



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA
DE MÉXICO

FACULTAD DE CIENCIAS

Embriología de *Opuntia robusta* Wendland

(Cactaceae)

T E S I S
QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

B I Ó L O G O

P R E S E N T A :

JESÚS ARMANDO SILVA MARTÍNEZ



FACULTAD DE CIENCIAS
UNAM

DIRECTORA DE TESIS:

DRA. SONIA VÁZQUEZ SANTANA

2007



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.

FACULTAD DE CIENCIAS

División de Estudios Profesionales



UNIVERSIDAD NACIONAL
AUTÓNOMA DE
MÉXICO

ACT. MAURICIO AGUILAR GONZÁLEZ
Jefe de la División de Estudios Profesionales
Facultad de Ciencias
P r e s e n t e .

Por este medio hacemos de su conocimiento que hemos revisado el trabajo escrito titulado:

"Embriología de Opuntia robusta Wendland (Cactaceae)"

realizado por **Silva Martínez Jesús Armando**, con número de cuenta **099301792** quien opta por titularse en la opción de **Tesis** en la licenciatura en **Biología**. Dicho trabajo cuenta con nuestro voto aprobatorio.

Propietario Dra. Margarita Collazo Ortega

Propietario Dra. Silvia Espinosa Matias

Tutor(a)
Propietario Dra. Sonia Vázquez Santana

Suplente M. en C. Rosenda Margarita Ponce Salazar

Suplente M. en C. Gregorio Orozco Arroyo

Atentamente
"POR MI RAZA HABLARÁ EL ESPÍRITU"
Ciudad Univeritaria, D. F., a 4 de julio del 2007
COORDINADOR DE LA UNIDAD DE ENSEÑANZA DE BIOLOGÍA

DR. ZENÓN CANO SANTANA



Señor sinodal: antes de firmar este documento, solicite al estudiante que le muestre la versión digital de su trabajo y verifique que la misma incluya todas las observaciones y correcciones que usted hizo sobre el mismo.

RECONOCIMIENTOS

Esta tesis se la dedico:

A mi hermano Roy por brindarme su paciencia, cariño y comprensión, por estar junto a mi en los momentos más felices y difíciles de mi vida, porque siempre ha confiado en mí y me ha apoyado en todas mis decisiones. Roy te quiero mucho y gracias por ser mi hermano y mi amigo, nunca lo olvides y no cambies.

A la familia Escamilla Campos que me ha apoyado e impulsado a terminar mi carrera. A la Sra. Rosi y al Sr. Juan les doy las gracias por enseñarme a querer a las personas por sus cualidades, por darme su confianza, por permitirme entrar a su hogar y conocerlos un poco más y por enseñarme que la familia es lo más importante que tenemos, por eso su familia es maravillosa. A Bere y Nany les quiero decir que son las mejores amigas que he tenido, que me han querido y apoyado como nadie, que me han entendido, me han dado consejos y que me han ayudado cuando más lo he necesitado. Principalmente le doy gracias a Ana Paola por haberme permitido conocer a su familia y por hacerme pasar momentos maravillosos que jamás voy a olvidar. Tú sabes muy bien lo que siento por ti y siempre tendrás un lugar en mi corazón.

A la mejor mamá, mujer y persona del mundo, a mi Gordita, a mi Cana. Te amo y te doy las gracias por enseñarme a vivir, por ser el mejor ejemplo de vida para mí, porque sin tus consejos, sabiduría y amor jamás hubiera llegado a esta instancia. Espero que siempre estés orgullosa de mí como yo siempre lo he estado de ti.

A Alex por volver a unir a mi familia y por permitirme entrar a la suya. Por dejarme conocer a mi abue Lety, a mis tías y principalmente a mis primos, a los cuáles quiero mucho.

A mi hermana Axel por sus consejos, a mi hermano Jesús por tenerme confianza, a mi hermano Manolo por escucharme y a mi hermanita Cosette por hacerme reír y decirme que me quiere.

A mis hermanos del CCH Sur: Isi, Héctor, Brochas, Pkas, Bety y Cotija con los que he compartido los mejores momentos de mi vida.

A mis amigas Isa, Pau, Yeye, Ixel, Aby, Wendy, Chela y Polo y a mis amigos Martín, César y Roberto por haber compartido esos días de fiesta en la Facultad, en las prácticas y en las canchas.

A Daniel, Ari, Gaby y Peter por ser mis amigos de laboratorio, resolver mis dudas, alentarme a continuar y terminar la tesis.

A mi asesora Soni por su paciencia, comprensión y confianza que me brindó, tanto en lo académico como en lo personal, durante el desarrollo de esta tesis.

Agradezco enormemente:

A Mague y Judith por ser mis maestras de Plantas.

A Margarita Ponce por ser mi maestra, enseñarme técnicas histológicas y revisar este trabajo.

A Silvia por su apoyo en el Microscopio Electrónico de Barrido, por sus consejos y revisión de este trabajo.

A Goyo por no negarse a ser mi sinodal, por ayudarme en la recolección de material y por revisar este trabajo.

A Soni por ser mi asesora y confiar que algún día terminaría este trabajo.

Al CCH Sur, la Facultad de Ciencias y la Universidad Nacional Autónoma de México.

Esta tesis se realizó bajo la dirección de la Dra. Sonia Vázquez Santana, en el Laboratorio del Desarrollo en Plantas de la Facultad de Ciencias, UNAM, dentro del taller titulado "Biología del desarrollo y función de las estructuras reproductoras en cactáceas"

A las profesoras del Taller "Biología del desarrollo y función de las estructuras reproductoras en cactáceas": Judith Márquez Guzmán, Margarita Collazo Ortega, Sonia Vázquez Santana, Karina Jiménez Durán, Patricia Olgún Santos y Ana Laura López Escamilla por sus comentarios y sugerencias durante el desarrollo de la investigación de tesis.

Al M. en C. Ricardo Wong por su asesoría técnica durante la realización de esta tesis en el Laboratorio de Desarrollo en Plantas de la Facultad de Ciencias, UNAM.

ÍNDICE

RESUMEN	1
INTRODUCCIÓN	3
ANTECEDENTES	5
La flor.....	5
Sistemas reproductivos en angiospermas	7
Dioicismo.....	10
Evolución del sistema reproductivo dioico.....	11
Evolución vía hermafroditismo.....	11
Evolución vía monoicismo.....	11
Evolución vía ginodioicismo.....	11
Evolución vía androdioicismo	12
Evolución vía heterostilia.....	12
Sistemas reproductivos en cactáceas.....	13
Subfamilia Pereskioideae	16
Subfamilia Cactoideae.....	16
Subfamilia Opuntioideae.....	19
Sistemas reproductivos del género <i>Opuntia</i>	22
Sistema reproductivo de <i>Opuntia robusta</i> Wendland.....	22
OBJETIVOS	24
MATERIALES Y METODOS	25
Área de estudio	25
Especie estudiada	26
Colecta, fijación y procesamiento del material biológico.....	28
RESULTADOS	30
Desarrollo floral.....	30
Flor masculina	31
Desarrollo de la antera.....	31
Desarrollo del gineceo.....	36
Flor femenina.....	39
Desarrollo del gineceo.....	39
Desarrollo de la antera	44
DISCUSION	46
Sistemas reproductivos en cactáceas y en <i>O. robusta</i>	47
Origen de la sexualidad en las cactáceas y en <i>O. robusta</i>	49
Determinación del sexo floral	50
Antera de la flor femenina.....	50
Óvulos de la flor masculina	52
CONCLUSIONES	54
LITERATURA CONSULTADA	55

RESUMEN

Opuntia robusta Wendland (Cactaceae) presenta flores unisexuales o bisexuales. Puede formar poblaciones hermafroditas, dioicas y trioicas. Además de *O. robusta*, actualmente se conocen otras veinticinco especies de cactáceas con un sistema reproductivo diferente al hermafrodita.

El propósito de estudiar a *O. robusta* es conocer detalladamente el desarrollo floral para ampliar el conocimiento que existe acerca de los sistemas reproductivos diferentes al hermafrodita. La población estudiada se ubica en las cercanías de Tequisquiapan, Querétaro, donde se recolectaron botones florales en diferentes etapas de desarrollo para describir su morfología y embriología mediante diversas técnicas histológicas y de observación microscópica.

La población estudiada se describió como dioica, ya que se encontraron dos morfos florales, uno masculino y otro femenino. La proporción sexual encontrada fue del 65% para plantas masculinas y el 35% para plantas femeninas. Ambos morfos florales son bisexuales al inicio de su desarrollo, aparentando hermafroditismo, sin embargo, en etapas posteriores hay divergencia en el desarrollo.

La flor masculina presenta más de 200 estambres insertos en espiral sobre las unidades del perianto. Los filamentos son largos y el nivel de los estambres alcanza la misma longitud que el estigma. El análisis embriológico muestra que la antera joven es bilobulada con drusas en el tejido conectivo. El tipo de desarrollo de la pared de la antera es monocotiledóneo, por lo tanto, la pared de la antera joven consiste de epidermis, endotecio, capa media y tapete binucleado de tipo secretor. La tétrada de microsporas que se forma después de la división meiótica es de tipo tetraédrica. En etapa madura la pared de la antera sólo presenta dos estratos, la epidermis y el endotecio, el cual tiene engrosamientos reticulados alrededor de sus paredes celulares. El tejido de los septos que separa a los microsporangios se degrada. Los granos de polen al momento de ser liberados son trinucleados, esféricos, poliporados con exina subtectada, reticulada heterobracada y con báculas libres en la lúmina. La dehiscencia de la antera ocurre de manera longitudinal. El estigma de las flores masculinas es recto con 3 a 5 lóbulos estigmáticos papilosos y cerrados. Generalmente el ovario es pequeño y sin óvulos, pero en algunos casos se encontraron primordios de éstos en la parte basal del ovario, pero no alcanzan la madurez.

