

66



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

FACULTAD DE CIENCIAS

ESTUDIO EMBRIOLOGICO DE
Opuntia tomentosa SALM-DYCK
VAR. tomentosa SALM-DYCK (CACTACEAE).

TESIS CON FALLA DE ORIGEN

T E S I S
QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:
B I O L O G A
P R E S E N T A :
LLUVIA HILDA FLORES RENTERIA



DIRECTOR DE TESIS: BIOL. CITLALI YUBIRIA NUREZ MARIEL

MEXICO, D. F.

DIVISION DE ESTUDIOS PROFESIONALES



2002

FACULTAD DE CIENCIAS
SECCION ESCOLAR



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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



M. EN C. ELENA DE OTEYZA DE OTEYZA

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

Comunico a usted que hemos revisado el trabajo escrito: Estudio embriológico de
Opuntia tomentosa Salm-Dick var. *tomentosa* Salm-Dick (Cactaceae).
realizado por Lluvia Hilda Flores Renteria
con número de cuenta 9434155-5 , quién cubrió los créditos de la carrera de Biología.
Dicho trabajo cuenta con nuestro voto aprobatorio.

Atentamente

Director de Tesis
Propietario

Biol. Cjtllali Yuriria Núñez Mariel

Lilial Jiménez Jerniel

Propietario

Dra. Guadalupe Judith Márquez Guzmán

Propietario

Dra. Sonia Vázquez Santana

Suplente

M. en C. Ángel Salvador Arias Montes

Suplente

M. en C. Silvia Espinosa Matias

Consejo Departamental de Biología

Dra. Patricia Ramos Morales

FACULTAD DE CIENCIAS
UNAM



DEPARTAMENTO
DE BIOLOGÍA

Esta tesis se realizó bajo la dirección de la Bióloga Citlali Yuriria Núñez Mariel, en el laboratorio del Desarrollo en Plantas 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. en C. Silvia Espinosa Matías
- ◆ M. en C. José Gonzalo Ricardo Wong
- ◆ Biól. Citlali Yuriria Núñez Mariel
- ◆ Biól. Jerónimo Reyes Santiago

CONTENIDO

Contenido.....	I
Dedicatoria	II
Agradecimientos.....	III
Resumen.....	1
Introducción.....	2
Antecedentes.....	5
◇ Posición taxonómica de <i>Opuntia tomentosa</i>	6
◇ Descripción y distribución de <i>Opuntia tomentosa</i>	7
◇ Embriología del género <i>Opuntia</i>	10
Objetivos.....	17
Material y Métodos.....	18
Resultados.....	22
◇ Desarrollo floral.....	22
◇ Desarrollo de la antera.....	22
◇ Desarrollo de óvulo.....	29
◇ Fecundación.....	31
◇ Semilla.....	41
◇ Poliembrionía.....	42
◇ Cubierta seminal.....	49
◇ Desarrollo de la cubierta funicular.....	49
◇ Germinación.....	51
Discusión.....	56
Conclusiones.....	68
Literatura consultada.....	70
Apéndice.....	78

Dedico esta tesis a mi familia, especialmente a mis padres, César Flores Olmos y Yolanda Renteria Rodríguez, por haberme enseñado a admirar lo maravilloso de la vida, ya que sus enseñanzas son la fuerza principal para estudiar con tanta emoción los procesos biológicos que me rodean.

AGRADECIMIENTOS

▣ A la Directora de ésta Tesis, Biól. Citlali Yuriria Núñez Mariel por toda la enseñanza y el conocimiento que me ha transmitido, así como, el entusiasmo y la dedicación puesta en la realización de este trabajo.

▣ A la Biól. Yadira Olvera Carrillo por su colaboración en la colecta del material de *Opuntia tomentosa* en la localidad del Pedregal de San Ángel.

▣ A la M. en C. Silvia Espinosa Matias por su asesoría y su disposición para la captura de fotomicrografías del material biológico estudiado en el presente trabajo.

▣ Al Ing. Rüdiger Block y Dra. Margarita Collazo Ortega por su colaboración en la traducción de textos útiles para la interpretación de la embriología de la especie en estudio.

▣ Al Pas. de Biól. Ulises Yunuén Rosas López por todo el apoyo brindado en la impresión de esta tesis.

▣ A la Sociedad Botánica de México A. C. por otorgarme mención honorífica en el certamen de carteles de tesis de licenciatura del XV Congreso Mexicano de Botánica, participando con el trabajo intitulado "Embriología de *Opuntia tomentosa* Salm-Dick var. *tomentosa* Salm-Dick (Cactaceae)".

▣ A todas las personas que me han apoyado en la vida, tanto intelectualmente como emocionalmente, por compartir el deseo de soñar y ver el mundo con la sorpresa y a la vez con la sencillez con que acontece.

RESUMEN

El presente estudio describe el desarrollo de antera, óvulo y semilla en *Opuntia tomentosa* var. *tomentosa*, mismo que se realizó con el fin de contribuir al conocimiento embriológico de la subfamilia Opuntioideae, de la familia Cactaceae.

El desarrollo de la pared de la antera es tipo monocotiledóneo. Se observaron drusas en el endotecio y conectivo de la antera. La epidermis de la antera posee células papilosas. El polen es esferoidal y poliporado. La pared del grano de polen es semitectada, reticulada y sin espinulas.

Se describe el origen de la cubierta funicular, la cual se forma desde la etapa de célula madre de las megasporas y envuelve totalmente al óvulo. Se forma una triada lineal de megasporas donde la calazal es la funcional. El saco embrionario formado por antípodas, célula central, sinérgidas y ovocélula es de tipo *Polygonum*. El óvulo campilótropo, bitégmico, crasinucelado posee funículo circinótropo. El funículo puede tener falsa ramificación. Existen depósitos de taninos en endotegmen y exotesta.

La fecundación es porógama. Las células del cigoto se dividen para formar un proembrión. El embrión cigótico pasa por las etapas globular, corazón, torpedo y cotiledonaria hasta llegar a formar el embrión maduro. Los embriones adventicios son de origen nucelar principalmente, aunque también se pueden desarrollar a partir del suspensor del embrión cigótico. Todos los embriones nucleares poseen suspensor. El embrión cigótico es el que alcanza la madurez mientras que los adventicios generalmente degeneran. Se observaron embriones con 4 cotiledones por fusión de un embrión adventicio con el cigótico. El endospermo nuclear se celulariza durante el desarrollo. La mayor parte de endospermo y perispermo es consumido por el embrión. Las semillas germinan asincrónicamente. Se observó la germinación de embriones adventicio y cigótico provenientes de la misma semilla. En la semilla madura las células de la cubierta funicular se lignifican. Dicha cubierta presenta drusas y tricomas.

INTRODUCCIÓN

La familia Cactaceae se distingue por la presencia de aréolas, así como, por caracteres anatómicos y fisiológicos, tales como la estructura crasa, la reducción de la lámina foliar, la hipertrofia del peciolo hasta su transformación en un podario o tubérculo, los patrones de espinas diversos y el metabolismo del ácido crasuláceo (Arreola, 1997; Gibson y Nobel, 1986).

Las cactáceas también presentan modificaciones adaptativas al nivel de sus órganos reproductivos como son: el tamaño, forma y color de sus flores, el número de estructuras por verticilo, la posición del ovario, etc. En general, es un grupo con amplia diversidad genética que se ha adaptado a ambientes xerófilos modificando considerablemente sus características (Gibson y Nobel, 1986).

Cota y Wallace (1996) indican que la riqueza de especies, la complejidad taxonómica así como la amplia distribución geográfica de las cactáceas se debe a diferentes eventos biológicos como: evolución convergente, hibridación, poliploidía, diferentes síndromes de polinización y aislamiento reproductivo, entre otras.

Existen aproximadamente 2000 especies según Bravo-Hollis y Scheinvar (1995), las cuales se distribuyen en América, desde Canadá a una latitud de 56° hasta el estrecho de Magallanes en el sur del continente (Bravo-Hollis, 1978).

Las zonas áridas y semiáridas abarcan aproximadamente el 70% del territorio mexicano. La acción de un conjunto de factores, tales como la luz solar intensa, altas temperaturas y la baja o nula precipitación determinan la formación de modificaciones morfofisiológicas que permiten la adaptación de las cactáceas a la desecación (Rzedowski, 1959 en Granados y Castañeda, 1991). México es uno de los países donde se

encuentra el mayor número de taxa a nivel genérico y específico de la familia, a la vez que muestra un alto grado de endemismos (Arias, 1993).

Desde las épocas prehispánicas se clasificó a las cactáceas en dos grupos definidos: el de los nochtli o nopalli, especies con tallos articulados, discoides o aplanados y el de los cómitl, especies con tallos esferoides (Granados y Castañeda, 1991).

Schumann (1898-1899) agrupó a la familia cactaceae en tres subfamilias: Pereskioideae, Opuntioideae y Cereoideae. Vaupel (1923) dividió a la familia en dos subfamilias: Malacospermae, que agrupa a Pereskioideae y Cactoideae, mismas que poseen una cubierta seminal "suave", y Sclerospermae que corresponde a la Opuntioideae, la cual tiene la cubierta de la semilla "dura". La más reciente clasificación de la familia Cactaceae desarrollada por el International Cactaceae Systemics Group reconoce 4 subfamilias: Pereskioideae, Opuntioideae, Cactoideae y Maihuenioideae (Anderson, 2001).

La subfamilia Opuntioideae, se distingue por la presencia de glóquidas, cubierta funicular y por los granos de polen de tipo poliporados (Barthlott, 1987; Stuppy y Huber, 1991). Está integrada por los géneros, *Pereskioipsis*, *Quiabentia*, *Pterocactus*, *Tacinga* y *Opuntia* (Barthlott y Hunt, 1993). *Opuntia* es uno de los géneros con mayor número de especies dentro de la familia (Anderson, 2001). De acuerdo con Bravo-Hollis (1978) esta subfamilia está representada en México por los géneros *Pereskioipsis*, *Opuntia* y *Nopalea*, aunque este último género es considerado por Barthlott y Hunt (1993) como sinónimo de *Opuntia*.

Flores y Engleman (1976) resaltan que la información sobre la embriología de la familia Cactaceae está fragmentada y es contradictoria en muchos de los casos. De acuerdo con Núñez-Mariel *et al.* (2001) una revisión de la embriología de la familia Cactaceae debe sustentarse con el estudio sistemático de un conjunto de taxa de las diferentes subfamilias. Por lo tanto, el objetivo de este trabajo es describir el desarrollo de la

antera, el óvulo y la semilla de *O. tomentosa*, con el fin de contribuir a la caracterización embriológica de la subfamilia Opuntioideae. Dicho estudio forma parte de un proyecto integral donde se estudian especies de las diferentes subfamilias para realizar la embriología de la familia Cactaceae.

ANTECEDENTES

Miller (1754) atribuye a Joseph Pitton de Tourneford, el género *Opuntia*, pues en el año 1700 lo describió e ilustró su flor y fruto, sin embargo, quien le da validez al publicarlo es Miller, pues lo publica un año después de que Linneo establece el código de nomenclatura binomial.

El género *Opuntia* Miller, 1754 tiene una amplia distribución en el continente americano, lo podemos encontrar desde el nivel del mar hasta los 4500 msnm, así como en el norte de Canadá hasta el sur de América (Barthlott y Hunt, 1993). Dada la plasticidad genética que presenta existe una gran diversidad de especies en el género, el cual cuenta con 160 especies según Gibson y Nobel, (1986), mientras que Anderson (2001) reporta 181 especies y 10 híbridos.

El nombre común que reciben las cactáceas del género *Opuntia* es "nopal" (Piña, 1977). Aproximadamente, 30 especies de *Opuntia* tienen alguna utilidad. Las espinas son utilizadas como agujas, las plantas secas como madera para fuego, vallas u obras talladas. A partir de los frutos se produce miel, mermelada, queso, pasta de frutas, bebidas alcohólicas o vino y la utilización del colorante de las frutas para colorear textiles (Ettelt, 1999). El consumo del nopal, como verdura es ampliamente requerido en la alimentación mexicana. Por otra parte, algunos nopales son utilizados para cultivar la grana cochinilla (nopalnocheztlí), con el fin de extraer colorantes para teñir telas. Este es el caso de *Opuntia tomentosa* Salm-Dick o "nopal de San Gabriel" (Fig. 1), la cual es una especie con hábito arborescente, con artículos planos pubescentes, persistentes y con espinas blancas (Bravo-Hollis, 1978). Dicho aprovechamiento se encuentra regulado bajo una norma oficial mexicana (NOM-005-RECNAT-1997).

Bravo-Hollis (1978) divide el género *Opuntia* en 5 subgéneros: *Cylindropuntia*, *Grusonia*, *Corynopuntia*, *Opuntia* y *Stenopuntia*. El

* Ver apéndice I para conocer sobre el origen del término nopal y *Opuntia*

subgénero *Opuntia*, cuyas especies presentan tallos en forma de cladodio, hábito arbóreo, arbustivo o rastrero, flores hermafroditas, segmentos del perianto anchos y frutos generalmente jugosos, se encuentra distribuido en todo el Continente Americano, desde los litorales hasta las altiplanicies áridas del centro y norte del país, en donde forman extensas asociaciones. Este subgénero comprende numerosas especies agrupadas en 17 series.

Posición taxonómica de *O. tomentosa* (Bravo-Hollis, 1978)

- Familia Cactaceae A. L. Jussieu
- Subfamilia Opuntioideae Schumann
- Género *Opuntia* P. Miller
- Subgénero *Opuntia*
- Serie *Tomentosae* Britton y Rose
- Especie *Opuntia tomentosa* Salm-Dyck
- Variedad *tomentosa*



Fig. 1 *Opuntia tomentosa* var. *tomentosa*. Jardín Botánico del Instituto de Biología, UNAM.

■ Descripción y distribución de *Opuntia tomentosa* Salm-Dyck

Plantas arborescentes que pueden medir de 3 a 8 m de alto, sus ramas se expanden en un área de 1 a 5 m de diámetro, los troncos tienen 1-1.6 m de largo y 30 cm de diámetro, los cladodios obovados poseen un abundante tomento aterciopelado que se puede palpar fácilmente, miden de 20 a 30 cm de largo, 7.5-12.5 cm de ancho y 2-3 cm de grueso; las aréolas generalmente miden 2 mm de diámetro, se encuentran distanciadas unas de otras por 2.5-3 cm, casi no poseen espinas. Las flores son anaranjadas, miden 4-5 cm de diámetro y 5-6 cm de largo. El androceo está compuesto por estambres con filamentos verdes matizados con rosa, anteras blancas con matices rosas, polen amarillo, estilo rojo oscuro, que mide aproximadamente 12 mm de largo, 3 mm de diámetro en la parte más gruesa, con 5 ó 6 estigmas blancos con matices rosas. El ovario en anthesis llega a medir 3 cm de largo, forma un fruto rojo que se vuelve carnoso en etapas maduras, con tomento denso, es obovoide, mide de 3-4 cm de largo, con un diámetro de 2.5 cm aproximadamente. Las semillas son ligeramente cafés, orbiculadas, lisas, el cuerpo de ésta mide de 5 a 6 mm de diámetro y 1-1.5 de grueso; el embrión mide más o menos 1 mm de grueso (Bravo-Hollis, 1978; Benson, 1982).

