóbulos estigmáticos, conocido como pistilodio.

DESARROLLO FLORAL

Respecto a los resultados obtenidos del desarrollo embriológico de *Opuntia stenopetala* concuerdan con la descripción general de otras especies de la familia (Maheshwari y Chopra, 1955; Tiagi, 1970; Ross, 1982; Johri *et al.*, 1992; Núñez *et al.*, 2001; Flores *et al.*, 2001b; Jiménez, 2002).

En *O. stenopetala* los primordios estaminales se inician en secuencia centrífuga, al igual que lo señala Ross (1982) para *O. engelmanni*, *Pereskia corrugata* y *Mammillaria compressa*, un anillo de primordios estaminales aparece casi simultáneamente y estambres adicionales aparecen basípetos a este primer anillo. Los nuevos primordios estaminales radian a partir del anillo central en forma simétrica, creando un nuevo anillo de mayor tamaño.

Los primordios de los carpelos de las especies anteriores se originan casi simultáneamente en un círculo. Inicialmente, los carpelos están separados aunque pronto se unen por un anillo meristemático. En *O. engelmannii* y en *Epiphyllum strictum* los extremos de los carpelos crecen hacia el centro, las bases están unidas congénitamente. Cada lóculo carpelar está representado por un hueco que deja cada primordio, aunque posteriormente los lóculos individuales se unen formando un solo lóculo (Ross, 1982). En *Opuntia stenopetala* también se observó que los primordios de los carpelos están unidos congénitamente en sus bases, mientras que los ápices carpelares se unen después de surgir separados, igualmente se observó la formación de un solo lóculo producto de la fusión de carpelos individuales, sólo en la parte superior del ovario los carpelos crecen hacia el centro del lóculo formando pequeños septos que nunca llegan a unirse.

Leins y Schwitalla (1988) señalan que los primordios carpelares en *Opuntia leucotricha* se originan en la parte interna de un ápice floral parecido a un cráter, la misma forma de estructura de primordios carpelares es vista en *Opuntia stenopetala*. Además señalan que el origen de los óvulos en el ovario es más o menos bidireccional, es decir, empieza con una hilera de óvulos a la derecha e izquierda de cada septo, en cada hilera los primeros primordios de óvulos surgen en el centro del ovario y posteriormente surgen nuevos en las partes cercanas a los márgenes del ovario. Las hileras de óvulos de las placentas vecinas están situadas cerca de otras, dichas hileras de óvulos entran en contacto por debajo del septo conforme avanza el desarrollo. En *Opuntia stenopetala* el origen de los primordios de óvulos también es a la derecha e izquierda de cada septo incompleto, y del centro hacia los márgenes del ovario, además según el carpelo se va elevando para cerrar el ovario y formar el estilo, nuevos óvulos se van formando en la parte superior del ovario, dando como consecuencia un desarrollo asincrónico de los óvulos. Conforme los óvulos maduran entran en contacto los de una hilera de un carpelo con los de la hilera del carpelo adyacente.

Entre algunas de las características reportadas por Tiagi (1970) acerca del desarrollo de las anteras en la familia Cactaceae compartidas por *O. stenopetala* tenemos la presencia de una sola hilera de células madres de las microsporas en cada esporangio constituyendo al arquesporio.

El desarrollo de la pared de la antera se ha reportado en *Pachycereus militaris* (Núñez et al., 2001) en *Opuntia tomentosa* (Flores et al., 2001b) y en *Pereskia lychnidiflora* (Jiménez, 2002) como de tipo monocotiledóneo, el mismo tipo de desarrollo de la pared de la antera se encontró en *Opuntia stenopetala*. La presencia de drusas en el tejido conectivo de la antera es otro carácter compartido por *Opuntia stenopetala* con las especies anteriores, pero, las drusas en el endotecio, sólo son reportadas por Flores et al. (2001b) para *O. tomentosa*.

La formación de tétradas tetraédricas de *Opuntia stenopetala* y el hecho de que la pared de la antera está formada por 4 estratos: epidermis, endotecio, capa media y tapete de tipo secretor, son características que comparte con el resto de la familia (Johri et al., 1992), así como con *Cereus jamacaru* y *Ferocactus wislizeni* (Kapil y Prakash, 1969), *Pachycereus militaris* (Núñez, 2001), *O. tomentosa* (Flores et al., 2001b) y *Pereskia lychnidiflora* (Jiménez, 2002).