La flor femenina presenta un estigma húmedo, muy desarrollado con 10 a 12 lóbulos estigmáticos papilosos y abiertos. El estilo es hueco al igual que en la flor masculina, pero es más corto y ancho en su base comparado con el de éste mismo.

La placentación es de tipo parietal. El desarrollo del saco embrionario es monospórico y *Polygonum*. El óvulo es campilótropo, bitégmico, endóstomo y crasinucelado. Entre los tegumentos se observa un espacio aéreo en la región más cercana a la cálaza. El largo funículo tiene tricomas en su parte más ventral y envuelve al óvulo.

En las etapas tempranas de desarrollo, las anteras de la flor femenina muestran cuatro capas uniestratificadas: epidermis, endotecio, capa media y tapete. Previo a la meiosis el tapete se vuelve vacuolado, duplica su tamaño y es uninucleado, sin embargo se constriñe después de la formación de las tétradas de microsporas, las cuales inmediatamente comienzan a colapsarse y a degradarse. En antesis, las anteras están vacías, su pared sólo conserva la epidermis y el endotecio, es tetrasporangiada e indehisciente, debido a que la región del estomio no alcanza a desarrollarse por completo. La parte apical del filamento del estambre se colapsa antes de la antesis. Los estambres son cortos con respecto a los de la flor masculina, ubicándose por abajo del nivel del estigma.

INTRODUCCIÓN

Los cactus (familia Cactaceae) son un grupo de plantas endémicas del continente Americano con una excepción, *Rhipsalis buccifera*, una epífita que habita en la isla de Madagascar (Benson, 1982; Arias, 1997; Anderson, 2001). La diversidad de formas de vida y número de especies ha permitido que se establezcan en diferentes ecosistemas del mundo, pero en particular, se encuentran distribuidas en zonas áridas y semiáridas (Hernández y Godínez, 1994; Arias, 1997). México es el centro de diversificación de cactáceas más importante y posiblemente, por sus condiciones de altitud, topografía y clima, es el que más especies alberga (Bravo-Hollis, 1978), con un alto índice de endemismos a nivel genérico (73%) y específico (78%) (Hernández y Godínez, 1994; Arias-Guzmán *et al.*, 2003).

La clasificación de la familia Cactaceae comprende cuatro subfamilias: Pereskioideae, Maihuenioideae, Opuntioideae y Cactoideae, esta última formada por nueve tribus, de acuerdo con el Grupo Internacional de Sistemática de Cactaceae (Anderson, 2001).

La subfamilia Opuntioideae, la cual es de mayor interés en este estudio, está integrada por plantas arborescentes, arbustivas y rastreras; con tallos claviformes, cilíndricos, casi globosos o en cladodios, más o menos ramificados; en etapas tempranas de desarrollo poseen hojas deciduas (Guzmán, 1997). Una de las características más sobresaliente de la subfamilia es la presencia de glóquidas, o grupo de espinas parecidas a cerdas cortas de 2 a 5 mm de largo (Arreola, 1997). Poseen flores laterales, sésiles, solitarias y diurnas; los pericarpelos tienen aréolas, glóquidas y espinas. Los frutos son bayas indehiscentes, algunos llegan a ser secos en la madurez. Con semillas ovaladas, de 3 a 12 mm de diámetro. Se distribuye en Norteamérica, el Caribe, Centroamérica y en algunas regiones de Sudamérica (Anderson, 2001). En México además de *Opuntia* se reconocen otros géneros como *Pereskiopsis*, y *Nopalea* (Guzmán, 1997).

El género *Opuntia* es nativo del Nuevo Mundo, se distribuye en todo el continente Americano; sin embargo, existen especies endémicas del hemisferio norte y otras del hemisferio sur. De manera artificial, el género *Opuntia* ha sido introducido a otras partes del mundo por el hombre, incluyendo Alaska, el Mediterráneo, África, Asia y Australia (Anderson, 2001). Este género, es uno de los más diversos y numerosos, contando con 181 a 200 especies y 10 híbridos naturales reconocidos (Miranda y Hernández, 1963; Guzmán, 1997; Anderson, 2001). El origen del nombre *Opuntia* aún

no se conoce con exactitud, probablemente esté basado en la región griega Locris Opuntia, cuya capital era Opus, donde crecían plantas espinosas parecidas a las especies de este género (Benson, 1982; Anderson, 2001).

Las especies del género *Opuntia* tienen troncos bien definidos o con ramas desde la base. Las ramas son rectas, extendidas o postradas. Los tallos son globosos, claviformes, cilíndricos o aplanados (cladodios), muy carnosos o leñosos. Las aréolas presentan espinas, pelos y glóquidas; y generalmente las situadas en la parte superior del artículo son las productoras de flores (Bravo-Hollis, 1978; Nobel, 2002).

La familia Cactaceae comprende en su mayoría especies que poseen flores hermafroditas, los estudios embriológicos realizados en esta familia han sido con flores de este tipo. Aunque no es común encontrar flores unisexuales en la familia Cactaceae, existen algunas especies con flores de este tipo en tres de las cuatro subfamilias: Pereskioideae, Cactoideae y Opuntioideae.

En cuanto a la subfamilia Opuntioideae, *Opuntia robusta* ha sido descrita con poblaciones hermafroditas, dioicas y trioicas; de esta especie se pueden distinguir tres morfos florales: hermafrodita, masculino y femenino. La flor hermafrodita tiene un estilo de tamaño intermedio entre la flor masculina y la flor femenina, las anteras contienen polen fértil en su interior, y el ovario muestra una gran cantidad de óvulos, hasta 388. La flor masculina es longistila, con estigma hipertrófico, las anteras contienen polen fértil en su interior, por el contrario el ovario es reducido y presenta de 0 a 40 óvulos en su parte basal. La flor femenina es brevistila y tiene lóbulos estigmáticos bien desarrollados, las anteras están atrofiadas y carecen de polen, mientras que el ovario contiene gran cantidad de óvulos, hasta 406 (Del Castillo, 1986 y Del Castillo y González, 1988).

Dentro de la familia Cactaceae se han reportado 25 especies con sistemas de cruzamiento diferentes al hermafrodita. Los estudios embriológicos que apoyan la presencia de flores funcionalmente unisexuales en la familia Cactaceae son pocos. Los de mayor información son los de *Opuntia stenopetala* (Orozco, 2002, 2005; Flores, 2005), *Consolea spinosissima* (Strittmatter *et al.*, 2002) y *Mammillaria dioica* (Sánchez, 2007), sin embargo, son aún insuficientes para conocer con detalle los procesos embriológicos de transición de la unisexualidad en la familia Cactaceae. El presente estudio describe detalladamente los cambios o alteraciones que ocurren a nivel embriológico durante el desarrollo de las flores unisexuales de *O. robusta*.

ANTECEDENTES

LA FLOR

La flor es el órgano de la planta que tiene como función esencial la reproducción sexual en las angiospermas. Una flor es una rama modificada de crecimiento determinado constituida por partes florales equivalentes a hojas que se encuentran arregladas en entrenudos cortos y distribuidos alrededor de anillos concéntricos denominados verticilos (Goethe, 1790: en Álvarez-Buylla, 2002; Flores-Vindas, 1999). Los verticilos están sobre un eje denominado receptáculo, el cual tiene como función primaria sostener las partes de la flor, así como suministrar agua y nutrientes a la flor por medio del tejido vascular (Mauseth, 1984, 2003).

Una flor típica consta de un pedicelo, el receptáculo floral, el cáliz (conjunto de sépalos), la corola (conjunto de pétalos), el androceo (conjunto de estambres) y el gineceo (conjunto de carpelos). El androceo y gineceo constituyen los órganos fértiles o reproductivos masculinos y femeninos respectivamente; el cáliz y la corola constituyen las estructuras vegetativas estériles, el perianto (Flores-Vindas, 1999).

La flor de las cactáceas se origina de las aréolas de los tallos y usualmente sólo se produce una flor por cada aréola (Ramírez y Berry, 1995), aunque puede producirse más de una para originar una verdadera inflorescencia, como en *Myrtillocactus geometrizans* en la que cada aréola desarrolla hasta diez flores; de igual forma algunas especies del género *Pereskia* producen hasta cuarenta flores por aréola. Las flores pueden surgir de las distintas aréolas del tallo, pero pocas cactáceas producen flores terminales en las aréolas del ápice del tallo, como ocurre en el género *Opuntia* en donde las flores surgen generalmente del ápice del cladodio (Arreola, 1997; Nobel, 2002).

Las flores de las cactáceas en general son sésiles, solitarias, bisexuales y con simetría radial (actinomorfas), sólo las especies epífitas presentan flores bilaterales (zigomorfas) (Anderson, 2001; Pimienta-Barrios y Del Castillo, 2002). La mayoría de las cactáceas llevan a cabo polinización cruzada, pero la autogamia o autopolinización puede ocurrir en algunos grupos (Anderson, 2001).

El gineceo de las cactáceas está conformado por la fusión de tres o más hojas especializadas llamadas carpelos (Benson, 1982). El ovario consta de una sola cámara (unilocular) y en cuyo interior se disponen los óvulos con placentación parietal

(Arreola, 1997). Sólo algunas especies de *Pereskia*, como *P. lychnidiflora*, tienen ovarios súperos (Leuenberger, 1986; Nobel, 2002), la mayoría de las flores de las cactáceas tienen una estructura semejante a las demás angiospermas inferováricas, pero con características anatómicas diferentes a las de una flor típica. Muestran adaptaciones a las condiciones xeromórficas y a diversas modalidades de la polinización zoófila (Bravo-Hollis, 1978).