Fue descrita por Salm-Dick en 1822 de plantas cultivadas en Europa y procedentes de México, sin localidad tipo. Actualmente se reconocen los siguientes sinónimos (Hunt, 1999):

Opuntia hernandezii A. P. De Candolle 1828

Opuntia oblongata Wendland 1837

Opuntia macdougaliana Rose 1908

Opuntia ictERICA Griffiths 1913

Opuntia sarca Griffiths ex Scheinvar 1981

Por su parte, Britton y Rose (1919) erigen la serie *Tomentosae* donde incluyen a *Opuntia tomentosa*, *Opuntia tomentella*, *Opuntia spraguei*, *Opuntia rileyi* y *Opuntia guilanchi*, las cuales comparten características como el hábito arborescente, los artículos planos pubescentes, persistentes y espinas blancas.

Opuntia tomentosa vive en suelos poco profundos con poca agua disponible. Se distribuye en México y Guatemala (Arias *et al.*, 1997; Anderson, 2001). En México se puede encontrar en los estados de: México, Hidalgo, Querétaro, Guanajuato, San Luis Potosí, Jalisco, Michoacán, Puebla, Distrito Federal, Morelos, Guerrero y Oaxaca (Arias *et al.*, inédito). Es abundante en el Valle de México (Bravo-Hollis, 1978). El tipo de vegetación en el que se encuentra es matorral xerófilo (Rzedowski, 1985).

Bravo-Hollis (1978) reconoce dos variedades para *Opuntia tomentosa*: var. *tomentosa* y var. *hernandezii* (De Candolle) Bravo. Esta segunda variedad fue descrita por De Candolle en 1828 como *O. hernandezii* describiéndola como una planta erecta, con artículos gruesos, subrotundos, ovados, subinermes, con flores abiertas, estambres y estilo más cortos que los pétalos. Refiriéndose a esta especie menciona lo siguiente: "Esta especie fue dibujada y descrita, por Hernández bajo el nombre vulgar mexicano de *nopalnocheztli*" (Fig. 2).

Su identificación se prestó a confusiones, pero por su hábito arbóreo, sus artículos grandes de más de 25 cm, gruesos y oblongos, carentes de espinas, Bravo-Hollis (1978) concluye que *O. hernandezii* pertenece a *O. tomentosa*.

Las dos variedades comparten características morfológicas, así como geográficas y ecológicas, Rzedowski (1985) indica la presencia de la variedad *tomentosa* en un área que va de San Luis Potosí al Estado de México, en matorrales xerófilos, a una altitud de 2300-2600 msnm, a esta variedad se le conoce también con el nombre común de "nopal chamacuero" o "nopal de San Gabriel"; por otra parte la variedad *herrerae*

se encuentra distribuida solo en el valle de México y a los alrededores de Tula, Hidalgo, también se ubica en matorrales xerófilos y pastizales, a una altitud de 2275-2800 msnm, se le conoce comúnmente como "nopal chamacuerito".

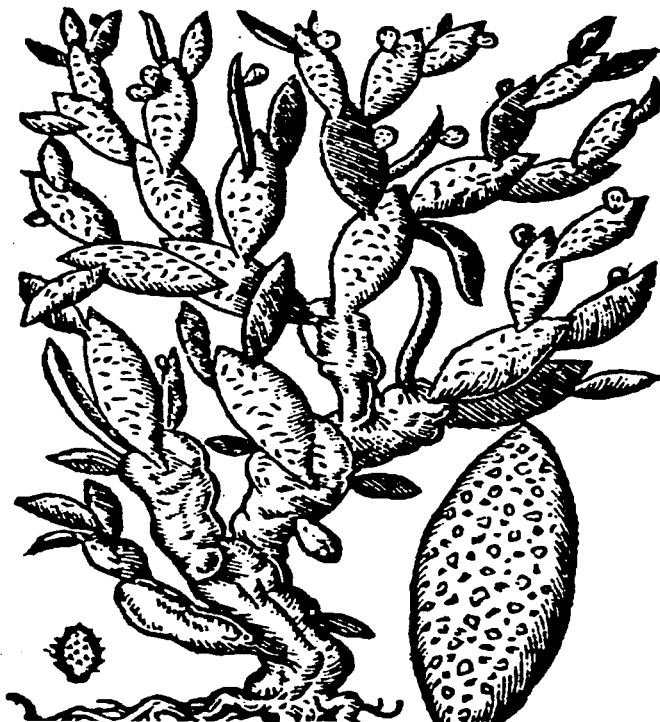


Fig. 2 Nopalnocheztli. Las granulaciones de las ramas representan cochinillas, (tomado de Bravo-Hollis, 1978).

■ Embriología del género *Opuntia*

Los trabajos embriológicos sobre el género *Opuntia* han sido orientados, generalmente, al estudio de óvulo y semilla, de los cuales, el único que abarca de forma parcial la microsporogénesis y microgametogénesis, fue el realizado por Tiagi (1954) con *O. dillenii*. En esta especie la epidermis se encuentra constituida con células papilosas, mismas que llegan a ser fuertemente lignificadas, el endotecio posee engrosamientos fibrosos, la capa media simple es efímera y el tapete glandular puede ser binucleado o polinucleado. Las microsporas se disponen de forma tetraédrica después de la meiosis. El grano de polen es tricelular al momento de ser liberado de la antera. Sin embargo, este autor no describe el tipo de desarrollo de la pared de la antera el cual se ha registrado como monocotiledóneo para otros miembros dentro de la familia Cactaceae, como es el caso de *Hylocereus undatus* (Castillo *et al.*, 2000) *Pachycereus militaris* (Núñez-Maríe *et al.*, 2001) y *Pereskia lychnidiflora* (Jiménez, 2002).

Leuenberger (1976) describe las características del polen de diversos géneros y especies de la familia. Las descripciones generales sobre el grano de polen del género *Opuntia* puede medir de 135µm a 150µm, son poliporado, el contorno de los poros es de forma poliédrica, la exina puede presentar espinulas, puncta y ser desde foveolada hasta reticulada, esta última característica está presente principalmente en algunas especies mexicanas.

De acuerdo con Leins y Schwitalla (1988), dos principales formas de placentación pueden ser distinguidas en la familia Cactaceae. La placentación basal-laminal, encontrada en *Pereskia*, donde la placenta y los óvulos son formados a partir del septo; y la placentación hipantial, donde la placenta se forma en la pared del ovario ínfero, representada en

Schlumbergera truncata. En *Opuntia leucotrichia* los óvulos se forman distantes del septo, en el margen de la placenta, se originan bidireccionalmente con una fila a la derecha y otra a la izquierda del septo, en secuencia centrífuga, encontrándose en la transición de placentación basal-laminal a hipantial (Leins y Schwitalla, 1988).

Respecto al desarrollo del óvulo de las especies estudiadas del género *Opuntia*, se han encontrado diferencias en cuanto al número de megasporas formadas. En *Opuntia aurantiaca*, Chopra (1957) observó una tríada lineal, por su parte, Archibald (1939) menciona la formación de una díada, donde la megaspóra micropilar es la funcional. Tiagi (1954) observó tétradas y ocasionalmente tríadas de megasporas en *Opuntia dillenii* al igual que Maheshwari y Chopra (1955).

Se ha discutido el tipo de desarrollo del saco embrionario, Archibald (1939) encontró que el desarrollo del saco embrionario en *O. aurantiaca* es bispórico. Sin embargo, algunos trabajos sostienen que el saco embrionario es de tipo *Polygonum* (Tiagi, 1954; Maheshwari y Chopra, 1955; Chopra, 1957).

Neuman (1935) reportó la presencia de células alargadas que permanecen sin dividirse de la nucela en la región micropilar, que ofrecen un paso fácil para la entrada del tubo polínico al saco embrionario facilitando la fecundación. Dicho capuchón nucelar ha sido reportado en *O. aurantiaca* y *O. dillenii*. Un espacio de aire entre los tegumentos hacia la zona calazal fue documentado en las mismas especies (Archibald, 1939; Tiagi, 1954; Maheshwari y Chopra, 1955; Chopra, 1957).

Existen imprecisiones en la forma como se definen y describen ciertas estructuras. Es el caso de la descripción del tipo de óvulo dentro del género *Opuntia*. Diversos autores han descrito al óvulo del género *Opuntia* como anátropo, campilótropo, anfítropo y circinótropo (Ganong, 1898;

Payer en Huber, 1929; Archibald, 1939; Tiagi, 1954; Maheshwari y Chopra, 1955; Flores y Engleman, 1976; Stuppy y Huber, 1991).

En *Opuntia aurantiaca* y *O. dillenii* se ha observado la fusión de dos funículos en la parte basal (Archibald, 1939; Tiagi, 1954; Maheshwari y Chopra, 1955), aunque Payer (1851 en Huber, 1929) reporta la presencia de numerosos óvulos con un tronco común en *O. vulgaris*. Por su parte, D'Hubert (1896 en Huber, 1929) reporta un funículo simple para *Opuntia glaucophylla* y *Opuntia salmiana*. Buxbaum (1953) denominó falsa ramificación a los funículos parcialmente fusionados en la base pero que poseen haces vasculares independientes; y ramificación verdadera en donde se comparten un funículo con un haz vascular y ambos se ramifican hacia el ápice. En *O. dillenii* ambos tipos de ramificación pueden ser encontrados en un mismo individuo (Maheshwari y Chopra, 1955).

La región ventral del funículo de algunas cactáceas está cubierta por pelos cortos, los cuales están dirigidos hacia el micrópilo (Schnarf, 1931). Guignard (1886) y Schumann (1898-1899) sugirieron que estos "pelos guía" sirven para dirigir al tubo polínico hacia el micrópilo para facilitar la fecundación. Kapil y Prakash (1969) llamaron a estos pelos como tejido de transmisión funicular. Estas estructuras han sido reportadas en *O. dillenii* (Maheshwari y Chopra, 1955).

La mayor parte de los estudios embriológicos reportan ausencia de fecundación dentro del género *Opuntia*. Ganong (1898) observó en *O. vulgaris* tubos polínicos en la región micropilar pero no detectó la ovocélula debido a que degenera tempranamente. En el caso de *O. aurantiaca* además de la degeneración de todas las células del saco embrionario, incluyendo la célula central, no se observó la penetración de tubos polínicos (Archibald, 1939). Por otro lado, Maheshwari y Chopra (1955) también sostienen que en *O. dillenii* la fecundación no se realiza, debido a la degeneración temprana de la ovocélula.

En *Opuntia ficus-indica* tiene lugar un proceso sexual que resulta en la formación de embrión y endospermo. No se observaron embriones nucelares. El endospermo pasa de estadio nuclear a celular formando un tejido endospermico bien desarrollado, que se mantiene hasta el pleno desarrollo de la semilla. En la semilla madura junto con el endospermo existe un perispermo (Naumova y Yakovlev, 1978).

En *Opuntia elata* (Naumova, 1978) a pesar de la existencia de tubos polínicos en las cercanías al micrópilo nunca se observó fecundación. De las siete células del saco embrionario sólo se mantiene una, la central; las antípodas y el aparato del huevo degeneran. La reproducción por semilla de esta especie se produce con embriones nucelares y endospermo apomíctico. Casos adicionales de poliembriónía han sido reportados en *Opuntia tortispina* y *Opuntia rafinesquii* (Schnarf, 1931).

Varios autores (Hull, 1895 en Archibald 1939; Ganong, 1898; Archibald, 1939; Maheshwari y Chopra, 1955; Tiagi, 1970) han reportado poliembriónía en especies de *Opuntia*. Maheshwari (1950), Bhatnagar y Johri (1972) consideran la ausencia de suspensor, forma irregular y la posición lateral como características que distinguen a los embriones adventicios del cigótico. Sin embargo, Maheshwari y Chopra (1955) reportaron la presencia de suspensor en embriones adventicios en *O. dillenii*.

Braun (1860 en Maheshwari y Chopra, 1955) reportó poliembriónía en *Opuntia tortispina* y sugirió que la presencia de cuatro cotiledones en plántulas de *Opuntia glaucophylla* pudiera deberse a la fusión de dos embriones. Fusión de embriones adventicios también fue reportada para *O. vulgaris* (Ganong, 1889) y *O. dillenii* (Maheshwari y Chopra, 1955).

En *Opuntia litoralis* ocurre tanto la reproducción sexual como apomíctica. Sin embargo, la apomixis es la predominante, ésta puede ser por propagación vegetativa o por embriogénesis nucelar debido a la

estimulación del polen. La doble fecundación origina un embrión cigótico y un endospermo triploide de tipo nuclear. También hay formación de embriones de origen nucelar que compiten con el embrión cigótico (Philbrick, 1963).

Ganong (1898) describe el endospermo de *Opuntia vulgaris* como abundante y sin paredes, el cual es totalmente consumido al igual que el perispermo. De manera similar, Huber (1929) observó en algunas especies de *Opuntia*, que tanto endospermo como perispermo son consumidos por el embrión durante su desarrollo y sólo en la semilla madura se encuentran restos de perispermo. Maheshwari y Chopra (1955) tampoco observaron la formación de paredes celulares en el endospermo de *O. dillenii* y mencionan que éste es totalmente consumido por el embrión.

En *Opuntia aurantiaca* el endospermo no se forma, factor relacionado con la falta de fecundación en esta especie, por lo que los embriones adventicios obtienen las sustancias de reserva de la nucela (Archibald, 1939). De acuerdo con Maheshwari y Chopra (1955), *O. dillenii* presenta endospermo libre nuclear y nucela masiva en la semilla, sin embargo, no tienen elementos para sostener que se realiza la triple fusión. En la subfamilia Opuntioideae el desarrollo del endospermo es poco abundante y se consume durante el desarrollo del embrión (Flores, 1976).

Archibald (1939) sugirió que algunas semillas de *Opuntia aurantiaca* eran estériles por varias razones, entre ellas, el desarrollo trunco de los embriones adventicios, sin embargo, las semillas viables se podían distinguir por contener un embrión adventicio maduro lleno de gránulos de proteínas.

Imprecisiones en ciertos conceptos que corresponden a estructuras seminales de *Opuntia* han sido motivo de debate. Uno de los trabajos embriológicos que aborda el estudio de la formación de la cubierta funicular en el género *Opuntia*, fue realizado por Johnson (1918 en Archibald, 1939)

quien sostiene que *O. fulgida* presenta una cubierta protectora que se deriva del funículo y que rodea completamente a la semilla, cerrándose finalmente cerca del micrópilo.

Descripciones al respecto han sugerido la presencia de un tercer tegumento o arilo (Huber, 1929; Archibald, 1939; Maheshwari, 1950; Buxbaum, 1955; Barthlott y Hunt, 1993; Wallace y Cota, 1996). Schumann (1903) rechaza la formación de un arilo como tal y dice que sólo se endurece la cubierta seminal y que el funículo está exento de endurecimiento, considerando a la cubierta funicular como un tercer tegumento. Por su parte, Bregman y Bouman (1983) reportan que en la subfamilia Opuntioideae el carácter circinótopo del óvulo se debe a la formación de una estructura ariloide, la cual deja únicamente al micrópilo sin cubrir. Kapil y Vasil (1963) describen al arilo como un crecimiento secundario del funículo el cual rodea al óvulo en etapas cercanas a la postfecundación. Flores y Engleman (1976) reportan que la cubierta funicular de las especies de Opuntioideae se desarrolla a partir de un meristemo lateral en ambos lados del funículo que proyecta una estructura aliforme. Produciéndose una cohesión lateral de ésta al realizarse el giro y alargarse el funículo.