La epidermis de la pared de la antera, en *O. stenopetala* presenta células papiladas, carácter compartido con *O. tomentosa* (Flores et al., 2001b).

En la familia Cactaceae la antera madura consiste únicamente de epidermis y endotecio, la capa media y el tapete se reabsorben (Tiagi, 1970), lo mismo sucede con *Pachycereus militaris* (Núñez, 2001), con *Cereus jamacaru* y *Ferocactus wislizeni* (Kapil y Prakash, 1969) y *Opuntia stenopetala*.

El óvulo ha sido descrito por Tiagi (1970) como circinótrofo, campilótrofo o hemianátrofo dependiendo del género, Johri et al. (1992) agregan que puede ser anátrofo. Maheshwari y Chopra (1955) reportan un óvulo anátrofo en *Opuntia dillenii*, Archibald (1939) describe un óvulo circinótrofo para *O. aurantiaca* y Engleman (1960) reporta óvulo anátrofo para *Astrophytum*

myriostigma. Núñez et al. (2001) reportan a *Pachycereus militaris* con óvulos campilótropos debido a la curvatura de la nucela y señalan que el término circinótropo se aplica al funículo, igualmente lo hacen Kapil y Prakash (1969) para *Cereus jamacaru* y *Ferocactus wislizeni*, Hernández y García (1991) para *Mammillaria rhodantha* y *M. compressa*, Jiménez (2002) para *Pereskia lychnidiflora*, Vázquez et al. (2001) para *Pereskiopsis porteri* y Flores et al. (2001a) para *Opuntia tomentosa*. Se considera que la descripción del óvulo campilótropo y el funículo circinótropo, coincide con lo observado para *Opuntia stenopetala* ya que la nucela es curva y el funículo rodea al óvulo dando una vuelta y media alrededor de él.

En *O. stenopetala* el óvulo es, crasinucelado, bitégmico y el micrópilo está formado por el tegumento interno (el cual al igual que el tegumento externo está formado por dos estratos) que en su parte apical tiene tres estratos, estas características son mencionado por Johri et al. (1992), Tiagi (1970) y en sus descripciones embriológicas de la familia y para las especies *Astrophytum myriostigma*, *Thelocactus bicolor* y *Toumeyia papyracantha* (Engleman, 1960), *Cereus jamacaru*, *Ferocactus wislizeni* (Kapil y Prakash, 1969), *Mammillaria rhodantha* y *M. compressa* (Hernández y García, 1991) *Opuntia tomentosa* (Flores et al., 2001a), *Pachycereus militaris* (Núñez et al., 2001) y *Pereskia lychnidiflora* en el cual además se encuentran tegumentos triestratificados (Jiménez, 2002).

Maheshwari y Chopra (1955) describen la presencia de óvulos que nacen del mismo funículo que se ramifica, aunque la mayoría de los óvulos tienen su propio funículo en *Opuntia dillenii*, lo mismo reporta Flores et al. (2001a) para *O. tomentosa* y coincide con los óvulos de *O. stenopetala*. Lo anterior no se encontró reportado en la literatura embriológica para especies de otras subfamilias, excepto para *Cereus jamacaru* (subfamilia Cactoideae) en la cual algunos óvulos comparten no solo el funículo sino también el tegumento externo (Kapil y Prakash, 1969).

CONCLUSIONES

La unisexualidad floral en la familia Cactaceae ha surgido en diversas ocasiones de manera independiente y que los mecanismos que llevan a la unisexualidad pueden deberse a diversas mutaciones presentes en los genes que tienen que ver con el desarrollo floral.

La población estudiada de *Opuntia stenopetala* tiene un sistema sexual funcionalmente dioico, dado que no hay formación de polen en las flores pistiladas ni formación de óvulos maduros en las flores estaminadas, aunque la presencia de órganos vestigiales dé la apariencia de flores bisexuales. Sin embargo, no se descarta la existencia de poblaciones hermafroditas o ginodioicas con base en las flores bisexuales observadas en los ejemplares de herbario.