El androceo de los cactus presenta numerosos estambres, hasta aproximadamente 600, los cuales surgen a lo largo del tubo floral. Los estambres constan de un filamento y una antera bilobulada y tetrasporangiada. El polen es comúnmente pequeño, esférico y tricolpado, típico de las dicotiledóneas (Benson, 1982; Aguirre *et al.*, 2004).

Los principales polinizadores de las opuntias son los himenópteros, seguido de los coleópteros, aves y lepidópteros (Aguirre *et al.*, 2004). Existen dos grupos de plantas polinizadas por coleópteros; en el primero de ellos las flores suelen ser grandes y aisladas, como en *O. robusta* (Del Castillo, 1986 y Del Castillo y González, 1988); otras pueden ser pequeñas y agregadas en una inflorescencia. Los coleópteros visitan principalmente las flores en forma de copa de *Echinocereus*, *Ferocactus*, *Echinocactus*, *Mammillaria* y *Opuntia* (Pimienta-Barrios y Del Castillo, 2002). Las flores polinizadas por coleópteros suelen ser blancas o de colores pálidos, pero de olores fuertes. Los coleópteros básicamente se alimentan del néctar, polen o pétalos. Debido a la poca adherencia del polen a su cuerpo y su larga permanencia en una misma flor, los coleópteros son considerados poco eficientes en la polinización. La mayoría de las especies polinizadas por coleópteros poseen flores inferóvaricas, para dejar fuera del alcance de las mandíbulas de los polinizadores a los óvulos (Raven, 1999; Pimienta-Barrios y Del Castillo, 2002).

En las opuntias las flores generalmente son de color amarillo, pero también pueden ser anaranjadas, rosas, púrpuras, rojas, blancas o moteadas. Los estambres son amarillos o verdes, con arreglo cíclico o espiralado alrededor del estilo (Aguirre *et al.*, 2004). Los granos de polen son esféricos, dodecalpados, cúbicos o dodecahédricos y miden de 65-130 μm de diámetro, punteados o reticulados y la exina tiene crestas a lo largo de la superficie (Benson, 1982; Aguirre *et al.*, 2004).

El estilo es simple y hueco, comúnmente amarillo o verde, sin embargo algunos son rosas, rojos o anaranjados. El ovario es unilocular y contiene numerosos óvulos (Aguirre *et al.*, 2004).

Como en la mayoría de las cactáceas, el óvulo de *Opuntia* es campilótropo y surge de la pared del ovario, es decir con placentación parietal. El funículo es largo y cada óvulo está constituido por una nucela, saco embrionario, dos tegumentos y micrópilo; además de la región calazal donde se unen los tegumentos (Tiagi, 1954; Aguirre *et al.*, 2004). Durante el desarrollo del óvulo el funículo de las opuntias se enrolla alrededor del óvulo. Debido a que el saco embrionario y la nucela son curvos los óvulos son de tipo campilótropo (Orozco, 2002; Aguirre *et al.*, 2004; Flores, 2005), aunque también hay especies con óvulos de tipo anátropo o circinótropo (Tiagi, 1954).

La célula madre de la megaspora se divide formando una tríada o una tétrada de megasporas de las cuales una es la funcional y origina un saco embrionario, que puede ser de tipo *Allium* (Flores, 2005) o *Polygonum* (Aguirre *et al.*, 2004), constituido por ocho núcleos.

SISTEMAS REPRODUCTIVOS EN ANGIOSPERMAS

Uno de los sucesos ecológicos y evolutivos más importantes de las angiospermas fue la eficiencia reproductiva que éstas tuvieron para su establecimiento en diferentes ambientes (Aguirre *et al.*, 2004). Aparentemente la mayor complejidad en la biología reproductiva de las plantas se debe a su falta de movilidad, lo que ha producido esta diversificación (Eguiarte *et al.*, 1999). Se ha considerado a los animales como el vector que mayor beneficio ha dado a las plantas para poder reproducirse, ya sea en la polinización, dispersión de semillas o liberación de semillas de los frutos (Valiente-Banuet, 1997; Aguirre *et al.*, 2004).

Los sistemas reproductivos de las angiospermas tienen una gran diversidad de expresiones (Bawa y Beach, 1981) e incluyen todos los aspectos de expresión del sexo en las plantas. Incluso algunas especies mezclan su sistema de cruce a la autogamia y xenogamia (Aguirre *et al.*, 2004). Por otro lado, la reproducción asexual en las angiospermas presenta una gran diversidad de expresiones y tampoco se excluye la reproducción sexual. La principal ventaja evolutiva de la reproducción asexual es el costo relativamente bajo por descendencia, dado que no existe una inversión en estructuras y procesos accesorios para la atracción de polinizadores. De

igual forma hay especies a las que les resulta fácil cambiar de asexual a sexual, según el estado fisiológico y ecológico de la planta (Eguiarte *et al.*, 1999).

La apomixis es un tipo de reproducción asexual en donde existe la producción de semillas sin fecundación, e incluso en algunos casos sin meiosis (Eguiarte *et al.*, 1999; Aguirre *et al.*, 2004). La apomixis se divide en aplosporia y en diplosporia de acuerdo a la célula del saco embrionario o nucela de la que surge el embrión. En la apomixis apospórica el embrión se desarrolla de las células somáticas del óvulo, mientras que en la apomixis diplospórica el embrión se desarrolla a partir de la célula madre de las megasporas que no completa la meiosis (Bhojwani y Soh, 2001). En las cactáceas se conoce que además del embrión cigótico, producto de la reproducción sexual, también pueden formarse embriones adventicios a partir de células nucelares. Sin embargo, no en todos los casos se conoce si éstos llegan a establecerse como plántulas una vez que han germinado las semillas. En *Opuntia tomentosa* se ha documentado que se desarrollan más de una plántula por cada semilla germinada (Flores, 2002).

La propagación vegetativa también es considerada como un tipo de reproducción asexual. En la propagación vegetativa una nueva planta se deriva a partir de las raíces, de fragmentos o rametos postrados en el sustrato provenientes de la planta madre, por lo cual la nueva planta es genéticamente idéntica a la planta madre. Ciertamente, la propagación por medio de partes vegetativas es común tanto en condiciones silvestres como en condiciones cultivadas (Raven, 1999; Pimienta-Barrios y Del Castillo, 2002; Mauseth, 2003).

Mientras que la autopolinización conduce a una reducida o nula variación genética, la polinización cruzada aumenta la recombinación genética, promueve heterocigosis y evita efectos deletéreos por depresión endogámica. Tal vez por esto, las flores hermafroditas han desarrollado estrategias y/o evolucionado a mecanismos que promueven la alogamia modificando su desarrollo floral para promover la polinización cruzada por medio de mecanismos como la esterilidad unisexual, sistemas de incompatibilidad, la heterostilia, la hercogamia y la dicogamia (Dellaporta y Calderón-Urrea, 1993; Sakai y Weller, 1999).

La separación de sexos en espacio y tiempo, así como la autoesterilidad de uno de los sexos, constituyen mecanismos frecuentes utilizados para favorecer la polinización cruzada (Eguiarte *et al.*, 1999). Las angiospermas poseen diversas estrategias de

segregación en la función sexual femenina y masculina, manteniendo y limitando los costos asociados con la autopolinización (Barret, 1998).

En muchas plantas existe un mecanismo bajo control genético que previene la fecundación con polen proveniente de la misma planta, denominado incompatibilidad. En esas especies el polen puede alcanzar el estigma de la misma flor pero la fecundación no ocurre (Eguiarte *et al.*, 1999; Pimienta-Barrios y Del Castillo, 2002).

La labilidad sexual es un término utilizado para definir a aquellas especies que tienen cambios en la asignación sexual de una temporada reproductiva a otra, e incluso dentro de la misma temporada (Del Castillo, 1986; López, 2004). La separación de los sexos en el tiempo (dicogamia) evita la polinización en flores hermafroditas; los estambres y estigmas maduran en tiempos diferentes, disminuyendo la posibilidad de autopolinización. Se reconocen dos tipos de dicogamia: a) protandria, cuando los estambres maduran primero y liberan el polen antes de que el estigma sea receptivo; y b) protoginia, cuando el estigma madura primero, es receptivo y funcional, antes de que se produzca la dehiscencia de la antera y la liberación del polen (Darwin, 1877; Dellaporta y Calderón-Urrea, 1993; Flores-Vindas, 1999; Pimienta-Barrios y Del Castillo, 2002).

Otra manera de promover el entrecruzamiento, es la producción de flores unisexuales en la misma planta (monoicismo) o en plantas separadas (dioicismo) (Ainsworth, 2000). Sin embargo, y a pesar de que el entrecruzamiento confiere ventajas selectivas en las angiospermas, la incidencia del dioicismo y monoicismo es baja entre las angiospermas (Dellaporta y Calderón-Urrea, 1993).

Mientras que en las especies dioicas la polinización cruzada es la única posibilidad para formar semillas (Sakai y Weller, 1999), en las especies monoicas la separación de sexos en diferentes flores promueve, pero no garantiza, la polinización cruzada. Existen numerosas especies en las que un porcentaje de las flores es autopolinizada y en el otro la polinización es cruzada (Flores-Vindas, 1999).