Archibald (1939) propone que el funículo de *Opuntia aurantiaca* se curva desde la aparición de los primordios de los tegumentos y conforme continúa el desarrollo del óvulo, el ápice de la nucela es obligado a dar un giro completo, de tal manera que cuando el saco embrionario se ha desarrollado totalmente, el óvulo vuelve a tener una posición anátropa y en cortes transversales se observa como los márgenes del funículo crecen lateralmente y se fusionan con la parte opuesta del mismo. Las células del funículo se lignifican, haciéndolo muy duro. El funículo de *O. aurantiaca* se cubre de mucílago formado por largas células mucilaginosas y pelos suaves provenientes de la epidermis funicular. Maheshwari y Chopra

(1955) observaron que la capa más superficial del funículo origina pubescencias que forman parte de la pulpa del fruto maduro.

Según D'Hubert (1896 en Huber, 1929) el enrollamiento del funículo sobre el óvulo puede tener diferente intensidad y varía entre una vuelta como en *O. glaucophylla*, *O. salmiana* y *O. tomentosa*, hasta vuelta y media como en *O. missouriensis*.

Estudios de germinación como el realizado por Bregman y Bouman (1983) reflejan las diferentes formas de apertura de las semillas de Cactaceae. *Opuntia* se encuentra exenta de rupturas dorsales debido a la cubierta funicular lignificada. El opérculo (apertura en el borde de la copa hilar) es común en especies de la familia Cactaceae. No obstante, en el género *Opuntia* la apertura es inoperculada. El lugar más débil en dicha cubierta funicular es el área micropilar, por lo tanto, la testa comienza su ruptura en este sitio. La germinación lleva unos pocos meses (en cultivo). En condiciones naturales es necesario que las semillas pasen por el tracto digestivo de sus dispersores para poder germinar.

OBJETIVO GENERAL

- Estudiar la embriología de *Opuntia tomentosa* Salm-Dick, var. *tomentosa* Salm-Dick.

OBJETIVOS PARTICULARES

■ Desarrollo de la antera.

- I Realizar el estudio del desarrollo de la pared de la antera.
- II Estudiar los procesos de microsporogénesis y microgametogénesis.
- III Describir la micromorfología del grano de polen maduro.

■ Desarrollo del óvulo.

- I Estudiar los procesos de megasporogénesis y megagametogénesis.
- II Describir la anatomía y la morfología de los óvulos maduros.

■ Desarrollo de la semilla.

- I Estudiar el desarrollo del embrión, endospermo, perispermo, cubierta seminal y cubierta funicular.
- II Describir la micromorfología de la semilla madura.
- III Determinar el origen de la poliembrionía.
- IV Describir estructuralmente el tipo de germinación de las semillas

MATERIAL Y MÉTODOS

▣ Sitio de estudio. El material de *Opuntia tomentosa* var. *tomentosa* en distintas etapas de desarrollo fue colectado en dos localidades.

1. La localidad del "Cerro del Elefante", ubicada dentro de la comunidad de Tlapacoya, Municipio de Ixtapaluca, Estado de México. Se encuentra en el Km 25 de la carretera libre a Puebla, al sureste de la Ciudad de México. En esta localidad se encontraron granos de polen y semillas de *Opuntia* considerados como subfósiles existentes en arcillas carbonosas del Pleistoceno, (González, 1974 en Bravo-Hollis, 1978). La vegetación del lugar está muy perturbada debido al incremento de la mancha urbana.
2. De igual manera se recolectaron ejemplares de la reserva ecológica del Pedregal de San Ángel al sur de la Ciudad de México, situada en la parte suroeste de la cuenca endorreica; que a su vez forma parte del Eje Neovolcánico transversal; con una superficie de 1.46 Km² (Carrillo-Trueba, 1995). Se encuentra entre los 2250 a 3100 msnm. Las lavas del Pedregal son basaltos de olivino con microcristales de color gris oscuro. La vegetación actual corresponde a matorral xerófilo. Especies abundantes en las comunidades vegetales del Pedregal de San Ángel son: *O. tomentosa*, *Senecio praecox*, *Eysenhardtia polystachya*, *Wigandia caracasana*, *Sedum oxypetalum*, *Dodonaea viscosa*, etc. (Rzedowski, 1954).

▣ Fijación. El material biológico en etapa de botón floral, flor en antesis, así como frutos en diferentes etapas de desarrollo fueron fijados en FAA (formaldehído-ácido acético-etanol al 96%) directamente en el campo (Aguilar *et al.*, 1996).

▣ Deshidratación. Después de lavar las muestras en agua corriente por dos horas se deshidrataron con etanoles graduales 30%, 50%, 70%, 85%, 96% y 100% (López *et al.*, 1998).

▣ Inclusión en Paraplast. Después de la deshidratación las muestras se pasaron a diferentes proporciones de xilol-OH 1:2, 1:1, 2:1, posteriormente a xilol-paraplast 2:1, 1:1 y 1:2, manteniéndolas 12 h en cada mezcla a una temperatura de 56 °C. Las muestras se infiltraron con paraplast puro por 24 h. Este material se incluyó en bloques para obtener cortes de 5-8 micrómetros de grosor y se tiñeron con safranina (metilcelosolve) y verde rápido (López *et al.*, 1998).

▣ Técnicas histoquímicas. Se utilizaron cortes desparafinados y deshidratados adicionándoles diferentes reactivos:

- Ácido Peryódico + Reactivo de Schiff (APS). Tiñe polisacáridos insolubles de color rosa intenso (Curtis, 1986).
- Azul Negro de Naftol. Tiñe de azul las proteínas (López *et al.*, 1998).
- APS+Azul Negro de Naftol. Tiñe polisacáridos insolubles y proteínas (modificado de Clark, 1981).
- Rojo O de aceite. Se tiñen lípidos y cutículas (Curtis, 1986).
- Lugol. Detecta almidón, tiñendo de morado o café oscuro (López *et al.*, 1998).
- Flouroglicina-ácido clorhídrico. Tiñe la lignina de rojo violáceo (Aguilar *et al.*, 1996).
- Vainillina-HCl. Tiñe los taninos de rojo (modificado de Waterman y Mole, 1994).

☒ Inclusión en LR White. Las muestras deshidratadas en etanoles graduales se pasaron a una mezcla de resina con etanol (LR White-OH) en una proporción 1:1, después en LR White-OH 2:1. Por último en LR White puro dos cambios de 1 hora y otro cambio de 24 h a 4 °C. La inclusión de las muestras se realiza en cápsulas Been. La resina se polimeriza a una temperatura de 56° C. Se realizaron cortes con cuchillas de vidrio a un grosor de un micrómetro en el ultramicrotomo y se tiñeron con azul de toluidina para su observación con microscopía óptica.

☒ Inclusión en JB-4. El material se deshidrató en etanoles graduales. Preinclusión. Las muestras se impregnaron en una mezcla del componente A de JB-4 más el catalizador. La inclusión se realizó con una mezcla de componente A de JB-4 + catalizador + componente B de JB-4. Las muestras contenidas en la mezcla se colocaron en moldes planos y se polimerizaron dentro de una cámara de vacío a temperatura ambiente en ausencia de oxígeno. De igual manera se cortaron las muestras con cuchillas de vidrio a un grosor de 2 micrómetros y se tiñeron con azul de toluidina (López *et al.*, 1998).

☒ Germinación. Las semillas en etapa madura fueron colocadas en ácido sulfúrico (H₂SO₄) concentrado durante 30 min con el objeto de escarificarlas. Se enjuagaron con agua destilada. Se desinfectaron con una sol de Tween 80 3 gotas/50 ml de agua destilada por 30 min, después, se pasaron a una sol de microdyn 3 gotas/50 ml de agua destilada por 15 min, posteriormente se cambiaron a OH 70% por 2 min y en hipoclorito de sodio al 20% por 15 min. Se realizaron 3 enjuages con agua destilada estéril y se sembraron en agua-agar 1% a pH 5.7. Por último se incubaron en una cámara de ambiente controlado a 24-26 °C, con fotoperiodo de 16/8 h.

▣ Microscopía electrónica de barrido (MEB). Las muestras de diferentes etapas de óvulo y semilla, así como los granos de polen maduros fijados en FAA se deshidrataron en etanoles graduales y se desecaron a punto crítico con CO₂, se colocaron y orientaron en un porta muestras metálicos, fijadas con cinta conductiva, cubriéndolos con una fina capa de oro para su observación en el microscopio electrónico de barrido. Se capturaron fotomicrografías.

▣ Fotomicroscopía. Las preparaciones obtenidas a partir de los cortes realizados con el microtomo de rotación y el ultramicrotomo se observaron con microscopía de luz y se tomaron fotomicrografías.

RESULTADOS

1. Desarrollo floral

El desarrollo floral de *O. tomentosa* se lleva a cabo en las areolas que se encuentran en el margen de los cladodios. El botón floral, al principio de su ontogenia, consta de múltiples tépalos que rodean al tejido meristemático. Los órganos sexuales comienzan a desarrollarse con la rápida diferenciación del androceo, seguida, por la diferenciación del gineceo.

1.1 Desarrollo de la antera

El desarrollo de la antera da inicio con el incremento de células indiferenciadas que originan los primordios de antera. Las células que se encuentran en la base de los primordios dan origen al filamento, mientras que las células que se localizan hacia el ápice del primordio forman las anteras. En cada primordio de antera, algunas células hipodérmicas llegan a ser más prominentes que el resto, constituyendo el tejido arquesporial.

Las células arquesporiales se dividen periclinalmente, lo que origina, una capa de células parietales primarias en posición hipodérmica y células esporógenas hacia el interior de la antera. Por su parte, la capa parietal primaria se divide periclinalmente para dar origen a dos capas (Fig. 1). En esta etapa, se observaron drusas en el conectivo (Fig. 2). La capa parietal secundaria externa forma el endotecio y la capa parietal secundaria interna se divide nuevamente para dar lugar a la capa media y al tapete (Fig. 3).

El origen de la capa media a partir de las células parietales secundaria internas determina el desarrollo de la pared de la antera de tipo monocotiledóneo.

Las células esporógenas se dividen mitóticamente dando lugar a las células madres de las microsporas, las cuales poseen núcleos grandes. En un corte transversal de antera, en la etapa de célula madre de las microsporas, se observa que la pared está formada por 4 capas celulares uniestratificadas: la epidermis, el endotecio, la capa media y el tapete. En esta etapa el tapete es el estrato que posee las células más grandes, con mayor densidad en el citoplasma y puede tener dos o más núcleos. La capa media comienza a obliterarse. El endotecio presenta drusas (Fig. 4). Los depósitos en el conectivo se mantienen.

Las células madres de las microsporas se rodean por una pared de calosa antes de entrar en meiosis, para este momento la capa media es casi imperceptible (Fig. 5). La citocinesis es simultánea y origina una tétrada de microsporas de tipo tetraédrica, la cual continúa rodeada por la pared de calosa (Fig. 6). Más adelante, se degrada la calosa y cada microspora queda independiente. En dicha etapa, el tapete, de tipo glandular, comienza su actividad secretora.

Cuando se separan las microsporas, los granos de polen son unicelulares, presentan numerosas vacuolas y una delgada pared de exina, la cual se engruesa por la actividad del tapete (Fig. 7).

Conforme avanza el desarrollo de los granos de polen, disminuye el número de vacuolas y aumenta la densidad del citoplasma presentando granos de almidón. Las células del tapete continúan virtiendo su contenido en los lóculos de la antera, el endotecio adquiere engrosamientos celulósicos, así como una mayor cantidad de drusas (Fig. 8).

Las células rectangulares de la epidermis se obliteran en el lado de la pared celular anticlinal (Fig. 9).

El grano de polen se divide mitóticamente, producto de la división se originan dos células que corresponden a la célula vegetativa y célula generatriz. La última célula, se divide nuevamente para formar dos células espermáticas.

Al final del desarrollo de la antera, la pared queda constituida por dos capas: la epidermis con células papilosas y el endotecio el cual posee engrosamientos celulósicos y drusas. La pared de la antera presenta una zona del endotecio llamada estomio que forma la línea de dehiscencia que permite la liberación del polen maduro (Fig. 10).

El grano de polen maduro es tricelular (Fig. 11), de forma esferoidal, poliporado, semitectado y reticulado (Fig. 12).

Durante la preantesis de las flores, la antera libera los granos de polen por dehiscencia longitudinal. Las anteras son bilobuladas, tetrasporangiadas y dorsifijas (Fig. 13).

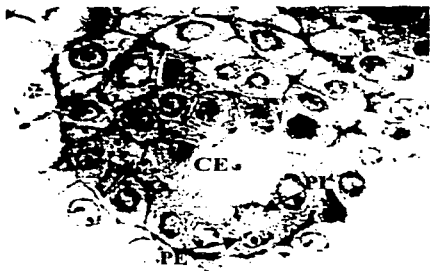


Fig. 1. Corte transversal de microsporangio. Se muestran las capas parietales interna (PI) y externa (PE). Célula esporógena (CE) 25X.

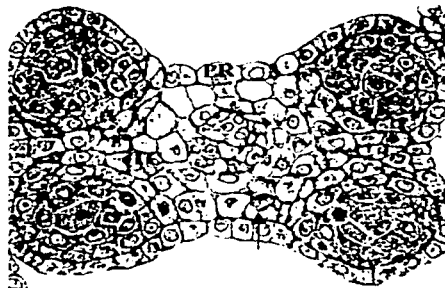


Fig. 2. Corte transversal de antera tetrasporangiada. Protodermis (PR), tejido conectivo (TC), células esporógenas en el centro del microsporangio (CE), drusas (flecha) 12.5X.

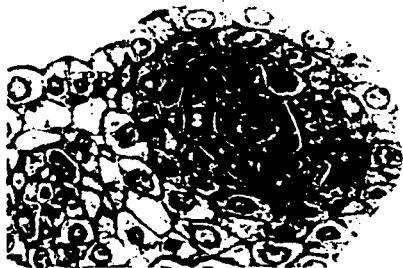


Fig. 3. Corte transversal de microsporangio. Conectivo (C), protodermis (PR), división (flecha) de la capa parietal secundaria interna 25X.

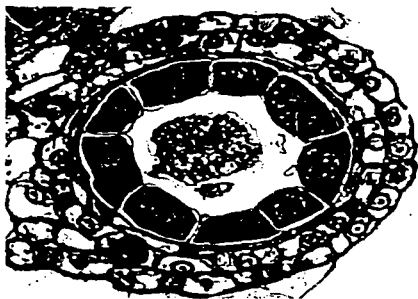


Fig. 4. Corte transversal de microsporangio. La pared de la antera se encuentra constituida por 4 capas: epidermis (EP), endotecio (EN), capa media (CM) y tapete (TA). En el lóculo se encuentra una célula madre de microsporas (CI) rodeada por calosa. Drusas (flechas) 25X

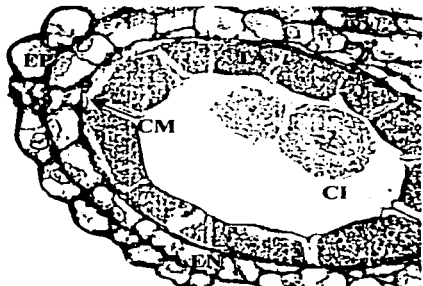


Fig. 5. Corte transversal de microsporangio. Célula madre de microsporas (CI) en metafase, tapete (TA), capa media obliterada (CM), endotecio (EN), epidermis (EP) 25X.