Dada la falta de información sobre los sistemas sexuales en cactáceas, es necesario realizar estudios para esclarecer aquellos casos en los que se sospeche unisexualidad floral. La presencia de órganos vestigiales como los observados en *Opuntia stenopetala* puede servir para entender las vías evolutivas hacia el dioicismo partiendo del hermafroditismo.

Por otra parte, *Opuntia stenopetala* ofrece, al igual que las otras plantas dioicas, una oportunidad para estudiar el desarrollo floral de manera complementaria a lo que es estudiar el desarrollo de flores hermafroditas.

Opuntia stenopetala puede servir de modelo experimental para estudios de diferenciación sexual en las plantas dioicas debido a que la divergencia en el desarrollo de flores estaminadas y pistiladas ocurre en una etapa en la que los órganos florales están casi completamente diferenciados. Definir el momento de transición entre el desarrollo hermafrodita y unisexual, puede ser útil en la búsqueda de genes relacionados con el sexo.

Los caracteres observados respecto al desarrollo floral, coinciden con los reportados anteriormente para la familia.

LITERATURA CONSULTADA

Ainsworth, C. 2000. Boys and Girls come out to play: the molecular biology of dioecious plants. *Annals of Botany* 86: 211-221.

Anderson, E. F. 2001. The cactus family. Timber Press, Portland, EUA.

Archibald, E. E. A. 1939. The development of the ovule and seed of jointed cactus (*Opuntia aurantiaca* Lindley). *South African Journal of Science* 36: 195-211.

Arias, S. 1997. Distribución general. En: Valle, C. (ed.) *Suculentas mexicanas y cactáceas*. CONABIO, SEMARNAP, UNAM. México.

Arreola, H. J. 1997. Formas de vida y características morfológicas. En: Valle, C. (ed.) *Suculentas mexicanas y cactáceas*. CONABIO, SEMARNAP, UNAM. México.

Barret, S. 1998. The evolution of mating strategies in flowering plants. *Trends in Plant Science* 3: 335-341.

Bawa, K. S. 1980. Evolution of dioecy in flowering plants. *Annual Review of Ecology and Systematics* 11: 15-39.

Bawa, K. S. y J. H. Beach. 1981. Evolution of sexual systems in flowering plants. *Annals of Missouri Botanical Garden* 68: 254-274.

Bhojwani, S. y S. P. Bhatnagar. 1974. *The Embriology of Angiosperms*. 4ª Edición. Vikas Publishing House Pvt. Ltd. Nueva Delhi.

Bravo-Hollis, H. 1978. *Las Cactáceas de México*. 2ª edición. Volumen 1. Universidad Nacional Autónoma de México. México.

Britton, N. L. y J. N. Rose. 1937. *The Cactaceae*. 4 Vols. Dover Publications, Inc. EUA.

Caporali, E., A. Carboni, M. G. Galli, G. Rossi, A. Spada y G. P. Marziani Longo. 1994. Development of male and female flower in *Asparagus officinalis*. Search for point of transition from hermaphroditic to unisexual developmental pathway. *Sexual Plant Reproduction* 7: 239-249.

Charlesworth, D. 2002. Plant sex determination and sex chromosomes. *Heredity* 88: 94-101.

Chaudhury, A. M. 1993. Nuclear genes controlling male fertility. *The Plant Cell* 5: 1277-1283.

Dafni, A. 1992. *Pollination Ecology. A practical approach*. Oxford University Press. EUA.

Decker, K. L. y D. Pilson. 2000. Biased sex ratios in the dioecious annual *Croton texensis* (Euphorbiaceae) are not due to environmental sex determination. *American Journal of Botany* 87: 221-229.

Del Castillo, R. 1986. La selección natural de los sistemas de cruzamiento de *Opuntia robusta*. Tesis de Maestría. Colegio de Posgraduados. Chapingo. México.

Del Castillo, R. y M. González. 1988. Una interpretación evolutiva del polimorfismo sexual de *Opuntia robusta* (Cactaceae). *Agrociencia* 71: 185-196.