Otros estados sexuales de sistemas reproductivos encontrados en las angiospermas, los cuales pueden ser estados intermedios durante la evolución a la completa unisexualidad o bien ser formas estables, son: a) sistemas ginodioicos, cuando algunos individuos tienen flores bisexuales y otros tienen flores femeninas b) sistemas androdioicos, cuando algunos individuos tienen flores bisexuales y otros masculinas;

c) sistemas ginomonoicos, cuando un mismo individuo tiene flores bisexuales y femeninas; d) sistemas andromonoicos, cuando un mismo individuo tiene flores bisexuales y masculinas; e) polígamo o trimonoico, cuando hay individuos con flores bisexuales, masculinas y femeninas; y f) poligamodioico o trioico, cuando en la población hay individuos con flores masculinas, otros con flores femeninas, y otros con flores bisexuales. Mientras que los sistemas ginodioicos, ginomonoicos y trimonoicos son relativamente comunes, los androdioicos, andromonoicos y trioicos son raros (Darwin, 1877; Flores-Vindas, 1999; Sakai y Weller, 1999; Ainsworth, 2000).

DIOICISMO

Entre el 90% y el 94% de las angiospermas presentan flores hermafroditas (Renner y Ricklefs, 1995; Ainsworth, 2000;), mientras que el 10% y el 6% restante presentan un sistema reproductivo diferente al hermafrodita, en el que se encuentra incluido el sistema dioico (Bawa, 1980; Renner y Ricklefs, 1995).

La proporción de las especies dioicas es considerada como pequeña entre la flora mundial, debido al poco conocimiento que se tiene de sistemas diferentes al hermafrodita (Renner y Ricklefs, 1995). Las investigaciones acerca de las fuerzas selectivas que fundamentan la evolución del dioicismo son difíciles de desarrollar, ya que, conocer cuáles son las presiones de selección que generan la evolución de un sistema reproductivo es un verdadero reto.

La supuesta rareza de la condición dioica ha llevado a creer que no es un sistema de reproducción exitoso. Además, cuando se compara el dioicismo con la autoincompatibilidad es difícil entender cómo las especies dioicas pueden ser exitosas, en su reproducción, cuando la mitad de una población dioica pierde la capacidad de producir semillas. Desde este punto de vista el dioicismo resulta ser un pobre sustituto de la autoincompatibilidad. Sin embargo, se considera que la principal fuerza selectiva responsable para la evolución del dioicismo es la reproducción cruzada forzosa (Darwin, 1877; Bawa, 1980; Ainsworth, 2000).

Aunque el dioicismo es considerado raro, no lo es así en plantas polinizadas por viento y por insectos pequeños y generalistas, ni en plantas dispersadas por vertebrados. Asimismo, el dioicismo es más común en especies perennes, es decir, en formas arbóreas y arbustivas que en herbáceas, en islas y en floras tropicales (Bawa, 1980).

EVOLUCIÓN DEL SISTEMA REPRODUCTOR DIOICO

Para conocer los procesos evolutivos que dieron origen al sistema reproductivo dioico es necesario saber cuales son las fuerzas selectivas que conducen a la unisexualidad y la ruta natural de la evolución.

Evolución vía hermafroditismo

El primer modelo genético propone dos mutaciones independientes, una que promueve la esterilidad masculina y la otra que promueve la esterilidad femenina. El estrecho vínculo de los genes podría impedir recombinación y consecuente formación de hermafroditas y neutros en la progenie. Debido a que las hermafroditas tienen menor adecuación que los unisexuales, este modelo asume depresión endogámica en los ancestros de las plantas dioicas (Lewis, 1942; en Bawa, 1980).

Otro modelo propone la evolución del dioicismo a partir de hermafroditas con esterilidad parcial de genes masculinos y otro con esterilidad parcial femenina. Ambas mutaciones parciales asumen mayor presencia de óvulos y polen fértil, respectivamente, comparado con los individuos hermafroditas, sugiriendo que su evolución y permanencia se debe a la "compensación", depresión endogámica y sobredominancia. Además se propone la existencia de un multilocus que determina el dioicismo involucrando diversos genes de esterilidad femenina y masculina (Ross, 1978, en Bawa, 1980).

Evolución vía monoicismo

El monoicismo podría ser la ruta más común al dioicismo si se tiene en cuenta que los taxa dioicos evolucionan por medio de intermediarios monoicos (Charlesworth y Guttman, 1999). Esta ruta reduce la autopolinización y parece ser la principal fuerza selectiva desde el hermafroditismo, primero en monoicos y posteriormente en dioicos, a lo largo de una serie de mutaciones que alteran la tasa de flores masculinas y femeninas. La ruta monoica es fisiológicamente diferente que la ruta ginodioica.

Evolución vía ginodioicismo

El dioicismo podría evolucionar del ginodioicismo si la mutación de la esterilidad masculina fuera seguida por mutaciones que causen completa esterilidad femenina en individuos hermafroditas. Sin embargo, la evolución del dioicismo vía ginodioicismo puede ocurrir de manera gradual, la modificación (el mutante estéril femenino) puede llevarse a cabo si los hermafroditas producen más polen en vez de realizar gastos costosos en la producción de óvulos convirtiéndose en masculinos (estériles

femeninos). Se cree que la modificación de los genes se extiende rápidamente por la presencia de la esterilidad masculina o femenina en una población endogámica porque los subhermafroditas o masculinos contribuyen con más genes vía polen que vía óvulos (Ainsworth, 2000). El dioicismo podría surgir eventualmente si los genes estériles masculinos y femeninos estuvieran estrechamente relacionados (Bawa, 1980).

Ross (1982) distinguió dos tipos de ginodioicismo, uno estable y otro inestable. En el inestable, que evoluciona al dioicismo, los genes nucleares asumen el control de la esterilidad masculina; pero en el tipo estable, se cree que la esterilidad masculina se debe a la herencia citoplasmática. En el último caso, no se evoluciona al dioicismo porque los genes nucleares y citoplasmáticos no están ligados.

Evolución vía androdioicismo

De manera teórica, el dioicismo puede establecerse vía androdioica como un paso intermedio del mismo modo que la vía ginodioica; pero como ruta evolutiva no se conoce en grandes taxa. Posiblemente si las ventajas de entrecruzamiento estuvieran involucradas para la permanencia de individuos femeninos en poblaciones ginodioicas, esto no sería lo mismo para la permanencia de individuos masculinos en poblaciones androdioicas, debido a que las hermafroditas pueden autopolinizarse y las flores autopolinizables no están disponibles para ser fecundadas por masculinos. La contribución genética de los masculinos para las siguientes generaciones no es tan grande como la hermafrodita en una población donde se autofecundan. En una población con reproducción cruzada se podrían establecer los dioicos solo si la esterilidad femenina y los individuos masculinos tienen más del doble de polen fértil que las hermafroditas (Wolf *et al.*, 2001).

Evolución vía heterostilia

La mayor parte de las especies heterostílicas presentan proporciones iguales de los dos morfos, lo cual puede ser una consecuencia de la segregación mendeliana de los genes que la determinan. Sin embargo, se ha sugerido que estas proporciones corresponden a una estrategia evolutivamente estable (Eguiarte *et al.*, 1999).

Las plantas heterostílicas están estrechamente relacionadas para facilitar el dioicismo (Darwin, 1877). Una consecuencia interesante de la heterostilia es que al estar asociada con la autoincompatibilidad genera apareamientos preferenciales, dado que

la mitad de los individuos sólo puede aparearse con la otra mitad (Eguiarte *et al.*, 1999; Ainsworth, 2000).

SISTEMAS REPRODUCTORES EN CACTÁCEAS

En las cactáceas como en el resto de las angiospermas, la actividad reproductiva sexual se concentra en las flores. La condición sexual en esta familia es generalmente reportada como hermafrodita. Pero muy rara vez las flores llegan a ser unisexuales, ya sea por la atrofia del órgano sexual masculino o femenino (Arreola, 1997). Por otra parte, la reproducción asexual en las cactáceas está representada por dos tipos: propagación vegetativa y agamosperma.

La reproducción por semillas es el método reproductivo más común dentro de las cactáceas. La producción de semillas no siempre implica la fusión sexual de gametos masculinos y femeninos, la agamosperma también es una forma de reproducción asexual común tanto en *Opuntia* como en *Mammillaria* (Pimienta-Barrios y Del Castillo, 2002).

Aunque la propagación vegetativa permite una dispersión muy limitada, lo que podría ser una desventaja, es particularmente importante porque evita el gasto de energía y agua, permitiendo que los nuevos individuos soporten prolongadas sequías (Pimienta-Barrios y Del Castillo, 2002). Se sabe muy bien que existen especies en la familia Cactaceae que usan la propagación vegetativa como un modo de dispersión, sobre todo especies del género *Opuntia* (Aguirre *et al.*, 2004).

El entrecruzamiento es común entre las cactáceas. En la mayoría de los taxa es mayor la producción de semillas obtenidas mediante la polinización cruzada que las obtenidas mediante la autopolinización. Las cactáceas tienen varias adaptaciones que favorecen el entrecruzamiento: la autoincompatibilidad, la dicogamia, la hercogamia y la unisexualidad (Pimienta-Barrios y Del Castillo, 2002).

Los individuos que presentan flores unisexuales pueden ser exclusivos de ciertas poblaciones dentro de una misma especie, por lo tanto se pueden formar poblaciones completamente dioicas, ginodioicas, androdioicas o trioicas, como las especies que se han reportado para la familia Cactaceae con sistemas reproductivos diferentes al hermafrodita, como las que se describen en *Mammillaria dioica*, *Opuntia stenopetala* y

O. robusta, entre otras (Del Castillo, 1986; Orozco, 2002; Flores, 2005; Sánchez, 2007) (Tabla 1).

Los mecanismos que han llevado a la unisexualidad en estos sistemas reproductivos han surgido de manera independiente en varias ocasiones en la familia Cactaceae, ya sea por la presencia de diferentes patrones morfológicos en las flores bisexuales, o porque las flores que son potencialmente bisexuales en etapas tempranas del desarrollo floral comienzan a presentar inactividad en alguno de los órganos reproductores (estambres o pistilos), quedando órganos vestigiales en las flores maduras, como ocurre en algunas especies de las subfamilias *Pereskioideae*, *Opuntioideae* y *Cactoideae* (Bravo-Hollis, 1978, Del Castillo, 1986; Leuenberger, 1986; Areces-Mallea, 1992; Hoffman, 1992; Valiente-Banuet *et al.* 1997; Orozco, 2002, 2005; Strittmatter *et al.*, 2002; Núñez, 2004; Flores, 2005; Baker, 2006).