Fig. 6. Tétrada de microsporas de tipo tetraédrica rodeada por calosa. Tapete (TA) 50 X.



Fig. 7. Corte transversal de microsporangio. Se observa epidermis (EP), endotecio (EN), restos de tapete (TA). Grano de polen uninucleado (flecha), con citoplasma denso y algunas vacuolas 25X.

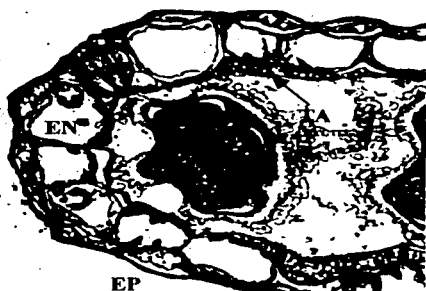


Fig. 8. Corte transversal del lóbulo de la antera. Se observa epidermis (EP), endotecio (EN) con drusas, restos de tapete (TA) y grano de polen (GP) con citoplasma denso y la pared semitectada 25 X.



Fig. 9. Granos de polen poliporados (flecha) y con exina semitectada. La pared de la antera está formada por epidermis (EP) y endotecio (en) 25X.



Fig. 10. Corte transversal de antera dehiscente con granos de polen en el lóculo. Estomio (ES). Epidermis papilosa (EP), endotecio (EN). Núcleo de la célula vegetativa del grano de polen (flecha) 12.5X.



Fig. 11. Grano de polen maduro tricelular. Prueba positiva al lugol. Núcleos (flechas) 50 X.

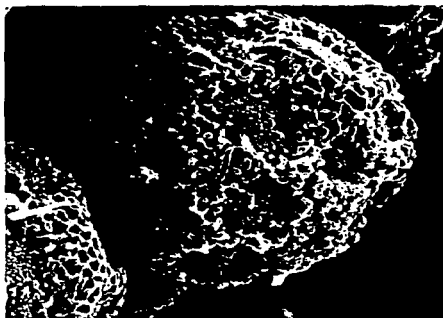


Fig. 12. Grano de polen maduro con poros (flecha). La pared de exina es semitectada y reticulada, MEB 1,000 X.



Fig. 13. Vista lateral de estambres. Se distinguen las anteras bilobuladas (A) y los filamentos (F). La dehiscencia es longitudinal, MEB 75 X.

2.1 Desarrollo del óvulo

Los óvulos se desarrollan dentro de un ovario ínfero constituido por varios carpelos que se fusionan formando un lóculo. La placentación es parietal, los óvulos se originan a los lados y en la base de los septos. Los primordios de óvulos están dispuestos en pares, formando dos filas sobre la pared de cada carpelo, encontrándose los que presentan mayor grado de desarrollo en la zona más cercana a la base del ovario (Fig. 14).

Dentro de los primordios de óvulos una célula hipodérmica se diferencia en célula arqueosporial con un denso contenido citoplásmico y un núcleo muy evidente (Fig. 15), esta célula se divide periclinalmente y origina una célula madre de las megasporas y una célula parietal que queda por debajo de la epidermis, la cual se divide varias veces adicionando células a la nucela.

A partir de las células basales del primordio de óvulo se origina el funículo, el cual tiene un crecimiento diferencial, debido a que presenta mayor número de divisiones anticlinales hacia la región dorsal (Fig. 16).

Rodeando a la nucela emerge el primordio del tegumento interno antes que el primordio del tegumento externo (Fig. 17). A la vez que se diferencian los tegumentos, el funículo circunda al primordio de óvulo. Durante este proceso, en la base de la región ventral del funículo emergen pequeños tricomas (Fig. 18).

Los óvulos presentan un crecimiento asincrónico, donde los óvulos que se desarrollan primero son los que se encuentran hacia la base del ovario ínfero (Fig. 19).

En etapa de célula madre de las megasporas la nucela y los tegumentos están cubiertos totalmente por el funículo circundante (Figs. 20 y 21).

El funículo sigue girando sobre el óvulo y llega a cubrirlo lateralmente hasta que se fusionan los márgenes opuestos (Figs. 22 y 23), mientras tanto, el tegumento externo se forma únicamente en la región dorsal (Fig. 24).

El crecimiento diferencial del funículo y de los tegumentos, origina la curvatura de la nucela masiva desde etapas muy tempranas (Fig. 25).

La célula madre de las megasporas aumenta su tamaño antes de entrar en meiosis, en este momento emerge de la región ventral el tegumento externo (Fig. 26).

La célula madre de las megasporas se rodea de calosa y entra en meiosis. Los tegumentos continúan biestratificados, excepto en la región micropilar donde son pluriestratificados, ambos rodean totalmente a la nucela. El micrópilo está formado por el tegumento interno (Fig. 26).

Algunos de los óvulos que se desarrollan dentro del ovario ínfero y unilocular (Fig. 27), pueden presentar funículos fusionados o de acuerdo con la clasificación de Buxbaum (1953), con falsa ramificación (Fig. 28).

Paralelamente, el funículo desarrolla tricomas a lo largo de la región ventral del mismo (Fig. 29). Éste crece simultáneamente como una cubierta que cubre en su totalidad al óvulo (Fig. 30).

El resultado de la división meiótica de la célula madre de las megasporas es una tríada de megasporas dispuestas de forma lineal, debido a que la célula micropilar de la díada suprime su división, mientras que la célula calazal de la díada se divide normalmente. La tríada lineal de megasporas tiene modificaciones durante el desarrollo. De las tres células en disposición lineal, las dos megasporas cercanas al micrópilo degeneran quedando funcional, únicamente, la megaspora calazal (Fig. 31).

El núcleo de ésta última megaspora se divide mitóticamente varias veces y origina un saco embrionario octanucleado. Durante la megagametogénesis, las células de la nucela continúan proliferando dentro

de un óvulo curvo que sitúa a la cálaza cercana a la región micropilar. El óvulo maduro es campilótopo, bitérmico y crasinucelado (Fig. 32).

El haz vascular se extiende a través del funículo y llega hasta la cálaza. El funículo del óvulo maduro forma un canal y presenta tricomas en la región ventral (Fig. 33). En esta etapa se encuentra totalmente formada la cubierta funicular, el óvulo está unido a la placenta por la parte libre del funículo que no forma la cubierta funicular (Fig. 34), quedando un orificio que permite la entrada de los tubos polínicos.

El megagametofito presenta 3 células antípodas efímeras en la zona calazal. En la célula central se encuentra una gran cantidad de granos de almidón (Fig. 35). Las sinérgidas son más evidentes en etapas subsecuentes (Fig. 36), así como los núcleos polares de la célula central (Fig. 37) ya que disminuye la densidad de los granos de almidón. La ovocélula se encuentra al lado de las sinérgidas (Fig. 38). El tipo de gametofito femenino es *Polygonum* aún cuando se forma a partir de una tríada de megaspora, ya que la célula micropilar de la díada permanece sin dividirse y degenera durante el desarrollo, así, un saco embrionario viable se forma de la megaspora calazal.

El saco embrionario maduro está formado únicamente por la célula central con una vacuola de gran tamaño, dos sinérgidas vacuoladas con citoplasma muy denso y la ovocélula. Las sinérgidas y la ovocélula se encuentran dispuestas hacia el micrópilo, mientras que la célula central se encuentra por arriba de ellas, es decir, hacia la cálaza.

3. Fecundación

Los tricomas ubicados en la región ventral del funículo alcanzan su máximo crecimiento en la anthesis, siendo la conexión que conduce a los tubos polínicos desde la placenta al micrópilo (Fig. 39).

Los tubos polínicos viajan a lo largo de la parte ventral del funículo, a través de los tricomas que actúan como obturador y entran por el micrópilo por lo que la fecundación es porógama (Fig. 40). Después de la fecundación estos tricomas desaparecen.

En algunas ocasiones las células del ápice de la nucela permanecen sin divisiones, se elongan y muestran contenido citoplásmico denso; a ésta zona se le denomina capuchón nucelar y se asocia con el acceso de tubos polínicos hacia el saco embrionario para la fecundación, sin embargo, no en todos los óvulos se presenta esta estructura (Fig. 41).

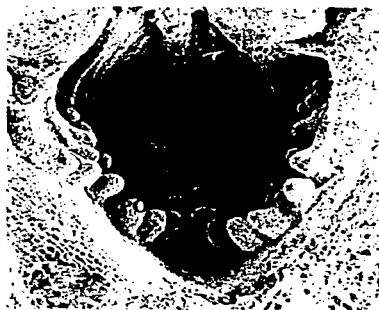


Fig. 14. Corte longitudinal de ovario. Se observan los primordios de óvulo (PO) dispuestos en dos filas por carpelo emergiendo al lado del septo (SE), MEB 75X.



Fig. 15. Corte longitudinal de primordios de óvulo delimitados por protodermis (PR), en posición subepidérmica se encuentra la célula arqueosporial (flecha), 25X.

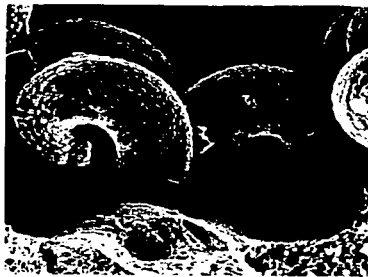


Fig. 16. Primordios de óvulo dispuestos bidireccionalmente. Nucela (NU), tegumento interno (TI), funículo (FU), MEB 150X.



Fig. 17. Primordios de óvulo. Se observa el surgimiento de los tegumentos interno (TI) y externo (TE). Nucela (NU). El funículo (FU) es curvo y ramificado, MEB 350X.



Fig. 18. Óvulo con funículo (FU) circundante. Se observa el surgimiento de tricomas (flecha) en la parte ventral del funículo, MEB 250X.



Fig. 19. Ovario con múltiples óvulos, MEB 75X.



Fig. 20. Óvulo en etapa de célula madre de las megasporas con funículo (FU) circundante, MEB 350X

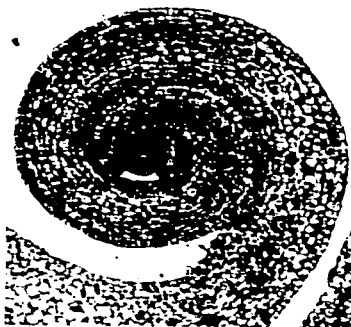


Fig. 21 Corte longitudinal de óvulo en etapa de célula madre de las megasporas. El funículo (FU) rodea totalmente al óvulo, 12.5X.



Fig. 22. Corte transversal de óvulo en etapa de célula madre de las megasporas donde se aprecia la fusión lateral (flechas) del funículo (FU) envolvente. Tegumento externo (TE), 12.5X.



Fig. 23. Óvulo con funículo (FU) circundante y envolvente formando la cubierta funicular, MEB 200X.

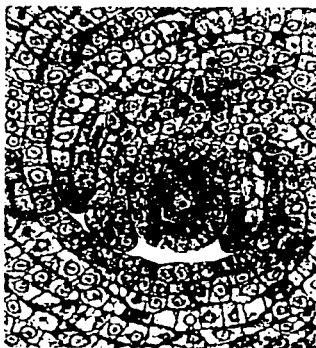


Fig. 24. Óvulo crasinucelado con célula madre de las megasporas (CG). Tegumento interno (TI), tegumento externo dorsal (TE), 25X.

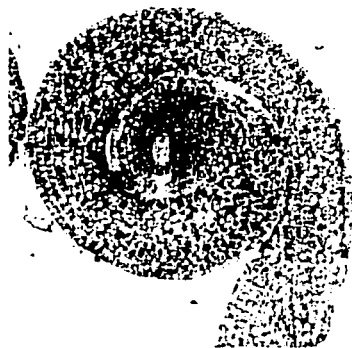


Fig. 25. Corte longitudinal de óvulo en etapa de célula madre de las megasporas con funículo (fu) circundante, 12.5X.



Fig. 26. Célula madre de las megasporas (CG) en profase, los tegumentos son biestratificados (TG) excepto en la región micropilar donde aumentan los estratos. Nucela (NU), 25X.

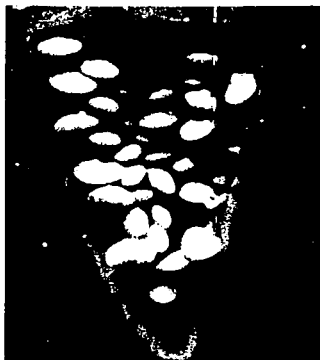


Fig. 27. Ovario conteniendo varios óvulos, 2.5 X.



Fig. 28. Funiculo ramificado, 5 X.



Fig. 29. Corte longitudinal de óvulo con tríada de megasporas. Nucela (nu) masiva. El funículo desarrolla tricomas (T) en la región ventral, 12.5X



Fig. 30. Óvulo con cubierta funicular (CF), el funículo (FU) está unido a la placenta, MEB 100X.

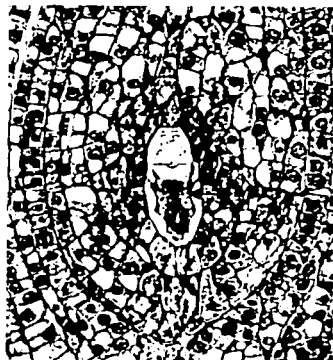


Fig. 31. Tríada lineal de megasporas. Se observa núcleo de la megaspora calazal y funcional (MC). Las dos megasporas micropilares degeneran (MD), 25X.

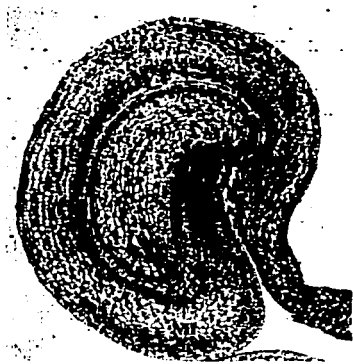


Fig. 32. Corte longitudinal de óvulo maduro. Saco embrionario (SE), micrópilo (MI). La nucela es curva (NU). El funículo (FU) rodea totalmente al óvulo, 3.12X

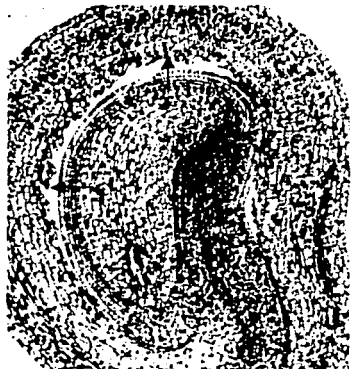


Fig. 33. Corte longitudinal de óvulo maduro. Funiculo con tricomas (T) en la región ventral. Canal que permite el paso de tubos polínicos (C), 5X.



Fig. 34. Óvulo maduro completamente envuelto por la cubierta funicular y granos de polen (GP) en la base del funículo, MEB 100X.



Fig. 35. Saco embrionario. Antípodas (flechas), granos de almidón (GA) en la célula central, 25 X.



Fig. 36. Corte longitudinal de óvulo. Se observa saco embrionario con sinérgidas (flecha), 25X.



Fig. 37. Corte longitudinal de óvulo. Se observa saco embrionario con sinérgidas y núcleos polares (flecha), 20X.



Fig. 38. Corte longitudinal de óvulo. Se aprecia ovocélula (flecha) y sinérgidas, 25X.



Fig. 39. Corte longitudinal de óvulo maduro con tricomas (T) en la región ventral del funículo. Se observa el haz vascular (IV), 25X.