Del Castillo, R. 1996. Ensayo sobre el fenómeno calcícola-calcífuga en cactáceas mexicanas. *Cactáceas y Suculentas Mexicanas* 41: 3-11.

Domínguez, C. 1985. Ecología reproductiva de *Croton suberosus* (Euphorbiaceae). Tesis Profesional. Facultad de Ciencias. UNAM. México

Endress, P. 1996. *Diversity and evolutionary biology of tropical flowers*. Cambridge University Press. Gran Bretaña.

Engelman, E. M. 1960. Ovule and seed development in certain cacti. *American Journal of Botany* 47: 460-467.

Fleming, T. H., S. Maurice, S. Buchmann y M. Tuttle. 1994. Reproductive biology and relative male and female fitness in a trioecious cactus, *Pachycereus pringlei* (Cactaceae). *American Journal of Botany* 81: 858-867.

Fleming, T. H., S. Maurice y J. L. Hamrick. 1998. Geographic variation in the breeding system and the evolutionary stability of trioecy in *Pachycereus pringlei* (Cactaceae). *Evolutionary Ecology* 12: 279-289.

Flores, L., C. Núñez y J. Márquez. 2001a. Embriología de *Opuntia tomentosa* Salm-Dick var. *tomentosa* Salm-Dick (Cactaceae). *Resúmenes del XV Congreso Mexicano de Botánica*. Querétaro. México.

Flores, L., C. Núñez, S. Espinosa y J. Márquez. 2001b. Desarrollo de óvulo y semilla de *Opuntia tomentosa* Salm-Dick var. *tomentosa* Salm-Dick (Cactaceae). *Resúmenes del XXV Congreso Nacional de Histología*. Taxco, Guerrero. México.

Freeman, D. C. y J. J. Vitale. 1985. The influence of environment on the sex ratio and fitness of spinach. *Botanical Gazette* 146: 137-142.

Galli, M. G., M. Bracale, A. Falavigna, F. Raffaldi, C. Savini y A. Vigo. 1993. Different kinds of male flowers in the dioecious plant *Asparagus officinalis* L. *Sexual Plant Reproduction* 6: 16-21.

Ganders, E. R. y H. Kennedy. 1978. Gynodioecy in *Mammillaria dioica* (Cactaceae). *Madroño* 25: 234.

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

Greyson, R. 1994. *The development of flowers*. Oxford University Press. EUA.

Guzmán, U. 1997. Grupos taxonómicos. En: Valle, C. (ed.) *Suculentas mexicanas y cactáceas*. CONABIO, SEMARNAP, UNAM. México.

Hernández, G. y E. García. 1991. Anatomía comparada de óvulos y semillas de dos especies del género *Mammillaria* (Cactaceae). *Boletín de la Sociedad Botánica de México* 51: 25-38.

Hoffman, M. T. 1992. Functional dioecy in *Echinocereus coccineus* (Cactaceae): breeding system, sex ratios and geographic range of floral dimorphism. *American Journal of Botany* 79: 1382-1388.

Hunt, D. 1999. *CITES. Cactaceae Checklist*. 2ª Edición. Royal Botanical Gardens & International Organization for Succulent Plant Study (IOS). EUA.

Jiménez, K. 2002. Embriología de *Pereskia lychnidiflora* (De Candolle, 1828) Cactaceae. Tesis Profesional. Facultad de Ciencias. UNAM. México.

ESTA TESIS NO SALE
DE LA BIBLIOTECA

Johri, B., M. Ambegaokar y P. S. Srivastava. 1992. *Comparative Embriology of Angiosperms*. Vol. I. Springer-Verlag. New York. EUA.

Kapil, R. N. y N. Prakash. 1969. Embriology of *Cereus jamacaru* and *Ferocactus wislizeni* an comments on the systematic position of the Cactaceae. *Botaniska Notiser* 122: 409-426.

Kimnach, M. 1982. *Selenicereus innesii*, an aberrant new species from the West Indies. *Cactus and Succulent Journal (Los Angeles)*. 54: 3-7.

Laser, K. D. y N. R. Lersten. 1972. Anatomy and citology of microsporogenesis in cytoplasmic male sterile angiosperms. *The Botanical Review* 38: 425-454.