Tabla 1. Especies que presentan sistemas reproductivos sexuales diferentes al hermafrodita en la familia Cactaceae.

Tomado y modificado de Orozco (2002) y Flores (2005)

ESPECIE	SISTEMA SEXUAL	REFERENCIA
	SUBFAMILIA PERESKIOIDEAE	
<i>Pereskia zinniflora</i>	DIOICO	(Leuenberger, 1986)
<i>P. portulacifolia</i>	DIOICO	(Leuenberger, 1986)
<i>P. quisqueyana</i>	ANDRODIOICO	(Leuenberger, 1986)
<i>P. marcanoi</i>	DIOICO	(Areces-Mallea, 1992)
	SUBFAMILIA OPUNTIOIDEAE	
<i>Opuntia robusta</i>	HERMAFRODITA, DIOICO Y TRIOICO	(Del Castillo, 1986)
<i>O. grandis</i>	DIOICO	(Bravo-Hollis, 1978)
<i>O. glaucescens</i>	DIOICO	(Bravo-Hollis, 1978)
<i>O. quimilo</i>	GINODIOICO	(Díaz y Cocucci, 2003)
<i>O. quitensis</i>	DIOICO	(Anderson, 2001)
<i>O. stenopetala</i>	DIOICO	(Bravo-Hollis, 1978)
<i>O. sanfelipensis</i>	GINODIOICO	(Rebman, 1998)
<i>Consolea spinosissima</i>	SUBDIOICO	(Strittmatter <i>et al</i> , 2002)
<i>C. corallicola</i>	DIOICO	(Negrón-Ortiz, 1998)
<i>C. rubescens</i>	DIOICO	(Strittmatter y Negrón-Ortiz, 2000)
<i>O. calmalliana</i>	GINODIOICO	(Rebman, 1998)
<i>O. molesta</i>	GINODIOICO	(Rebman, 1998)
<i>O. wolfii</i>	GINODIOICO	(Rebman, 1998)
	SUBFAMILIA CACTOIDEAE	
<i>Selenicereus innesii</i>	GINODIOICO O HERMAFRODITA	(Kimnach, 1982)
<i>Pachycereus pringlei</i>	TRIOICO Y GINODIOICO	(Fleming <i>et al.</i> , 1994)
<i>P. fulviceps</i>	HERMAFRODITA Y ANDRODIOICO	Arias (Com. pers.)
<i>Mammillaria dioica</i>	GINODIOICO O TRIOICO	(Lindsay y Dawson, 1952)
<i>M. neopalmeri</i>	GINODIOICO O TRIOICO	(Lindsay y Dawson, 1952)
<i>Neobuxbaumia mezcalaensis</i>	ANDRODIOICO	(Valiente <i>et al.</i> , 1997)
<i>Echinocereus yavapaiensis</i>	DIOICO	(Baker, 2006)
<i>E. coccineus</i>	DIOICO Y HERMAFRODITA	(Hoffman, 1992)

SUBFAMILIA PERESKIOIDEAE

Dentro de la subfamilia Pereskioideae, Leuenberger (1986) reconoció 16 especies y discutió la posibilidad de un nuevo taxón en República Dominicana, denominada más tarde como *Pereskia marcanoii* por Areces-Mallea (1992), quien describió su morfología y encontró que el sistema reproductivo era funcionalmente dioico. La flor masculina muestra numerosos estambres de color rosa, con polen amarillo crema. El estilo es vestigial, corto y cubierto por los estambres; el estigma con lóbulos filiformes y erectos sin papilas estigmáticas. La flor femenina muestra estambres cortos y estériles; el ovario es ínfero y con muchos óvulos; el estilo es corto y el estigma tiene de 8 a 12 lóbulos alargados, entrelazados y recurvados, a veces en grupos irregulares de 2 a 3.

Asimismo, Leuenberger (1986) encontró que *Pereskia portulaciflora*, *P. quisqueyana* y *P. zinniflora* no presentaban óvulos en el ovario o los óvulos eran anormales. Las flores de estas especies resultaron ser aparentemente masculinas, con el estilo corto, lóbulos estigmáticos filiformes sin papilas y el lóculo del ovario reducido. Sólo en *P. quisqueyana* no se encontraron flores femeninas, por lo cual es considerada con un sistema reproductivo androdioico (Leuenberger, 1986). En *P. portulaciflora* y *P. zinniflora* además de flores masculinas se observaron flores femeninas; por lo tanto, estas dos especies son consideradas como dioicas (Leuenberger, 1986; Areces-Mallea, 1992). Recientemente, la embriología de *P. portulaciflora* está siendo estudiada en el Laboratorio de Desarrollo en Plantas de la Facultad de Ciencias de la UNAM (A. Camacho y S. Vázquez, com. pers.).

SUBFAMILIA CACTOIDEAE

Valiente-Banuet *et al.* (1997) estudiaron la biología de dos cactáceas columnares, entre ellas *Neobuxbaumia mezcalaensis* que presenta un sistema reproductivo androdioico, es decir, individuos con flores hermafroditas e individuos con flores masculinas. Los dos tipos florales de *N. mezcalaensis* son similares en tamaño. Los granos de polen de ambos morfos son viables, pues muestran producción de tubos polínicos. Sin embargo, la diferencia estriba en que las flores masculinas tienen un gineceo completamente reducido, no producen óvulos maduros, ni frutos.

Fleming *et al.* (1994) describieron el sistema reproductivo de *Pachycereus pringlei* y encontraron que las flores presentan ambos verticilos sexuales, es decir, flores perfectas. Sin embargo, los resultados indican que la población del centro de Sonora, México, contiene cuatro morfos florales (hermafroditas, femeninos, masculinos y

neutros). Los individuos femeninos y neutros generalmente tienen las flores más pequeñas que los individuos masculinos y hermafroditas. Las flores femeninas y hermafroditas no tienen diferencias conspicuas en el número de anteras, sin embargo, las anteras de las flores femeninas son más pequeñas, oscuras y carecen de granos de polen. Las flores masculinas tienen estilo y estigma desarrollados, pero el ovario se encuentra vacío o con óvulos indiferenciados, largos y con masa de tejido funicular. Los individuos masculinos y neutros no alcanzan a formar frutos, ni semillas, o estas son inmaduras. Los individuos neutros tienen anteras de tipo femenino y ovarios de tipo masculino. Estos autores concluyen que esta especie cuenta con un sistema reproductivo trioico, aunque dependiendo de la población, también pueden presentar un sistema ginodioico (Fleming *et al.*, 1998).

Por su parte, Núñez (2004) estudió la embriología de *P. pringlei* con el objetivo de conocer el origen de su unisexualidad. En el estudio embriológico encontró que la pared de la antera de la flor femenina es aparentemente normal, aunque la pared de calosa que envuelve a la microspora es anormal, y los granos de polen jóvenes presentan sólo restos de citoplasma colapsados, por lo que no son viables. Los óvulos de las flores masculinas son de dos tipos; el primero contiene funículos que terminan en protuberancias nucelares y no desarrollan tegumentos; en el segundo los óvulos son amorfos con la nucela cubierta parcial o totalmente por los tegumentos y el funículo.

Baker (2006) describió una nueva especie de la sección *Triglochidiatus* del condado de Yavapai, Arizona, denominada *Echinocereus yavapaiensis*. Él encontró que esta especie presenta dimorfismo sexual. Flores masculinas y flores femeninas. De los individuos estudiados, el 53% tiene flores con polen estéril, mientras que el 47% restante tiene flores con polen fértil. La longitud del estilo y del ovario es la misma para los dos morfos, sin embargo, los estambres de la flor masculina tienen una mayor longitud (30 mm) que los de la flor femenina (20 mm); además, la flor masculina no produce frutos. Por lo tanto, *E. yavapaiensis* posee un sistema reproductivo funcionalmente dioico.

Hoffman (1992) estudió las florales de *Echinocereus coccineus* con el propósito de determinar su sistema reproductivo; de manera superficial observó que el primer tipo floral tenía estructuras masculinas y femeninas, la flor era aparentemente hermafrodita; al realizar los experimentos de polinización manual encontró que no se producen frutos en estos individuos, por lo tanto las flores resultaron ser

funcionalmente masculinas. En el segundo tipo floral también se presentaron las estructuras masculinas y femeninas dentro de una misma flor, sin embargo los filamentos de los estambres estaban reducidos en longitud y las anteras eran pequeñas, marchitas y sin polen; al realizar la polinización manual se desarrollaron frutos, por lo tanto las flores eran funcionalmente femeninas. Como consecuencia, el autor concluye que *E. coccineus* tiene individuos unisexuales con un sistema reproductivo funcionalmente dioico.

Brandegge (1897) y Lindsay y Dawson (1952) mencionan que el sistema reproductivo dioico no se observa con frecuencia en las especies de *Mammillaria*, y que además de *Mammillaria dioica* y *M. neopalmeri*, podrían existir otras especies dioicas. *M. neopalmeri* presenta flores masculinas con pocos lóbulos estigmáticos, raramente produce frutos y éstos tienen pocas o escasas semillas. Las flores femeninas son pequeñas con anteras abortivas. Además, Brandegge (1897), menciona que existen flores hermafroditas o flores dioicas imperfectas en *M. dioica*, de las cuales no da más detalle. Lindsay y Dawson (1952) mencionan que encontraron flores perfectas y unisexuales en *M. neopalmeri*. Por lo tanto, además de formarse poblaciones dioicas, ambas especies podrían formar poblaciones trioicas.