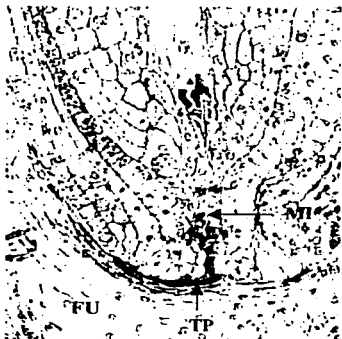


Fig. 40. Corte longitudinal de óvulo. Muestra restos del tubo polínico (TP) entrando por el micrópilo (MI). Funiculo (FU), 25X.



Fig. 41. Corte longitudinal de óvulo, mostrando el tubo polínico (flecha) entrando por la nucela, 25X.

4. Semilla

Después de la fecundación, en las células de la región calazal, situadas entre los tegumentos y en la transición de la cálaza al funículo, comienzan a depositarse taninos, los cuales crean una barrera entre el haz vascular y la cálaza (Fig. 42). Esta estructura se hace más evidente en la semilla madura.

Restos de tubos polínicos se observan al lado del cigoto (Fig. 43) cuando las sinérgidas se han colapsado.

El cigoto, situado en posición micropilar (Fig. 44), se divide transversalmente (Fig. 45). Mientras tanto, se realiza la primera división del núcleo primario del endospermo la cual es sin citocinesis (Fig. 46), donde un núcleo permanece cerca del micrópilo y el otro migra hacia la zona calazal, ambos, por sucesivas cariocinesis forman un conjunto de núcleos libres unidos por citoplasma, por lo que se considera de tipo nuclear.

Las siguientes divisiones del cigoto (Figs. 47 y 48) originan un proembrión columnar, después las células basales del proembrión dan origen al suspensor, mientras que las apicales continúan el incremento de la masa del proembrión que se torna de tipo globular. En esta etapa los núcleos del endospermo que se encuentran en la zona micropilar son los primeros en formar paredes celulares delgadas (Fig. 49). Sin embargo, el embrión en etapa globular comienza a consumirlo antes de que el endospermo pueda formar las paredes celulares de la zona calazal. Hacia ésta zona se forma una aglomeración de núcleos con citoplasma denso que se reconoce como haustorio del cual se crean digitaciones hacia el perispermo.

El embrión continúa su desarrollo pasando de la etapa globular a las etapas de corazón, torpedo (Figs. 50 y 51) y cotiledonaria (Figs. 52 y 53). En todas las etapas se presenta el embrión cigótico en buen estado, con suspensor bien definido en la región micropilar. Conforme avanza el

desarrollo de la semilla, el embrión consume el perispermo que contiene almidón y al endospermo.

El embrión maduro presenta dos cotiledones bien diferenciados, los cuales se curvan hacia la zona calazal (Figs. 54 y 55). El hipocótilo ocupa aproximadamente una tercera parte del interior de la semilla mientras que los cotiledones ocupan el resto. En la semilla madura el embrión es abundante en proteínas y carbohidratos. En esta etapa el perispermo queda reducido a la región de la cálaza, con células obliteradas en forma cuña (Fig. 56). El endospermo constituido por un estrato (Fig. 57) rodea tres cuartas partes del hipocótilo, sin llegar a cubrir los cotiledones.

5. Poliembrionía

La mayoría de las semillas forman múltiples embriones a partir de la nucela, éstos se desarrollan poco después que el embrión cigótico (Fig. 49).

Todos los embriones nucelares poseen suspensor al igual que el cigótico (Figs. 51, 58 y 59). Se observaron numerosos embriones adventicios dentro de un mismo saco embrionario (Fig. 50). Estos embriones se desarrollan casi sincrónicamente hasta la etapa globular, conforme avanza su desarrollo se da una competencia entre los embriones que impide que todos lleguen a las etapas de corazón y torpedo.

En algunas ocasiones, a partir de las células del suspensor del embrión cigótico se origina un embrión adicional por proliferación celular (Fig. 49). El embrión maduro posee dos cotiledones, sin embargo, se encontraron embriones con cuatro cotiledones posiblemente del surgimiento del embrión con origen del suspensor o como resultado de la fusión del embrión cigótico y un adventicio (Fig. 60).

La mayoría de los embriones adventicios degeneran tempranamente. Aunque algunas veces uno o dos embriones en etapa globular, corazón y rara vez torpedo permanecen en la semilla madura siendo fuertemente presionados por el crecimiento del embrión maduro (Fig. 61).

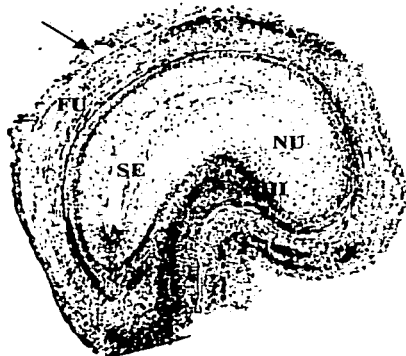


Fig. 42. Corte transversal de semilla. Funiculo (FU), tricomas (flecha), nucela (NU), saco embrionario (SE), hipostasa (HI), 2.5X.

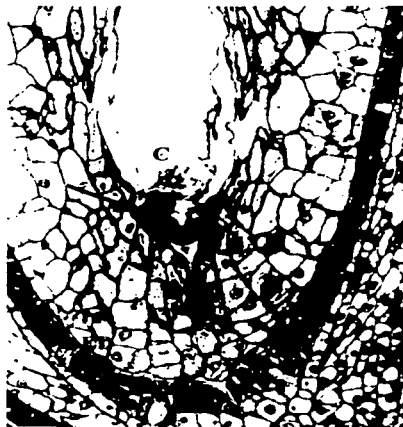


Fig. 43. Corte transversal de semilla. Se aprecia el cigoto (C) y restos del tubo polínico (flecha). Endotegmen con taninos (ED), 12.5X.



Fig. 44. Corte transversal de semilla. Se aprecia el cigoto (C) hacia el micrópilo. Exotesta (EX) y endotegmen (ED) con taninos, 12.5X.



Fig. 45. Corte transversal de semilla. Se observa el proembrión (PR) conformado por dos células, 12.5X.



Fig. 46. Corte longitudinal de semilla joven. Núcleos primarios del endospermo (flechas), nucela (NU), 25X.

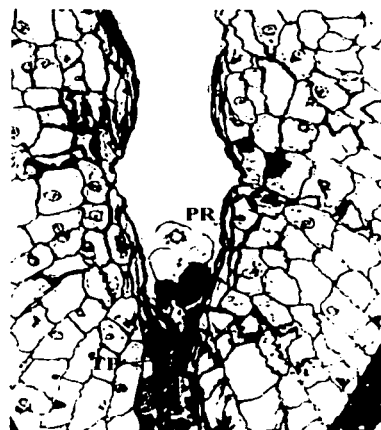


Fig. 47. Corte transversal de semilla. Se observa el proembrión (PR) conformado por tres células y restos del tubo polínico (TP), 12.5X.



Fig. 48. Corte transversal de semilla. El proembrión (PR) conformado por seis células. Nucela (NU), 12.5X.



Fig. 49. Corte de embrión cigótico (EC) en etapa globular con suspensor (SU) y embrión nucelar (ENU) en etapa columnar. Embriones derivados del suspensor (ES), 25X.



Fig. 50. Corte longitudinal de semilla con poliembrionía. Cubierta funicular (CF), cubierta seminal (CS), perispermo (PE), Endospermo (E), Embriones torpedo y globulares (flecha), 3.2X.



Fig. 51. Embrión cigótico con suspensor (flecha) en etapa de torpedo. Cotiledón (CO), MEB 200X.



Fig. 52. Corte longitudinal de semilla con embrión cigótico (EC) en etapa cotiledonárea joven. Endospermo (E), perispermo (PE), cubierta seminal (CS) y cubierta funicular (CF). 3.2 X.

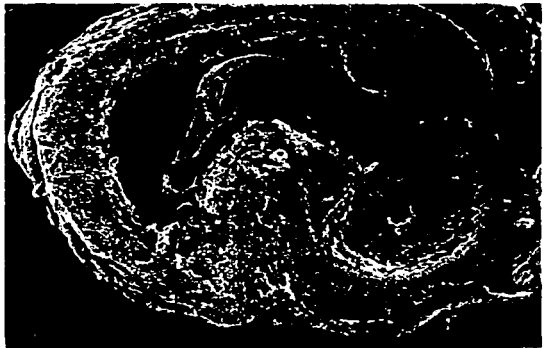


Fig. 53. Corte longitudinal de semilla con embrión (EC) en etapa cotiledonárea, MEB 35X.



Fig. 54. Corte longitudinal de semilla con embrión gótico maduro (EC). Perispermo (PE), cubierta minimal (CS) y cubierta funicular (CF), 3.2X.



Fig. 55. Embrión cigótico maduro con los cotiledones (CO) curvos. Hipocótilo (HI), radícula (RA), MEB 50X.

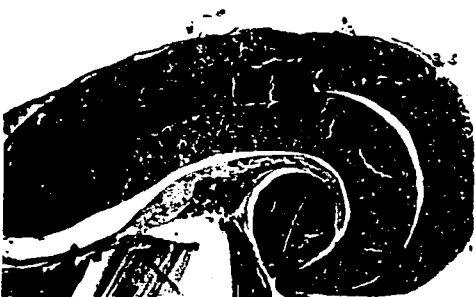


Fig. 56. Corte longitudinal de embrión cigótico duro. Cotiledón (CO), hipocótilo (HI), radícula (RA). Resto de perispermo (PE), 3.2X.

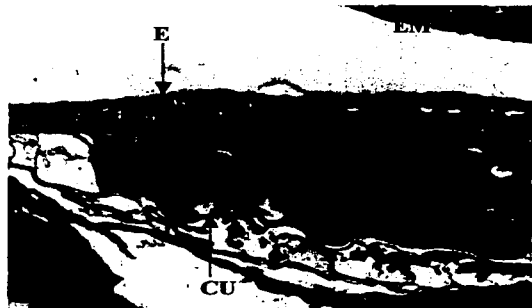


Fig. 57. Corte longitudinal de semilla. Se observa el endospermo (E) y perispermo (PE) persistente en la semilla madura. Embrión (EM), cutícula (CU), 25X.

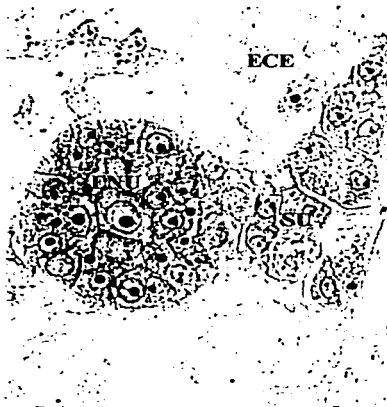


Fig. 58. Corte longitudinal de embrión nucelar (ENU) en etapa globular. Suspensor (SU), Endospermo celular (ECE), 50X.



Fig. 59. Embriones globulares de origen nucelar (flechas). Suspensor (SU), MEB 750X.



Fig. 60. Detalle de la figura 53, mostrando embriones fusionados. Se removieron los cotiledones en el embrión con menor grado de desarrollo (flecha), MEB 200X.

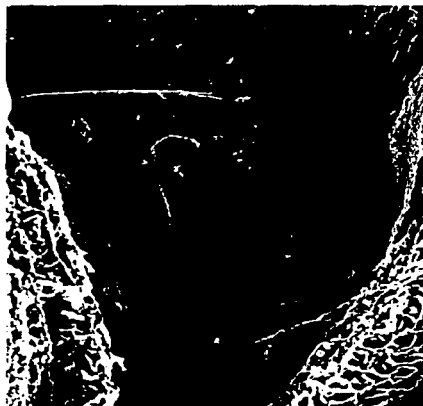


Fig. 61. Embriones adventicios (flecha) en etapa de corazón y globulares (ENU) dentro de una semilla madura. Los cuales compartían la misma semilla que el embrión mostrado en la fig. 55, MEB 150X.

7. Cubierta seminal

La cubierta seminal está conformada por la modificación de los tegumentos, está se puede distinguir, entre otras cosas, por las cutículas de los diferentes estratos, los cuales se hacen evidentes por la refringencia que presentan. La cutícula más obvia es la que presenta la exotesta debido al gròsor que alcanza. Adicionalmente se encuentran la cutícula intertegumentaria y la cutícula de la epidermis nucelar (Fig. 57), con dimensiones más discretas que en la exotesta.

En los tegumentos, un poco antes de la antesis, comienzan a depositarse taninos (Fig. 62). Estos compuestos fenólicos se depositan dentro de una vacuola que en la madurez llega a ocupar la totalidad de la célula tanto en la exotesta como en el endotegmen (Figs. 63 y 64), así como en las células de la región micropilar de ambos tegumentos. La pared periclinal externa de la exotesta es la más gruesa (Fig. 65). Endotesta y exotegmen desaparecen durante el desarrollo de la semilla, de tal manera que la cubierta seminal en una semilla madura está compuesta únicamente de exotesta y endotegmen (Fig. 66). La cubierta seminal es exotestal.

8. Desarrollo de la cubierta funicular

En los primeros estadios de la formación del óvulo se desarrolla la cubierta funicular.

Durante la formación del primordio de óvulo la primera estructura que se distingue por su rápido desarrollo es el funículo. El crecimiento de éste es diferencial, ya que el número de divisiones celulares no es igual en ambos lados del funículo (Fig. 16). Un mayor número de mitosis se lleva a cabo en la región dorsal del funículo lo que origina su curvatura en la etapa

de célula madre de las megasporas y empiezan a emerger los tegumentos (Figs. 17, 18 y 19).

El funículo va envolviendo a la nucela en la medida en que aumenta su curvatura. En su parte ventral, se forma un surco que ajusta con la nucela (Fig. 20 y 21) y que permite que también llegue a estar cubierta lateralmente.

Posteriormente, hacia la etapa de célula madre de las megasporas el funículo se empieza a extender hacia la parte lateral del óvulo, por ambas caras. El funículo se fusiona en las caras laterales, de tal manera que cubre en su totalidad al óvulo dejando un orificio por donde se conduce el tubo polínico durante la fecundación. En cortes transversales de óvulo, dentro de la etapa de célula madre de la megasporas, se observa como el funículo envuelve las caras laterales del óvulo, dejando hacia su interior, al tegumento externo, el cual hace contacto con el tegumento interno (Fig. 22).

Así, el funículo no sólo es circundante sino también envolvente, formándose desde la etapa de células madre de las megasporas la cubierta funicular (Fig. 23).

Otra característica presente en la cubierta funicular es que algunas células contienen depósitos de oxalato de calcio en forma de drusas (Fig. 62).

La envoltura o cubierta funicular es pluriestratificada. Más adelante, los tricomas situados en el surco de la región ventral del funículo, los cuales al parecer guían al tubo polínico hacia el micrópilo funcionando como obturador, se colapsan después de la fecundación, de tal manera que durante el desarrollo de la semilla el estrato más interno de la cubierta funicular se adosa con la exotesta (Figs. 63 y 64).

Las células de la cubierta funicular, después de la fecundación, comienzan a engrosar sus paredes y forman dos capas, cada una con varios estratos que quedan divididas por el haz vascular. Las células de

cada capa se distinguen por su acomodo: de forma paralela al haz vascular del funículo (hacia el exterior de la semilla) o de forma perpendicular (hacia el interior de la semilla). Esta disposición de las células le brinda mayor resistencia mecánica a la semilla (Figs. 63 y 67). La cubierta funicular está compuesta por esclereidas con paredes muy gruesas y lúmenes reducidos (Fig. 68).