Lebel-Hardenack, S. y S. Grant. 1997. Genetics of sex determination in flowering plants. *Trends in Plant Science* 2: 130-136.

Leins, P. y S. Schwitalla. 1988. Placentation in Cactaceae. En: Leins, P., S. Tucker y P. Endress (eds.) *Aspects of floral development*. J. Cramer. Berlín. p. 57-68.

Leuenberger, B. 1986. *Pereskia (Cactaceae)*. Memoirs of the New York Botanical Garden. 41: 1-141.

Lindsay, G. y E. Y. Dawson. 1952. Mammillarias of the islands off northwestern Baja California, Mexico. *Cactus and Succulent Journal (Los Angeles)*. 24:76-84.

López, M. L., J. Márquez y G. Murguía. 1998. *Técnicas para el estudio del desarrollo en angiospermas*. Las prensas de Ciencias. Facultad de Ciencias. UNAM.

Maheshwari, P. y R. N. Chopra. 1955. The structure and development of the ovule and seed of *Opuntia dillenii* Haw. *Phytomorphology* 5: 112-122.

Maier, C.G.; K. Chapman y D. Smith. 1997. Phytoestrogens and floral development in dioecious *Maclura pomifera* (Raf.) and *Morus rubra* L. (Moraceae). *Plant Science* 130: 27-40.

Mauseth, J. D. 1995. *Botany. An Introduction to Plant Biology*. 2a Edición. Saunders College Publishing. USA.

Núñez, C.; E. M. Engleman y J. Márquez. 2001. Embriología de *Pachycereus militaris* (Audot) Hunt (Cactaceae). *Boletín de la Sociedad Botánica de México*. 68: 5-13

Nyffeler, R. 2002. Phylogenetic relationships in the cactus family (Cactaceae) based on evidence from *trnK/matK* y *trnL/trnF* sequences. *American Journal of Botany* 89: 312-326.

Parfitt, B. D. 1985. Dioecy in North American Cactaceae: a Review. *SIDA*. 11:200-206.

Pimienta, E. 1997. El nopal en México y el mundo. En: Valle, C. (ed.) *Suculentas mexicanas y cactáceas*. CONABIO, SEMARNAP, UNAM. México.

Renner, S. y R. Ricklefs. 1995. Dioecy and its correlates in the flowering plants. *American Journal of Botany* 82: 596-606.

Robinson-Beers, K., R. E. Pruitt y C. S. Gasser. 1992. Ovule development in wild-type *Arabidopsis* and two female-sterile mutants. *The Plant Cell* 4: 1237-1249.

- o Ross, R. 1982. Initiation of stamens, carpels and receptacle in the Cactaceae. *American Journal of Botany* 63: 369-379.
- o Tiagi, Y. D. 1970. Cactaceae. En: Seshachar, B. R. (ed.) Proceedings of the Symposium on Comparative Embriology of Angiosperms. *Bulletin of the Indian National Science Academy* 41: 30-35.
- o Valiente-Banuet, A., A. Rojas, M. Del Coro y P. Dávila. 1997. Pollination biology of two columnar cacti (*Neobuxbaumia mezcalaensis* and *Neobuxbaumia macrocephala*) in the Tehuacan Valley, central Mexico. *American Journal of Botany* 84: 452-455.
- o Vázquez, R., C. Núñez y J. Márquez. 2001. Desarrollo de semilla en *Pereskopsis porteri* (Brandegge ex Weber) Britton et Rose (Cactaceae). *Resúmenes de XV Congreso Mexicano de Botánica*. Querétaro. México.
- o Walker-Larsen, J. y L. D. Harder. 2000. The evolution of staminodes in angiosperms: patterns of stamen reduction, loss and functional re-invention. *American Journal of Botany* 87: 1367-1384.
- o Wyatt, R. 1983. En: Real, L. (ed.). *Pollination Biology*. Academic Press. EUA.
- o Worrall, D., D. H. Hird, R. Hodge, W. Paul, J. Draper y R. Scott. 1992. Premature dissolution of the microsporocyte callose wall causes male sterility in transgenic tobacco. *The Plant Cell* 4: 759-771.