En 1978, Ganders y Kennedy, hicieron observaciones de una población del sureste de San Diego, California, y señalan que el sistema de cruzamiento de *M. dioica* es ginodioico. Para conocer detalladamente el sistema reproductivo de esta especie, Sánchez (2007) realizó el estudio embriológico en una población de Baja California Sur, México, dictaminando que la población estudiada es ginodioica. La flor hermafrodita presenta desarrollo normal del androceo y gineceo. La flor femenina tiene desarrollo normal del gineceo, no así del androceo. Las anteras se atrofian antes de la meiosis y no se desarrollan granos de polen. Un rasgo que se observó por primera vez en el morfo con esterilidad masculina y que no se había reportado en otra especie, fue el engrosamiento fibroso de las paredes del tapete y las anteras colapsadas.

Kimnach (1982) describió a *Selenicereus innesii* con un sistema reproductivo ginodioico. La flor hermafrodita presenta desarrollo normal del androceo y del gineceo, las anteras son oblongas y de color amarillo, mientras que el estigma tiene de 7 a 8 lóbulos estigmáticos. La flor femenina es similar a la hermafrodita, sin embargo, no tiene estambres y su nectario es poco prominente y probablemente no funcional. Este es el único caso en las cactáceas donde la flor femenina no presenta remanentes del sexo opuesto, aunque faltan estudios embriológicos y anatómicos que confirmen esto.

Núñez (2004) realizó la descripción embriológica de las flores hermafroditas de *Pachycereus fulviceps* en una población de San Antonio Texcala, Puebla, México, las cuales presentan androceo y gineceo bien desarrollados; no se reportaron eventos de unisexualidad. Sin embargo, en Oaxaca, México, se han registrado poblaciones de esta especie con flores hermafroditas y flores masculinas (androdioica) (S. Arias com. pers.). Recientemente, se está realizando el desarrollo embriológico de las flores masculinas de *P. fulviceps* en el Laboratorio de Desarrollo en Plantas de la Facultad de Ciencias, UNAM (A. González y S. Vázquez com. pers.).

SUBFAMILIA OPUNTIOIDEAE

Rebman (1998) describió una nueva especie denominada *Opuntia sanfelipensis* endémica del desierto de San Felipe en Baja California Norte, México. Morfológicamente las poblaciones tienen individuos hermafroditas, con el desarrollo del androceo y gineceo normales, e individuos que parecen ser funcionalmente femeninos con anteras abortivas sin granos de polen. Esta descripción sugiere que la población estudiada presenta un sistema reproductivo ginodioico, aunque el autor menciona que son necesarios más estudios para corroborar lo antes mencionado. Además, el autor hace referencia a *Opuntia wolfii*, una cactácea que se distribuye desde California hasta Baja California Norte, la cual comparte poblaciones y características similares a *O. sanfelipensis*, debido a esto, se cree que también podría tener el mismo sistema reproductivo, es decir, *O. wolfii* podría ser ginodioica.

Rebman y Pinkava (2001) mencionan que *O. calmalliana* y *O. molesta* presentan un sistema reproductivo ginodioico; Sin embargo, nunca se refieren a la morfología floral de estas especies.

Strittmatter *et al.* (2002) estudiaron el sistema reproductivo y describieron la embriología de una población subdioica de *Consolea spinosissima* y encontraron que los tres morfos florales (masculino, femenino y hermafrodita) al comienzo del desarrollo son bisexuales, sin embargo, en etapas avanzadas algunas de ellas llegan a ser unisexuales. La flor femenina presenta un androceo compuesto por estambres con filamentos cortos y colapsados, anteras indehiscentes y sin polen fértil en su interior. La esterilidad masculina ocurre cuando la célula madre de la microspora entra a meiosis, en profase I, aunque en algunos casos se forma una tétrada anormal.

El gineceo está constituido por lóbulos estigmáticos divergentes y el ovario contiene óvulos que se desarrollan con normalidad. El desarrollo del estilo y el estigma de la flor

masculina se desarrollan con normalidad, sin embargo los lóbulos estigmáticos permanecen cerrados durante el desarrollo floral en comparación con la flor hermafrodita; el ovario posee gran cantidad de óvulos que se desarrollan con normalidad, pero en etapa de anthesis son abortivos debido a la desintegración del tejido nucelar alrededor del saco embrionario y por el adelgazamiento del funículo; la degradación nucelar está correlacionada con la aparición de numerosos granos de almidón alargados; al completarse el aborto, los óvulos son diminutos y casi todo el tejido nucelar y el funículo se han desintegrado; la cavidad ovárica es alargada y contiene un aparato ovocelular y núcleos polares indistinguibles; por lo tanto, este morfo no produce frutos. La flor hermafrodita posee un androceo funcional con polen viable y un gineceo con estigma, estilo y ovario bien desarrollados, la producción de óvulos es menor que la del morfo femenino pero semejante a la del morfo masculino, aunque la mitad de éstos pueden ser fértiles o completamente abortivos. Los autores determinaron que la población de *C. spinosissima* estudiada presenta tres morfos sexuales y un sistema reproductivo subdioico, ya que el morfo hermafrodita se considera especial por presentar aborto parcial o total de sus óvulos, obteniendo de este último la funcionalidad masculina.

Strittmatter y Negrón-Ortiz (2000) mencionan que *Consolea rubescens* al igual que *C. spinosissima* presentan dimorfismo sexual. *C. rubescens* se distribuye en La Hispaniola, Puerto Rico y las Antillas, y de acuerdo con una descripción taxonómica esta especie presenta flores perfectas. Sin embargo, la reciente observación de los autores revela un dimorfismo sexual. Estudios embriológicos demuestran que ambos morfos florales comienzan siendo bisexuales; pero durante la diferenciación sexual, la microsporogénesis cesa en la flor femenina y las flores masculinas presentan aborto de la tétrada de megasporas. Por lo tanto, dentro de la población existen individuos con numerosos frutos, pero las anteras no producen polen fértil (individuos femeninos); y otros individuos no producen frutos, tienen lóbulos estigmáticos cerrados, pero sí producen polen fértil (individuos masculinos).

Díaz y Cocucci (2003) estudiaron el sistema reproductivo de *Opuntia quimilo* y encontraron que presenta un sistema reproductivo ginodioico. *O. quimilo* es una cactácea arborescente que habita en la provincia de Córdoba, Argentina. Para diferenciar los morfos sexuales realizaron diversas mediciones como: número de estambres, número de granos de polen, longitud del estilo, longitud del estigma, número de lóbulos estigmáticos, largo del ovario y número de óvulos. Encontraron que la flor femenina presenta anteras dehiscentes con esferulitas, pero sin granos de

polen. Mientras que la flor hermafrodita presenta androceo y gineceo desarrollados, aunque con menor número de óvulos comparado con la flor femenina.

Orozco (2002; 2005) estudió el sistema reproductivo de *Opuntia stenopetala*. Mediante una descripción embriológica determinó que esta especie presenta un sistema reproductivo funcionalmente dioico. En las flores femeninas el desarrollo de la antera se detiene en etapa de célula madre de las microsporas, no inician meiosis, y las células del tapete presentan crecimiento anormal. En las flores masculinas, no hay anomalías en el desarrollo del grano de polen, pero sí la hay en el desarrollo del gineceo. Los individuos desarrollan un estilodio carente de lóbulos estigmáticos. El ovario es reducido o no se forma, presenta pocos óvulos en la parte basal y los óvulos no completan el desarrollo, algunos forman el segundo tegumento o bien, no se diferencian y permanecen como protuberancias nucelares amorfas.

Flores (2005) estudió en *O. stenopetala* los cambios estructurales del desarrollo de la antera de la flor femenina y masculina para conocer los mecanismos que conducen a la esterilidad masculina. Ella encontró que en las flores femeninas el desarrollo de la célula madre de las microsporas comienza a alterarse presentando signos de muerte celular programada, como la compactación de cromatina y del citoplasma, alta vacuolización celular, así como alteraciones del núcleo. Aunque algunas células madre de la microspora entran a meiosis (Profase I), se observan alteraciones en las células del tapete, las cuales se hipertrofian, tienen alta vacuolización y el citoplasma se colapsa. Finalmente el endotecio, la capa media y el tapete degeneran; sólo algunas células de la epidermis permanecen hasta la madurez. Esta autora analizó los cambios en la expresión genética en las anteras de ambos morfos florales mediante la búsqueda de mutantes que coincidieran con las alteraciones encontradas en *O. stenopetala*. La única mutante que comparte las alteraciones que presentan las células madre de las microsporas es *duet* o también llamada *mmd1*, en ellas comienza la meiosis deteniéndose alrededor de la etapa de profase I y no progresa el desarrollo, además presenta muerte celular programada. En conclusión, Flores (2005) propone que la muerte celular programada atemporal o errónea de la antera puede originar esterilidad masculina, pero además, sugiere que este evento quizás este involucrado en la generación de especies con sistemas de reproducción unisexuales.

SISTEMAS REPRODUCTIVOS EN EL GÉNERO *Opuntia*

Entre las cactáceas, las opuntias son probablemente el mejor ejemplo de versatilidad reproductiva, mostrando una amplia gama de sistemas reproductivos sexuales y asexuales.

El género *Opuntia* presenta diversos sistemas reproductivos asexuales como: apomixis, poliembrionía y propagación vegetativa (rizomas y estolones); y sexuales como: hermafrodita, dioico, ginodioico y trioico. La cleistogamia también ocurre en este género.