En la parte externa de la cubierta funicular existen células que no engruesan sus paredes celulares, incluyendo las células epidérmicas de dicha región. La epidermis dorsal del funículo posee tricomas unicelulares que se extienden al contacto con el agua, mientras que en la semilla seca se pegan a la cubierta funicular (Fig. 69).

9. Germinación

La germinación de las semillas cultivadas *in vitro* se lleva a cabo por la fractura de la cubierta funicular. La apertura es inoperculada. La región de apertura es una zona débil que se forma en la parte dorsal y lateral cercana al micrópilo (Figs. 70 y 71). La cubierta funicular y la cubierta seminal comparten este mismo punto débil. Los tiempos de germinación varían notablemente de entre pocas semanas a meses. Varias semillas germinaron formando una plántula de origen cigótico (Fig. 72).

Adicionalmente, se observó la germinación esporádica de más de una plántula por semilla. Estas plántulas podían estar unidas del tallo o separadas (Fig. 73).



Fig. 62. Corte longitudinal de funiculo donde se observan drusas (flechas), 25X.

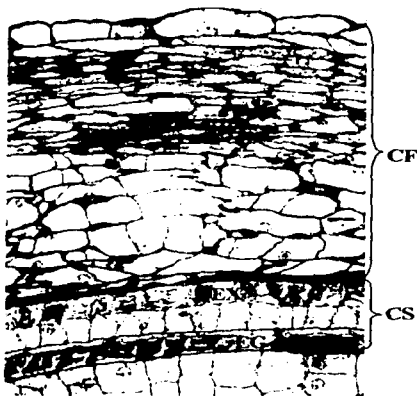


Fig. 63. Corte longitudinal de semilla donde se observa la cubierta funicular (CF) con haz vascular (HV). La cubierta seminal (CS) con taninos en exotesta (EX) y endotegmen (EG), 25X.

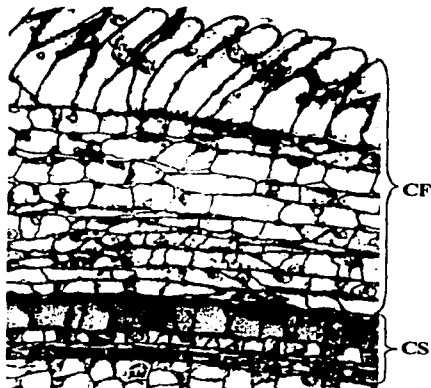


Fig. 64. Corte longitudinal de semilla mostrando los tricomas (T) de la cubierta funicular (CF). Cubierta seminal (CS) con taninos en exotesta (EX) y endotegmen (EG), 25X.

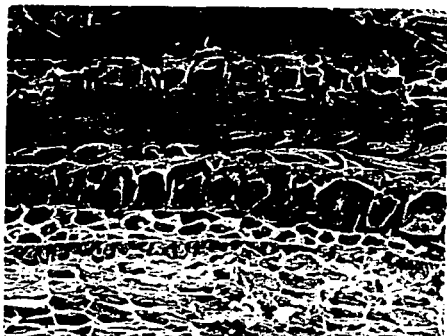


Fig. 65. Corte longitudinal de semilla, se observa la cubierta funicular (CF), la exotesta (EX) y el endotegmen (EG) con taninos, MEB 200X.

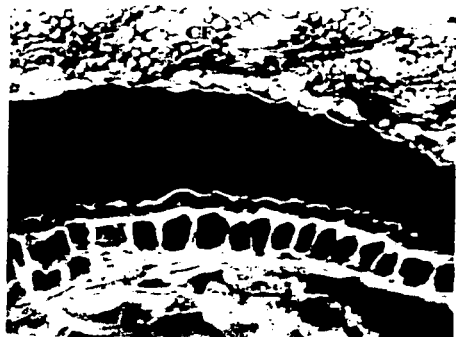


Fig. 66. Corte longitudinal de semilla, se observa la cubierta funicular (CF), taninos (TA) en la exotesta con la pared periclinal externa (flecha) engrosada, 25X.



Fig. 67. Corte longitudinal de semilla, se observa la cubierta funicular (CF), la exotesta (EX) y el endotegmen (EG) con taninos, MEB 350X.

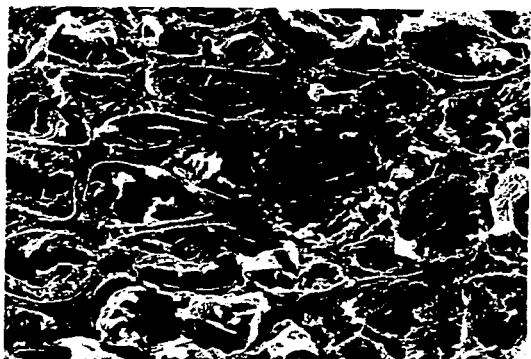


Fig. 68. Corte longitudinal de la cubierta funicular. se observan esclereidas. Lumen (LU), MEB 2000X.



Fig. 69. Semilla madura mostrando los largos triconas (T) que provienen de la cubierta funicular, 2.5X.



Fig. 70. Semilla madura germinando. Se observa parte de la radícula (RA), 3.2X.



Fig. 71. Semilla madura donde se muestra la apertura (A) durante la germinación, 3.2X.

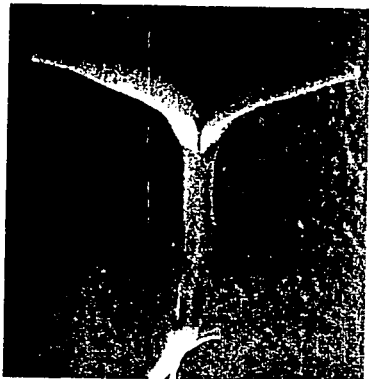


Fig. 72. Plántula de origen cigótica. 1.6X

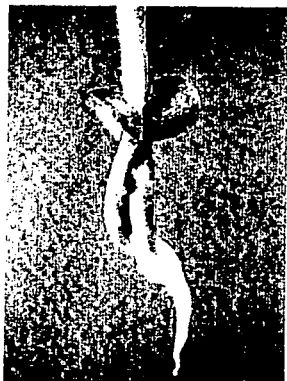


Fig. 73. Plántulas de origen cigótico y adventicio sin fusionarse. 1.6X.

DISCUSIÓN

Antera

La microsporogénesis en *O. tomentosa*, concuerda en lo general, con la descripción para la familia, la citocinesis es simultánea y origina tétradas tetraédricas (Davis, 1966; Tiagi, 1970; Johri *et al.*, 1992). De acuerdo con Davis (1966), Tiagi (1970) y Johri *et al.* (1992) en la familia Cactaceae, la antera es tetrasporangiada con epidermis persistente, endotecio con engrosamientos celulósicos, una capa media efímera y tapete de tipo glandular, binucleado a multinucleado. Algunas características no han sido ampliamente reportadas como son el tipo de desarrollo de la pared de la antera, el cuál es monocotiledóneo en las especies: *Hylocereus undatus* (Castillo *et al.*, 2000), *Pachycereus militaris* (Núñez-Mariel *et al.*, 2001) y *Pereskia lychnidiflora* (Jiménez, 2002). Núñez-Mariel *et al.* (2001) y Jiménez (2002) han reportado drusas en el conectivo, *O. tomentosa* también posee estas estructuras.

La epidermis de la antera de *O. tomentosa* posee células papilosas también presentes en *O. dillenii* (Tiagi, 1954). Esta característica no se encuentra reportada en ningún otro género, por lo que podría tener valor taxonómico. Una característica novedosa encontrada en *O. tomentosa* fue la presencia de drusas en el endotecio.

De acuerdo con la clasificación de Leuenberger (1976) la pared del grano de polen maduro de *O. tomentosa* es poliporada, semitectada y reticulada.

Óvulo

Según Leins y Schwitalla (1988) la placentación de *Opuntia leucotricha* es de tipo hipantial debido a que la placenta surge no sólo del carpelo sino también del hipantio. En *O. tomentosa*, aunque las dos filas de primordios de óvulo emergen fuera del septo como lo señalan Leins y Schwitalla, los óvulos se desarrollan dentro de un ovario infero con placentación parietal y no se forman óvulos en la base del ovario, por lo que el hipantio es una estructura ajena a la placentación.

Se han reportado diferencias en cuanto al número de megasporas que se forman en Cactaceae. Archibald indicó la presencia de una díada en *O. aurantiaca*, por otro lado, Engleman (1960) reportó para *Astrophytum myrostrigma*, *Thelocactus bicolor* y *Toumeyia papyracantha* la formación de tríadas de megasporas al igual que Núñez-Mariel *et al.* (2001) en *P. militaris*, por su parte, Johansen (1950) sugiere la formación de tétradas para la familia, Tiagi (1954) y Maheshwari y Chopra (1955), Davis (1966) Kapil y Prakash (1969), han reportado tanto tríadas como tétradas dentro de una misma especie. En *O. tomentosa* la división en la célula micropilar de la díada se suprime y la célula calazal de la díada continúa su división normalmente formando una tríada lineal de megasporas, en este caso la megaspora funcional es la calazal.

Se observaron células nucleares alargadas en la región micropilar, que permanecen sin dividirse como el capuchón nuclear de *O. aurantiaca* y *O. dillenii* (Archibald, 1939; Tiagi, 1954; Maheshwari y Chopra, 1955; Chopra, 1957). Sin embargo, esta estructura no se encontró en algunos óvulos maduros de *O. tomentosa*. Por otra parte, el espacio aéreo entre los tegumentos reportado por Archibald (1939), Tiagi (1954) Maheshwari y Chopra (1955) y Chopra (1957) fue observado sólo en algunos óvulos de *O. tomentosa* en etapa de tríada de megasporas.

Existe congruencia en que el óvulo de la familia Cactaceae es bitégmico con micropilo endóstomo, crasinucelado y saco embrionario de tipo Polygonum (Davis, 1966; Kapil y Prakash, 1969; Johri *et al.*, 1992), sin embargo, hay inconsistencias para definir el tipo de óvulo. Diversos autores han descrito al óvulo del género *Opuntia* como anátropo, campilótropo, anfítropo y circinótropo (Huber, 1929; Archibald, 1939; Tiagi, 1954; Maheshwari y Chopra, 1955; Flores y Engleman, 1976; Stuppy y Huber, 1991). Sin embargo, de acuerdo con las definiciones de los tipos de óvulos de Maheshwari (1950) y Rutishauser (1969) el de la especie en estudio es campilótropo, debido a que la nucela se curva sin afectar al saco embrionario en el óvulo maduro. Sin embargo, después de la fecundación el saco embrionario aumenta en tamaño extendiéndose a lo largo de la nucela, por lo que adopta su forma curva, brindándole al embrión una área mayor para crecer. Archibald (1939) considera que el tipo de óvulo en *O. aurantiaca* es circinótropo debido al giro del funículo alrededor del óvulo, sin embargo, Flores y Engleman (1976) hacen notar la diferencia entre el tipo de óvulo, el cual lo consideran anfítropo para la familia, mientras que el funículo de tipo circundante le da el carácter circinótropo. Por lo que el término circinótropo describe al funículo circundante, mientras que el término campilótropo lo considero útil para denominar al tipo de óvulo de *O. tomentosa*, independientemente de las características que presente el funículo.

Buxbaum (1953) describió dos tipos de ramificación del funículo, llamando falsa ramificación a óvulos que por fusión de sus funículos comparten un eje común pero con haces vasculares independientes y ramificación verdadera donde dos o más óvulos que surgen con un funículo y un solo haz vascular común. Huber (1929) reportó funículos ramificados dentro del género *Opuntia*, por su parte, Maheshwari y Chopra (1955) observaron ambos tipos de ramificación dentro de *O. dillenii*. En *O. tomentosa* se presentan pocos casos de falsa ramificación o mejor dicho fusión de dos funículos, debido a que los primordios de óvulo se

desarrollan en filas de pares muy cercanos, provocando que por falta de espacio lleguen a fusionarse dos óvulos vecinos.

Kapil y Vasil (1963), así como, Bhojwani y Bhatnagar (1978) mencionan que el obturador es cualquier estructura asociada a la conducción del tubo polínico, por lo que puede desarrollarse tanto de la placenta como del funículo. La cubierta interna del funículo de algunas cactáceas está cubierta por pelos cortos, los cuales están dirigidos hacia el micrópilo (Schnarf, 1931; Maheshwari y Chopra, 1955). Guignard (1886) y Schumann (1898-1899) sugirieron que estos "pelos guía" sirven para dirigir al tubo polínico hacia el micrópilo. Kapil y Prakash (1969) llamaron tejido de transmisión funicular a estos tricomas. En *O. tomentosa* estos tricomas se forman desde etapas tempranas pero se hacen más evidentes durante la antesis ya que es el momento en el que los tubos polínicos crecen a través de ellos, por lo que se puede considerar al canal de tricomas como obturador. Después de la fecundación los tricomas se obliteran y la región ventral del funículo se adhiere a la cubierta seminal.

Ganong (1898), Archibald (1939), Maheshwari y Chopra (1955) y Naumova (1978) han sugerido la ausencia de fecundación en especies del género *Opuntia*, debido a la degeneración temprana de la ovocélula, aunque observaron tubos polínicos cerca del micrópilo, excepto en *O. aurantiaca*. Por otro lado, Philbrick (1963) reporta tanto reproducción sexual como semillas apomícticas en *O. littoralis*, en tanto que Naumova y Yakovlev (1978) han reportado únicamente reproducción sexual en *O. ficus-indica*. En *O. tomentosa*, además de que la ovocélula permanece viable durante la polinización, se observaron tubos polínicos atravesando los micrópilos por lo que consideramos que existe fecundación la cual es de tipo porógama, formándose un cigoto producto de la reproducción sexual.

Semilla

El cigoto de *Opuntia tomentosa* posee un núcleo conspicuo, y permanece en estado unicelular hasta después que el núcleo primario del endospermo se divide en forma similar a como lo señalan Kozlowski y Gunn (1972).

Archibald (1939) observó que el embrión maduro de *O. aurantiaca* posee gránulos de proteínas. En *O. tomentosa* se observó una gran cantidad de proteínas dentro del embrión maduro.