La apomixis se presenta con frecuencia en el género *Opuntia*, en este género, el desarrollo más común es el que origina embriones adventicios a partir de tejido nucelar (agamosperma esporofítica) (Pimienta-Barrios y Del Castillo, 2002) o como en *O. streptacantha* donde los embriones se desarrollan desde un óvulo no fecundado (diplosporia-partenogénesis) (Aguirre *et al.*, 2004).

La poliembrionía también ha sido considerada como prueba de apomixis, y es común en poblaciones silvestres de *O. robusta*, *O. cochineria*, *O. leucotricha*, *O. dilenii*, *O. rastrera*, *O. streptacantha*, *O. joconostle* y *O. stricta* (Tiagi, 1954; Aguirre *et al.*, 2004).

La cleistogamia, una forma de autogamia, ha sido observada en *O. ficus-indica*, *O. cochineria* y *O. robusta* (Aguirre *et al.*, 2004).

En el género *Opuntia* se han reportado diez especies con flores unisexuales, de las cuales se han realizado estudios morfológicos, ecológicos y embriológicos. Las especies que presentan un sistema reproductivo diferente al hermafrodita, principalmente ginodioico y dioico son: *O. quimilo*, *O. wolfii*, *O. calmalliana*, *O. molesta*, *O. sanfelipensis*, *O. quitensis*, *O. grandis*, *O. glaucescens*, *O. stenopetala* y *O. robusta* (Bravo-Hollis, 1978; Del Castillo, 1986; Rebman, 1998; Anderson, 2001; Orozco, 2002; Díaz y Cocucci, 2003; Flores, 2005).

SISTEMA REPRODUCTIVO DE *Opuntia robusta* Wendland

Del Castillo (1986) y Del Castillo y González (1988) reportan poblaciones hermafroditas, dioicas y trioicas de *O. robusta* y describen los tres tipos florales de las diferentes poblaciones mediante un estudio morfológico. Encontraron que las flores masculinas presentan gran cantidad de polen, el estilo tiene dos o tres lóbulos estigmáticos rectos y atrofiados, y el ovario está notablemente reducido con la

presencia de 0 a 40 óvulos en la parte basal. Las flores femeninas tienen estilo y estigma en forma de copa y con múltiples lóbulos, las anteras están atrofiadas y no tienen polen fértil. Las flores hermafroditas presentan polen, aunque en menor cantidad que las flores masculinas, estilo y estigma viables. En el ovario de las flores femeninas y hermafroditas se forman gran cantidad de óvulos de origen parietal.

En la presente investigación se describe el desarrollo embriológico de una población dioica de *Opuntia robusta*, con el propósito de conocer la etapa del desarrollo floral en la que ocurre la degeneración de alguno de los tejidos de los órganos reproductores de las flores unisexuales. Este trabajo ampliará el conocimiento que existe acerca de los sistemas reproductivos diferentes al hermafrodita en la familia Cactaceae, en particular en el género *Opuntia*. Asimismo, será un aporte a la serie de análisis morfológicos, embriológicos y moleculares que se han hecho en otras cactáceas, como en *Opuntia stenopetala* (Orozco, 2002, 2005; Flores, 2005), *Consolea spinosissima* (Strittmatter *et al.*, 2002) y *Mammillaria dioica* (Sánchez, 2007) y otras que se están realizando en *Pereskia portulaciflora* (A. Camacho y S. Vázquez, com. pers.), para conocer más sobre los procesos que conducen a la unisexualidad en esta familia que permitan predecir las tendencias evolutivas de este fenómeno en el grupo de las cactáceas.

OBJETIVOS

OBJETIVO GENERAL

Describir el desarrollo embriológico de las flores masculinas y femeninas de *Opuntia robusta*.

OBJETIVOS PARTICULARES

Conocer el sistema reproductivo de la población de *O. robusta* en estudio.

Describir el desarrollo del androceo y gineceo de las flores masculinas y femeninas de *O. robusta*.

Conocer la etapa del desarrollo floral en la que se establece la unisexualidad en flores masculinas y femeninas de *O. robusta*.

MATERIALES Y MÉTODOS

ÁREA DE ESTUDIO

La población estudiada se encuentra entre Tequisquiapan y San Juan del Río en el Estado de Querétaro. Sus coordenadas geográficas generales son 20° 30.795' N y 99° 54.249' W (Fig. 1). Esta región forma parte de la Altiplanicie Mexicana, alcanzando los 2,200 msnm. Posee algunas cuencas tectónicas del cuaternario, localizadas en la porción centro sur como los valles de Querétaro, San Juan del Río y Tequisquiapan. Cuenta con grandes asentamientos humanos muy antiguos que, por sus actividades y buenas comunicaciones con otros estados, están muy modificados con relación a su diversidad biológica original. Los materiales geológicos que se pueden encontrar en Tequisquiapan y San Juan del Río son: aluviones, material residual, caliche, grava, toba y arenas volcánicas (Scheinvar, 2004).

San Juan del Río y Tequisquiapan tienen un clima templado semihúmedo de tipo Cwa y Cwb. La temperatura anual oscila entre 12 a 18 °C. La precipitación media anual es de 400 a 800 mm. Las lluvias se concentran en los meses de mayo, junio y octubre. La temperatura más fría es de diciembre a enero y la más calientes de mayo a junio (Scheinvar, 2004).

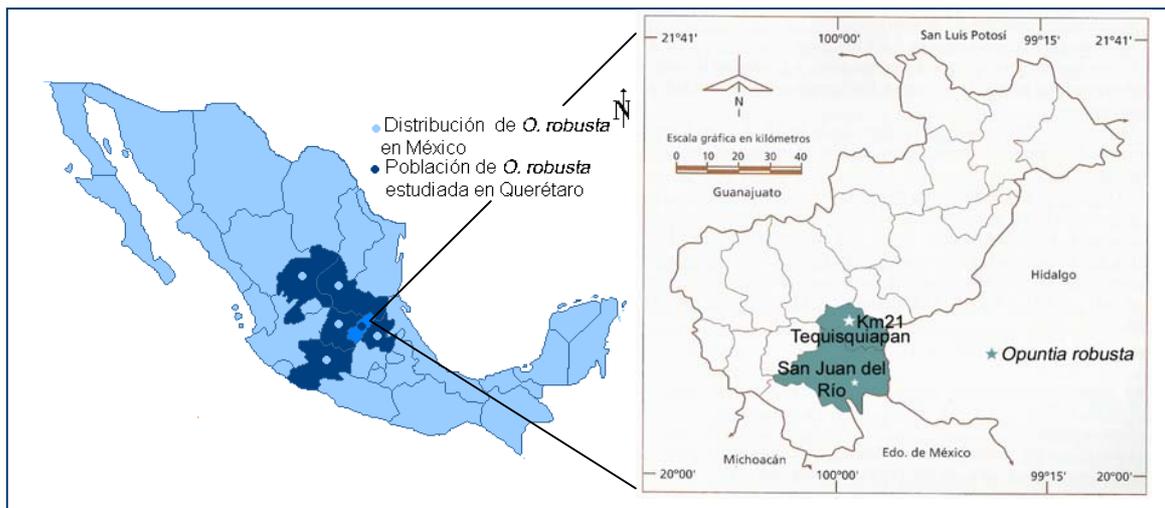


Figura 1. Mapa de México que señala los Estados donde se distribuye *Opuntia robusta*. El recuadro del Estado de Querétaro muestra el área de estudio en San Juan del Río y Tequisquiapan, en el Km. 21.

ESPECIE ESTUDIADA

Opuntia robusta Wendland

Es un arbusto con tallo ramificado de 0.6 a 4 m de altura, tronco más o menos bien definido con un diámetro de 15 a 25 cm y ramas de 1 a 1.5 m de largo (Fig. 2). Los cladodios son ovalados de 15 a 40 cm de longitud, muy gruesos, de 1.5 a 2.5 cm de espesor y de color verde azulado, recubierto de notoria capa cerosa (Fig. 3). Las aréolas negruzcas, circulares o subcirculares, distantes entre sí de 4 a 6 cm, con lana negruzca sobresaliente, variables en tamaño. Las glóquidas son de color amarillo oscuro a castaño claro, numerosas, principalmente en los bordes de los cladodios, de 1 a 3 cm de largo. Las espinas son de 0 a 12 de 2 a 5 cm de longitud, ocasionalmente están ausentes, pero cuando se presentan son de color blancas con bases negras, rígidas o semiflexibles, divergentes, desiguales, no diferenciadas en radiales y centrales. Las flores son diurnas, de perianto amarillo y grandes, de 5 a 7 cm de longitud y de 5 cm de diámetro (Figs. 4 y 5). Los estambres están dispuestos debajo de la mitad de los segmentos interiores del perianto. Los filamentos son sensibles al tacto, de color blanco verdoso, de 1 cm de largo. El estilo es verde, claviforme o cónico, aplanado, de 1 cm de largo y 4 mm de ancho, con 4 a 12 lóbulos estigmáticos dispuestos en dos hileras paralelas entre sí. El fruto es globoso de forma elíptica, de 7 a 10 cm de longitud, color purpúreo o blanco verdoso (Bravo-Hollis, 1978; Del Castillo, 1986; Anderson, 2001). Las semillas son deltoideas, pequeñas, con arilo irregular y endurecimiento funicular (Scheinvar, 2004; Aguirre *et al.*, 2004).