Maheshwari y Chopra, (1955) no observaron la triple fusión en *Opuntia dillenii*, sin embargo, reportaron un endospermo de tipo nuclear que no presentó la formación de paredes celulares. Por su parte, Davis (1966) señala que el endospermo dentro del género *Opuntia* difícilmente llega a ser celular antes de ser digerido por el embrión. En *O. tomentosa* el endospermo se celulariza sólo hacia la región micropilar rodeando al embrión globular, pero comienza a ser consumido por el embrión, durante su desarrollo, antes de que termine la formación de paredes celulares. Ganong (1898), Huber (1929), Maheshwari y Chopra (1955), afirman que el endospermo es totalmente consumido durante el desarrollo del embrión, a diferencia de Flores y Engleman (1976) quienes mencionan que el endospermo de la familia Cactaceae consta de una o dos capas celulares dependiendo de la especie y se localiza: a) alrededor de la radícula; b) sobre la radícula y el hipocótilo; o c) en la radícula, el hipocótilo y parte de los cotiledones en el lado ventral de la nucela. El endospermo de *O. tomentosa* dentro de la semilla madura, queda reducido a un estrato celular que rodea la radícula, el hipocótilo y parte de los cotiledones como en el tipo c de la clasificación de Flores y Engleman. Aunque Flores (1976), considera que las especies que estudió de la subfamilia Opuntioideae presentan la posición del endospermo de tipo b. En *O. ficus-indica* tiene lugar un proceso sexual que resulta en la formación de embrión y

endospermo. El endospermo pasa de estadio nuclear a celular formando un tejido endospermico bien desarrollado, que se mantiene hasta el pleno desarrollo de la semilla. En la semilla madura junto con el endospermo existe un perispermo (Naumova y Yakovlev, 1978). En *O. aurantiaca* el endospermo no se forma y los embriones nucelares son totalmente dependientes del perispermo (Archibald, 1939). Flores y Engleman (1976) reportan un perispermo formado por grandes células nucelares llenas de almidón, situadas en la región calazal, que en Pereskioideae y Opuntioideae es mucho más abundante con relación a Cactoideae. En la especie en estudio el perispermo sólo se sitúa hacia la cálaza, en la parte cóncava de la semilla madura, adquiriendo la forma de una cuña.

La hipostasa es un grupo de células con contenido citoplásmico escaso, presentes entre el saco embrionario y el haz vascular del funículo, las cuales engruesan sus paredes por lignificación, pueden contener depósitos de taninos (Johri, 1984). Van Tieghem (1901) acuñó el término y sugirió la función de delimitar el crecimiento del saco embrionario. De acuerdo con Johansen (1928 en Bhojwani y Bhatnagar, 1981) la hipostasa estabiliza el balance hídrico de las semillas que se encuentran en largas temporadas de latencia durante estaciones calientes y secas. En *O. tomentosa*, después de la fecundación, se depositan taninos en la cálaza, creando una barrera probablemente contra la desecación de la semilla, pero esta ha sido poco estudiada dentro de la familia Cactaceae.

Poliembrionía

En muchas especies de la familia Cactaceae las semillas forman múltiples embriones a partir de la nucela, estos se desarrollan poco después que el embrión cigótico. De acuerdo a Maheshwari y Sachar (1963) la formación de varios embriones adventicios dentro de un saco

embrionario corresponde al tipo de poliembrionía verdadera, tal y como sucede en *O. tomentosa*.

La poliembrionía es un fenómeno común dentro del género *Opuntia* (Ganong, 1898; Schnarf, 1931; Maheshwari y Chopra, 1955; Naumova, 1978). También ha sido documentada en especies de los géneros *Mammillaria* (Tiagi, 1956 en Maheshwari y Sachar, 1963) y *Pereskia* (Tiagi, 1967). En *O. tomentosa* encontramos una gran cantidad de semillas con embriones adventicios originados de la nucela.

Maheshwari (1950), Bhatnagar y Johri (1972) consideran que la ausencia de suspensor, la forma irregular y la posición lateral son características que distinguen a los embriones adventicios del cigótico. Sin embargo, Tiagi (1956 en Maheshwari y Sachar, 1963) reportó la presencia de suspensor en embriones adventicios en *M. tenuis*. Un caso similar fue reportado en *O. dillenii* (Maheshwari y Chopra, 1955), de igual manera sucede en *O. tomentosa* donde todos los embriones adventicios poseen suspensor, sumado a ello, pueden adquirir formas bien definidas desde embrión globular, corazón y torpedo. Siendo los más abundantes en etapa globular, incluso en la semilla madura.

En algunos taxa la poliembrionía de tipo cigótica puede estar mezclada con embrionía sinérgida y adventicia como en *Strebulus taxoides*, lo cual hace difícil la identificación del origen de los embriones (Narayanan, 1968 en Czapiak e Izmailow, 2001). La mayor parte de la poliembrionía encontrada en *O. tomentosa* es de origen nucelar, aunque algunas veces se encuentra mezclada con embriones adicionales que se originan a partir del suspensor del embrión cigótico.

Maheshwari y Chopra (1955) reportaron embriones adventicios en *O. dillenii* y la presencia de endospermo pero no observaron fecundación. De acuerdo a Esen y Soost (1977 en Raghavan, 1986), la polinización y la fecundación no son esenciales para la iniciación de embriones nucleares en óvulos de ciertos cultivos de *Citrus sinensis* y *Citrus reticulata*, pero su

subsecuente desarrollo es claramente dependiente de la doble fecundación y formación del endospermo. La embriogénesis nucelar se presenta simultáneamente con embriogénesis cigótica en estas especies. La célula embriogénica de la nucela es fácilmente distinguible de las otras células de la nucela por su gran tamaño y denso citoplasma. En una semilla madura de estas especies es usual encontrar varios embriones adventicios compitiendo unos con otros, así como con el embrión cigótico, por los recursos limitados de la semilla para completar su desarrollo.

Aunque los embriones nucleares inician su desarrollo en algunas plantas sin el estímulo de la polinización o fecundación su crecimiento es dependiente de la formación de endospermo (Hakansson, 1953). Por otro lado, Bhatnagar y Johri (1972) sugieren que la formación de endospermo es normal en plantas con embriones adventicios. Maheshwari y Chopra (1955) reportan en *O. dillenii* la formación de endospermo de tipo nuclear por estimulación del tubo polínico. En *O. tomentosa*, se sugiere la formación de endospermo como producto de la triple fusión, pues aunque ésta no fue observada, consideramos que desde el punto de vista estructural, no existe ningún impedimento para se lleve a cabo, puesto que los sacos embrionarios de las flores en antesis presentan una célula central con dos núcleos polares y además se observaron tubos polínicos en el micrópilo.

En *O. elata* (Naumova, 1978) a pesar de la existencia de tubos polínicos en las cercanías al micrópilo nunca se observó fecundación. De las siete células del saco embrionario sólo se mantiene una, la central; las antípodas y el aparato del huevo degeneran. De acuerdo con el autor, la reproducción por semilla de esta especie se produce por formación de ésta con embriones nucleares y endospermo apomictico. Casos adicionales de poliembriónia han sido reportados en *O. tortispina* y *O. rafinesquii* (Schnarf, 1931).

Cereus jamacaru (Kapil y Prakash, 1969) presenta poliembrionía del suspensor masivo pero estos no persisten en la madurez. De igual manera, *O. tomentosa* presenta embriones desarrollados del suspensor del embrión cigótico, aunados a los embriones de tipo nuclear. Sin embargo, ambos tipos de embriones se mantienen en la madurez e incluso si la semilla germina se origina más de una plántula de *O. tomentosa*.

Ganong (1898), Maheshwari y Chopra (1955) reportaron tricotiledonía en *O. vulgaris* y *O. dillenii* debido a que varios embriones nucleares se desarrollan juntos, se puede originar la fusión de éstos, pero, generalmente sólo uno de ellos llega a estado maduro. En *O. tomentosa* se observó tetracotiledonía, por unión del embrión cigótico y un adventicio. Ganong (1898) realizó pruebas de germinación donde encontró un alto porcentaje de embriones fusionados; el número de plántulas que emergían de una semilla podían ser de una, dos o tres. En *O. tomentosa* la germinación es asincrónica, sin embargo, se observó que de una semilla se podía originar una plántula o algunas veces dos, en este último caso podían estar fusionadas en tallo o raíz o permanecer separadas. En las figuras sobre poliembrionía de *O. vulgaris* (Ganong, 1898) se observan estos dos casos, sin embargo, el autor no los describe con detalle en el texto. Olivera (com. pers.), realizó pruebas de germinación con *O. tomentosa* y observó una proporción alta de plántulas con cuatro cotiledones.

Cubierta funicular

De acuerdo con Kapil y Vasil (1963) el funículo generalmente es una estructura corta de células parenquimatosas atravesadas por un haz vascular el cual se extiende desde la placenta hasta la cálaza. Sin embargo, en las especies de la subfamilia Opuntioideae el funículo rodea al óvulo y da la apariencia de un tercer tegumento (Archibald, 1939;

Maheshwari, 1955). No obstante, las descripciones del desarrollo de la cubierta funicular son escasas e incompletas. Flores y Engleman (1976) estudiaron la morfología de las semillas en cuatro especies de la subfamilia Opuntioideae (*Pereskopsis velutina*, *Nopalea auberi*, *O. ficus-indica* y *O. imbricata*), las cuales poseen funículos muy desarrollados que además de circundar envuelven el rudimento seminal desde etapas muy tempranas. Según estos autores, el crecimiento lateral del funículo proyecta una estructura aliforme en ambos lados del rudimento; al girar el óvulo sobre sí y extenderse los márgenes funiculares, tiene lugar la cohesión entre partes opuestas del funículo.

El arilo se origina del funículo y rodea al óvulo más o menos después de la fecundación (Bhojwani y Bhatnagar, 1981). Leuenberger (1984) menciona que la cubierta de la semilla (testa) de los cactus está formada por el tegumento externo del óvulo, misma que en Opuntioideae se encuentra cubierta por un arilo, el cual forma una dura capa alrededor de la semilla. Flores y Engleman (1976) mencionan que la cubierta funicular de la subfamilia Opuntioideae, es mal llamada arilo o tercer tegumento por: Archibald (1939), Buxbaum (1953), Maheshwari y Chopra (1955) y Bregman y Bouman (1983), debido a que es una cubierta de desarrollo diferente al arilo dado que no se origina del crecimiento secundario del funículo.

En el presente trabajo se ha descrito claramente la formación temprana de la cubierta funicular de *O. tomentosa*, donde el funículo es el que envuelve en su totalidad al óvulo y no es una prolongación posterior del mismo. Por lo tanto, no es ni arilo ni un tercer tegumento, sino el funículo mismo crece rápidamente y desde etapas tempranas del desarrollo, envuelve al óvulo completamente formando la cubierta funicular. El término de cubierta funicular o envoltura funicular fue acuñado por Flores y Engleman (1976), no obstante, en su estudio se detalla poco el desarrollo de esta estructura, enfocándose al estudio de la variación anatómica y morfológica de óvulos y semillas maduros.

Por otra parte, Flores y Engleman (1976) mencionan la formación de una estructura aliforme para algunas especies de la subfamilia Opuntioideae. En *O. tomentosa* los márgenes del funículo al girar sobre el óvulo se unen lateralmente desde la etapa de célula madre de las megasporas sin formar una estructura alada.

D'Hubert (1896 en Huber, 1929) reportó diferente intensidad del enrollamiento del funículo sobre el óvulo de algunas especies del género *Opuntia*, el cual para *O. tomentosa* es de una vuelta. Sin embargo, si se sigue el desarrollo del óvulo en etapas tempranas se notará que el giro es de una vuelta y media para esta especie, por lo que el micrópilo queda orientado hacia la placenta.

Flores y Engleman (1976) describen los óvulos de las especies de Opuntioideae con numerosas papilas ventrales y dorsales. La envoltura funicular es pluriestratificada. Las células de la envoltura funicular presentan tres posiciones básicas respecto al plano de corte (medio longitudinal): perpendicular, inclinada y paralela al mismo. Las células contiguas al haz vascular se orientan en la misma dirección que éste. Esta misma disposición de células ocurre en *O. tomentosa*.

En *O. dillenii*, (Maheshwari y Chopra, 1955), *P. velutina*, *N. auberi*, *O. ficus-indica* y *O. imbricata* (Flores y Engleman, 1976) las células de la cubierta funicular se esclerotizan. El endurecimiento de los tejidos se efectúa de la parte ventral del funículo hacia el exterior sin alcanzar al haz vascular formando una masa de fibras entrecruzadas, muchas de las cuales contienen cristales. Las capas celulares que se encuentran por encima del haz vascular, permanecen parenquimatosas (Flores y Engleman, 1976). En *O. tomentosa* los estratos de esclereidas son numerosos, algunas células poseen drusas, las capas celulares externas permanecen sin esclerotizarse. De acuerdo con Maheshwari y Chopra (1955) y Flores y Engleman (1976) estas células están involucradas en la formación de la pulpa del fruto. Se coincide con Flores y Engleman (1976)

en que la cubierta funicular parece representar una adaptación ecológica, ya que su estructura sugiere la función de protección contra la abrasión del suelo y la desecación.

Las semillas germinadas *in vitro* de *Opuntia tomentosa* poseen apertura inoperculada, de acuerdo con la clasificación de Bregman y Bouman (1983), no obstante, la descripción de la cubierta funicular, tomada como arilo por estos autores, es incorrecta, además estos autores consideran que en la subfamilia Opuntioideae la cubierta funicular cubre totalmente a la semilla dejando al micrópilo descubierto. En *O. tomentosa* la cubierta funicular envuelve completamente a la semilla incluyendo el micrópilo.

En *O. tomentosa* la cubierta funicular y seminal comparten el mismo punto débil localizado en la parte dorsal y lateral cercana al micrópilo. Por su parte, Bregman y Bouman (1983), indican que la subfamilia Opuntioideae carece de aberturas dorsales debido al arilo. La germinación de las semillas de *Opuntia tomentosa* fue a diferente tiempo, incluso con diferencia de meses.

CONCLUSIONES

1. El desarrollo de la pared de la antera es de tipo monocotiledóneo. La capa media es efímera. El tapete es secretor. El endotecio es fibroso. La epidermis de la antera es persistente y papilosa.
2. Las tétradas de microsporas son tetraédricas.
3. Los granos de polen son esferoidales, semitectados, reticulados y poliporados.
4. Los óvulos son crasinucelados, campilótrofos, bitégmicos y endóstomos.
5. El funículo forma una cubierta que circunda y envuelve al óvulo desde la etapa de células madres de las megasporas.
6. Los óvulos maduros presentan tricomas que se distribuyen a lo largo de la parte ventral del funículo, desde la placenta hasta llegar al micrópilo.
7. El saco embrionario de los óvulos maduros está formado por ovocélula, dos sinérgidas y una célula central con dos núcleos polares. Las antípodas son efímeras. Las sinérgidas degeneran después de la antesis.
8. Las siguientes características demuestran la existencia de reproducción sexual en *O. tomentosa*:
 - La presencia de ovocélula durante la antesis.
 - La penetración de tubos polínicos en el micrópilo.
 - La formación de un cigoto y su posterior desarrollo a través de las etapas de proembrión columnar, embrión globular, corazón, torpedo y cotiledonaria, hasta alcanzar la madurez.
9. Los embriones adventicios pueden originarse por la proliferación de las células del suspensor o de la nucela.
10. Los embriones de origen nucelar presentan suspensor y su desarrollo incluye las etapas globular, corazón y torpedo. La mayoría no llega a la madurez.

11. Los embriones policotiledonarios son producto de la fusión del embrión cigótico con uno adventicio.
12. El embrión cigótico completa su desarrollo antes que los embriones adventicios.
13. El desarrollo del endospermo es de tipo nuclear.
14. En la semilla madura, el endospermo y el perispermo están sumamente reducidos. Las reservas alimenticias se encuentran en los embriones.
15. La exotesta y el endotegmen presentan taninos. La principal capa mecánica de la semilla es la exotesta.
16. Las células de la cubierta funicular se orientan en tres direcciones de forma intercalar. La mayoría de las células se esclerotizan y algunas presentan drusas en el lumen. Los estratos celulares más cercanos a la superficie no se lignifican. La epidermis presenta tricomas que se extienden al contacto con el agua.
17. La germinación de las semillas es de tipo inoperculada. Es posible la germinación de dos plántulas de la misma semilla, libres o fusionadas.

LITERATURA CITADA

- Aguilar, M., Coutiño B. y P. Salinas. 1996. *Manual general de Técnicas Histológicas y Citoquímicas*. Las prensas de Ciencias. UNAM. México.
- Anderson, E. 2001. *The Cactus Family*. Timber Press. Portland, Oregon.
- Archibald, E. 1939. The development of the ovule and seed of jointed cactus (*Opuntia aurantiaca* Lindley). *S. African J. Sci.* 36: 195-211.
- Arias, S. 1993. Cactáceas: Conservación y Diversidad en México. Vol. Esp. (XLIV) *Rev. Soc. Mex. Hist. Nat.* 109-115.
- Arias, S., Gama, S. y U. Guzmán. 1997. *Flora del Valle de Tehuacán-Cuicatlán*. Fascículo 14. Cactaceae A. L. Juss. Instituto de Biología. Universidad Nacional Autónoma de México. D. F.
- Arias, S. Guzmán, U. y P. Dávila. (inédito). *Catálogo de Cactáceas Mexicanas*.
- Arreola, H. 1997. *Formas de vida y características morfológicas*. En Valles, S. *Suculentas Mexicanas: Cactáceas*. CONABIO, SEMARNAP, UNAM, Centro Universitario de Comunicación de la Ciencia y CVS. México.
- Backeberg, C. 1958-1962. *Die Cactaceae*. Gustav Fischer-Verlag, Jena.
- Barthlott, W. 1987. Classifications of the Cactaceae. *Beitr. Biol. Pflanz.* 63: 17-40.

- Barthlott, W. y D. Hunt. 1993. *Cactaceae*. En Kubitzki, K., Rohwer, J. G. y V. Bittrich (ed). *The families and genera of vascular plants*. Vol. II. Flowering Plants, Dicotyledons. Springer-Verlag, Berlin.
- Benson, L. 1982. *The Cacti of the United States and Canada*. Stanford University Press, USA.
- Bhatnagar, P. y B. Johri. 1972. *Development of Angiosperm Seeds*. En Kozlowski, T. (ed.) *Seed Biology*. Vol. I. Academic Press. New York.
- Bhojwani, S. y P. Bhatnagar. 1981. *The Embryology of Angiosperms*. Vikas Publishing House PVT LTD, Delhi. pp. 52-54, 199.
- Bravo-Hollis, H. 1978. *Las Cactáceas de México*. Vol. I. UNAM, México.
- Bravo-Hollis, H. y L. Scheinvar. 1995. *El Interesante Mundo de las Cactáceas*. Fondo de Cultura Económica. México.
- Bregman, R. y F. Bouman. 1983. Seed germination in Cactaceae. *Botanical Journal of the Linnean Society*, 86:357-374.
- Britton, L. y N. Rose. 1919. *The Cactaceae*. 2nd ed. Vol I. Dover Publ. Inc. New York. pp. 172-174.
- Buxbaum, F. 1953. *Morphology of Cacti*. Section II. The flower. Pasadena, Abbey Garden Press. California.
- Buxbaum, F. 1955. *Morphology of Cacti*. Section III. *Fruits and Seed*. Abbey Garden Press. Pasadena.

- Carrillo-Trueba, C. 1995. *El Pedregal de San Ángel*. Universidad Nacional Autónoma de México. D. F.
- Castillo, R., Engleman, M., Brechú, A. y J. Márquez-Guzmán. 2000. *Embriología*. En Ortiz, H. *Hacia el Conocimiento y Conservación de la pitahaya (Hylocereus spp.)*. IPN, CONACYT, Sibej, FMCN, México.
- Chopra, N. 1957. The Mode of Embryo Sac Development in *Opuntia aurantiaca* lindl. A reinvestigation. *Phytomorphology*. 7: 403-406.
- Clark, G. (Ed.) 1981. *Staining Procedures*. Williams and Wilkins. Baltimore. P. 323.
- Cota, H. y R. Wallace. 1996. La Citología y la Sistemática Molecular en la Familia Cactaceae. *Cact. Suc. Mex.* XLI: 27-42.
- Curtis P. 1986. *Microtecnia Vegetal*. Ed. Trillas. México.
- Czapik, R. y R. Izmailow. 2001. *Zigotic embryogenesis. Structural Aspects*. En Bhojwani, S. y Y. Soh (eds), *Current Trends in the Embryology of Angiosperms*, Kluwer Academic Publishers. Dordrecht.
- Davis, L. 1966. *Systematic Embryology of the angiosperms*. John Wiley and Sons, Inc. New York.
- Engleman, M. 1960. Ovule and Seed Development in Certain Cacti. *Amer. Jour. Bot.* 47 (6): 460-467.
- Ettelt, J. 1999. Opuntien – Geschichte, Nutzung und Verbreitung. *Kakteen und andere sukkulenten*, 50 (12): 322-325.

- Friedrich, H. 1976. Der Name *Opuntia*. *Kakt. Sukk.* 10:218-219.
- Flores, M. 1976. Apuntes sobre anatomía y morfología de las semillas de cactáceas. II. Caracteres de valor taxonómico. *Rev. Biol. Trop.* 24 (2): 299-321.
- Flores, M. y M. Engleman. 1976. Apuntes sobre anatomía y morfología de las semillas de cactáceas. I. Desarrollo y estructura. *Rev. Biol. Trop.*, 24 (2) : 199-227.
- Ganong, W. F. 1898. Upon polyembryony and its morphology in *Opuntia vulgaris*. *Bot. Gaz.* 25:221-228.
- Gibson, C. y S. Nobel. 1986. *The Cactus Primer*. Harvard University Press, Cambridge, New York.
- Granados, S. y P. Castañeda. 1991. *El Nopal. Historia, fisiología, genética e importancia frutícola*. Trillas. México.
- Guignard, L. 1886. Observations sur les ovules et la fécondation des Cactées. *Bull. Soc. Bot. France* 33:276-280.
- Hakansson, A. 1953. Die Samenbildung bei *Nothoscordum fragrans*. *Bot. Not. (Lund)* : 129-139.
- Huber, A. 1929. Blüten und Samenentwicklung der Kakteen und ihre Bedeutung für deren systematische Stellung. *Mshr. Dtsch. KaktGes.* 1: 175-190.
- Hunt, D. (Comp.). 1999. *CITES Cactaceae Checklist*. Ed. II. Remous Limited, Milborne Port, Royal Botanic Gardens Kew and International Organization for Succulent Plant Study. London. p. 244

- Jiménez, K. 2002. *Embriología de Pereskia lychnidiflora (De Candolle, 1828) Cactaceae*. Tesis de licenciatura. Facultad de Ciencias. Universidad Nacional Autónoma de México.
- Johansen, A. 1950. *Plant Embryology. Embryogeny of the Spermatophyta*. Chronica Botanica Co. Waltham, Mass.
- Johri, M. 1984. *Embryology of Angiosperms*. Springer-Verlag, Berlin
- Johri, M., Ambegaokar, B. y S. Srivasta. 1992. *Comparative Embryology of Angiosperms*. Springer-Verlag, Berlin.
- Kapil, N. y N. Prakash. 1969. Embryology of *Cereus jamacaru* and *Ferocactus wislizeni* and Comments on the Systematic Position of the Cactaceae. *Bot. Not.* vol. 122: 409-426.
- Kapil, R. y Vasil. 1963. *Ovule*. En Maheshwari P. *Recent advances in the embryology of angiosperms*. International Society of Plant Morphologists, University of Delhi. Catholic Press, Ranchi.
- Kozłowski, T. y C. Gun. 1972. *Importance and Characteristics of Seeds*. En Kozłowski, T. (ed.) *Seed Biology*. Vol. I. Academic Press, New York.
- Leins, P. y S. Schwitalla. 1988. *Placentation in Cactaceae*. En Leins, P., C. Tucker y K. Endress. *Aspects of Floral Development*, 57-68. Berlin, Stuttgart.
- Leuenberger, E. 1984. Testa Surface Characters of Cactaceae. Preliminary results of Scanning electron Microscope study. *Cactus and Succulent Journal (U. S.)*, Vol. XLVI : 175-180.

- Leuenberger, E. 1976. Die Pollenmorphologie der Cactaceae und ihre bedeutung für die systematic. *Dissertationes Botanicae*. 31: 1-321.
- López, L., Márquez-Guzmán, J. y G. Murguía. 1998. *Técnicas para el estudio del desarrollo en Angiospermas*. Facultad de Ciencias, UNAM, México.
- Maheshwari, P. 1950. *An Intriduction to the Embryology of Angiosperms*. New York and London
- Maheshwari, P. y N. Chopra. 1955. The Structure and Development of the Ovule and Seed of *Opuntia dillenii* Haw. *Phytomorphology*, 5: 112-122.
- Maheshwari, P. y C. Sachar. 1963. *Polyembryony*. En Maheshwari P. *Recent advances in the embryology of angiosperms*. International Society of Plant Morphologists, University of Delhi. Catholic Press, Ranchi.
- Miller, P. 1754. *The gerdeners dictionary*. Abridged. Londres.
- Naumova, N. 1978. Developmental characteristics of nucellar tissue and nucelar polyembryony in *Opuntia elata* (Cactaceae). *Bot. Z. H. (Leningr.)* 63:344-355.
- Naumova, N. y S. Yakovlev. 1978. Sex reproduction in *Opuntia ficus-indica* (Cactaceae). *Bot. Z. H. (Leningr.)* 63:548-556.
- Neumann, M. 1935. Die Entwicklung des Pollens, der Samenanlage und des Embryosackes von *Pereskia amapola* var. *argentina*. *Ost. Bot. Z.* 84: 1-30.

Norma Oficial Mexicana (NOM-005-RECNAT-1997). Diario Oficial de la Federación del 20 de mayo de 1997. Tomo CCLXXIV. No. 5. pp. 15.

Núñez-Mariel, C., Engleman, M. Y Márquez-Guzmán J. 2001. Embriología de *Pachycereus militaris* (Audot) Hunt (Cactaceae). *Bol. Soc. Bot. México*, 68: 5-13.

Philbrick, N. 1963. Zygotic and Agamospermous reproduction in *Opuntia littoralis*. *Amer. Jour. Bot. Abstr.* 50:637

Piña, I. 1977. *La grana o cochinilla del nopal*. Monografía num. 1 de los labs. Nales. de la subsecretaría de Fomento Industrial, México.

Raghavan, V. 1986. *Embryogenesis in Angiosperms. A Development and Experimental Study*. Cambridge University Press. New York.

Rojas-Aréchiga M. y C. Vázquez-Yáñez. 2000. Cactus seed germination: a review. *Journal of Arid Environments*, 44: 85-104.

Rutishauser, A. 1969. *Embryologie und Fortpflanzungsbiologie der Angiospermen*. Springer-Verlag. Wien, Austria.

Rzedowski, J. 1954. Vegetación del Pedregal de San Ángel. *Anales de la Esc. Nac. de Ciencias biológicas*, 13: 59-122.

Rzedowski, J. 1985. *Flora Fanerogámica del Valle de México*. Esc. Nac. de Ciencias biológicas. Vol. III. D. F., México.

Schnarf, K. 1931. *Vergleichende Embryologie der Angiospermen*. Gebrüder Borntraeger. Berlin.

Schumann, K. 1898-1899. *Gesamtbeschreibung der Kakteen*. Neudamm.

- Schumann, K. 1903. *Gesamtbeschreibung der Kakteen*. II. Aufl. Nachtrag. Neudamm.
- Stuppy, W. y H. Huber. 1991. Samenmerkmale und Gattungsgliederung der Opuntioideae. *Kakteen und andere Sukkulente*, 42 (6).
- Tiagi, Y. 1954. Studies in the Floral Morphology of *Opuntia dillenii* Haworth. *Bot. Not.* 23: 443-556.
- Tiagi, Y. 1967. Contribution to the embryology of genus *Pereskia*. Proc. 54th Indian. Sci. Congr. (Hyderabad) *Pr III Abstr.* 324-325. .
- Tiagi, Y. 1970. Cactaceae. *En Symposium on comparative embryology of Angiospermas*. Indian Nat. Sci. Acad. New Delhi. pp. 29-35.
- Van Tieghem. 1901. L' Hypostase, sa structure et son rôle constants, sa position et sa forme variables. *Bul. Mus. Hist. Nat.* 7:412-418.
- Vaupel, F. 1923. Die Unterfamilien der Cactaceae in neuer Gliederung. *Monatsschr. F. Kakt.* 32:98-99
- Wallace, R. y H. Cota. 1996. An intron loss in the Chloroplast gene *rpoC1* supports a monophyletic origin for the subfamily Cactoideae of the Cactaceae. *Curr. Genet.* 29:275-281.
- Waterman, G. y S. Mole. 1994. *Analysis of phenolic plant metabolites*. Blackwell Scientific Publication, Oxford, 95-100.

APÉNDICE

El origen del término *Opuntia*

El origen del término *Opuntia* es impreciso, se piensa que se remonta a Theophrastos (370 - 287 a. C.), o que proviene de Opunte u Opuncia, población de la antigua Grecia en la región de Leócrida, en donde crecían plantas semejantes a los cactus (Friedrich, 1976). Pero según Backeberg (1958-1962) también Plinius podría ser el creador, el cual llamó Opuncia a una planta que crecía cerca de Opuns, India y que en 1565 Mathiolus aplicó este término a los nopales. Por su parte, Linneo concentra en su sistema binario todas las plantas que fueron conocidas en su tiempo y así la primera especie del género *Opuntia* conocida se llamó *Cactus opuntia*.

Friedrich (1976) escribió acerca de la historia y desarrollo del término *Opuntia*: "los indígenas de las islas Westindiesch llamaron a los frutos de cactus Ceroideae pitahayas y a los de *Opuntia* tuna. El primer gobernador de Santo Domingo, Oviedo describió el cirio con frutos rojos (pitahaya) y un cardo (tuna) con higos sabrosos. Esa primera generación de exploradores y conquistadores utilizó como expresión general para cactus la palabra Distel (en español Cardón), así el nombre común para todas las cerioideae fue la palabra Cirio o Cereus, y el nombre para todas las opuntias —la planta y el fruto— fue tuna o higo".

Es una consecuencia de la historia del descubrimiento, que los españoles conocieron primero el término *tuna* del Caribe, y no el mexicano *nochtli* o el brasileño *jamacará*. Sólo por esa causa el nombre de tuna se impuso en toda Latinoamérica y los otros nombres se olvidaron (Friedrich, 1976).

En Europa, al contrario, donde la *Opuntia ficus-indica* fue importada, plantada y propagada desde el siglo XVI, fue tan evidente la comparación de los frutos de la tuna con los ya conocidos higos que el nombre de "higos indígenas" comenzó a ser popular en otros idiomas. Además entre los

eruditos la palabra del latín "ficus indica" fue la expresión más utilizada (Friedrich, 1976) . Es curioso que el primer nombre de una *opuntia* fue "ficus indica". Dicho nombre fue rechazado por Linneo ya que una relación con el higo no fue apropiada (Ettelt, 1999).

La importancia que el género *Opuntia* tiene para México se ve reflejada en uno de los símbolos patrios, ya que el escudo de la capital mexicana posee un aguila luchando con una serpiente posadas sobre una opuntia. El escudo recuerda una antigua leyenda azteca (Ettelt, 1999).



Escudo de la capital Mexicana. Tomado de Bravo-Hollis, 1978.