Distribución. Se distribuye en los Estados del centro de México: Zacatecas, Hidalgo, Querétaro, San Luis Potosí, Guanajuato y Michoacán, a altitudes de 1 800 a 2 200 msnm, en zonas áridas como matorral xerófilo crasicaule y pastizal (Scheinvar, 2004), con presencia de *Yucca decipiens*, *Acacia sp.* y *Quercus grises*, (Bravo-Hollis, 1978; Anderson, 2001; Gómez, 2001). En Querétaro se distribuye en los municipios de Cadereyta, Ezequiel Montes, Tequisquiapan y San Juan del Río (Scheinvar, 2004). Al noreste, su distribución se ve restringida por la presencia de suelos de origen calizo a los cuales no es tolerante. Al suroeste su distribución se limita principalmente por factores climáticos y bióticos pues parece no tolerar las condiciones de sombra de los bosques adyacentes. Se distribuye en climas Cw al margen de bosques de encinos y coníferas y su presencia puede interpretarse como resultado de la perturbación (Del Castillo, 1986).

Floración. De acuerdo a Del castillo y González (1988), la floración comienza en marzo para las flores masculinas y femeninas, y en abril para las hermafroditas. Las primeras

en florecer son las masculinas, dos semanas después las femeninas, y las hermafroditas comienzan a florecer siete semanas después que las masculinas. Los tres morfos florales concluyen su floración en mayo. La antesis comienza después del mediodía, cerrando hasta la puesta del sol y abriendo el siguiente día (Aguirre *et al.*, 2004).

Clasificación (Bravo Hollis, 1978):

- Familia: Cactaceae
- Subfamilia: Opuntioideae
- Tribu: Opuntieae
- Género: *Opuntia*
- Subgénero: *Opuntia*
- Serie: *Robustae*
- Especie: *Opuntia robusta* Wendland



Figuras 2-5. *Opuntia robusta* Wendland. 2. Individuos de una población de *O. robusta* en el Estado de Querétaro. 3. Cladodios ovalados de 15 a 40 cm de longitud. 4 y 5. Flores masculinas. Las flores surgen del ápice del cladodio y llegan a medir de 5 a 7 cm de longitud y 5 cm de diámetro.

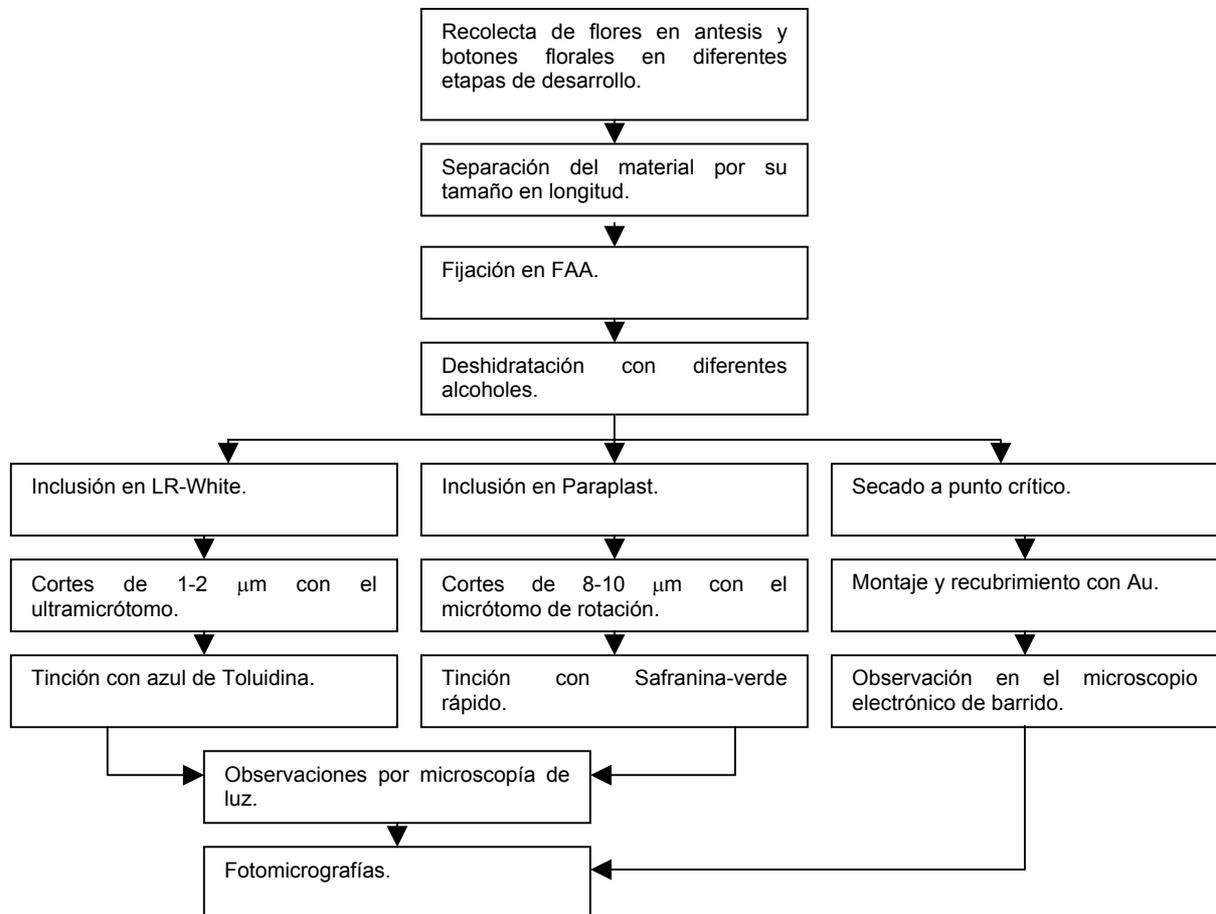
COLECTA, FIJACIÓN Y PROCESAMIENTO DEL MATERIAL BIOLÓGICO

Considerando las características morfológicas que presentaron las diferentes flores, como presencia o ausencia de granos de polen, se realizaron colectas de botones florales y flores en anthesis de individuos masculinos y femeninos durante 2003 y 2004. Las flores se separaron de acuerdo a su longitud, se disectaron parcialmente y se fijaron en FAA (formol, ácido acético, alcohol y agua). Posteriormente las muestras se deshidrataron con etanol (50%, 70%, 85% y 96%), proceso que ocurrió de manera gradual y ascendente hasta efectuar dos cambios con alcohol al 100%, para eliminar por completo el agua y se incluyeron en Paraplast y LR-White. Para el material incluido en LR-White se utilizó un ultramicrotomo para obtener cortes de 1 a 2 μm de grosor, se tiñeron con azul de Toluidina, se observaron las muestras en el microscopio óptico y se tomaron fotomicrografías (López-Curto, *et al.*, 1998).

El material incluido en Paraplast fue cortado en un microtomo de rotación con un grosor de 8 a 10 μm . Los cortes se tiñeron con safranina-verde rápido y se montaron las muestras con resina para ser observadas en el microscopio óptico y tomar fotomicrografías (López-Curto, *et al.*, 1998).

Para realizar las observaciones en el microscopio electrónico de barrido se disectaron las muestras, hasta obtener solamente las estructuras de interés. El material se disecó a punto crítico en la desecadora LPD 030 de Baltec y se montaron en portamuestras de aluminio sobre cinta conductiva de carbón. Por último se cubrieron con una fina capa de oro en una ionizadora Dentum Vacuum Desk II y se observaron y fotografiaron en un microscopio electrónico de barrido Jeol JSM-5310LU (Espinosa com. per.; Vázquez y Echeverría, 2000).

El siguiente diagrama de flujo resume la metodología que se llevó a cabo para procesar, observar y fotografiar el material biológico.



RESULTADOS

La población estudiada de *Opuntia robusta* se encuentra en una planicie dividida por la carretera de San Juan de Río-Tequisquiapan. Preferentemente esta especie se mantiene cerca de la carretera; en sitios perturbados por el pastoreo de ganado vacuno y caprino y la acción combinada del fuego inducido por el hombre. En el lado Este se ve limitada por el lago de San Juan del Río. El hábitat lo comparte con mezquitales, magueyales, diferentes especies de arbustos, pastos, chiotillas y otras opuntias, así, el hábitat es definido como matorral xerófilo crasicale (Rzedowski, 1988). Se realizaron dos recolectas de esta población a la altura del Km 21 de la carretera San Juan del Río-Tequisquiapan, la primera en abril del 2003 y la segunda en mayo del 2004. Se sexaron las plantas de acuerdo a la presencia o ausencia de polen y óvulos, obteniendo 9 del morfo femenino y 9 del morfo masculino. Morfológicamente, la población resultó ser dioica. En ambos morfos florales el material recolectado se separó por su tamaño en longitud y se dividieron en 11 etapas de desarrollo.

Durante la recolecta se observaron que las flores unisexuales son visitadas frecuentemente por hormigas coleópteros, abejas y abejorros (Fig. 6), probablemente efectuando la polinización de las flores unisexuales de *O. robusta*.



Figura 6. Abejorro visitando la flor masculina de *O. robusta*.

DESARROLLO FLORAL

En etapas tempranas del desarrollo las flores de *O. robusta* son bisexuales, pero en etapas más avanzadas son funcionalmente unisexuales. En antesis, las flores muestran androceo y gineceo desarrollados, aunque las flores femeninas no muestran polen y las flores masculinas tienen un estigma reducido con respecto al estigma de las flores femeninas.

Las disecciones realizadas en el campo mostraron que la flor femenina (Fig. 7a) en antesis presenta un estigma compuesto de 10 a 12 lóbulos estigmáticos alargados, el estilo es ancho en la parte basal en comparación a la de la flor masculina, y el ovario presenta gran cantidad de óvulos. Las anteras son de color blanco e indehiscentes. La flor masculina (Fig. 7b) presenta lóbulos estigmáticos convergentes sin bifurcaciones completas, el estilo es delgado en comparación a la flor femenina, y el ovario está reducido y sin óvulos visibles a simple vista. Las anteras son dehiscentes de color amarillo y con granos de polen fértil en su interior.

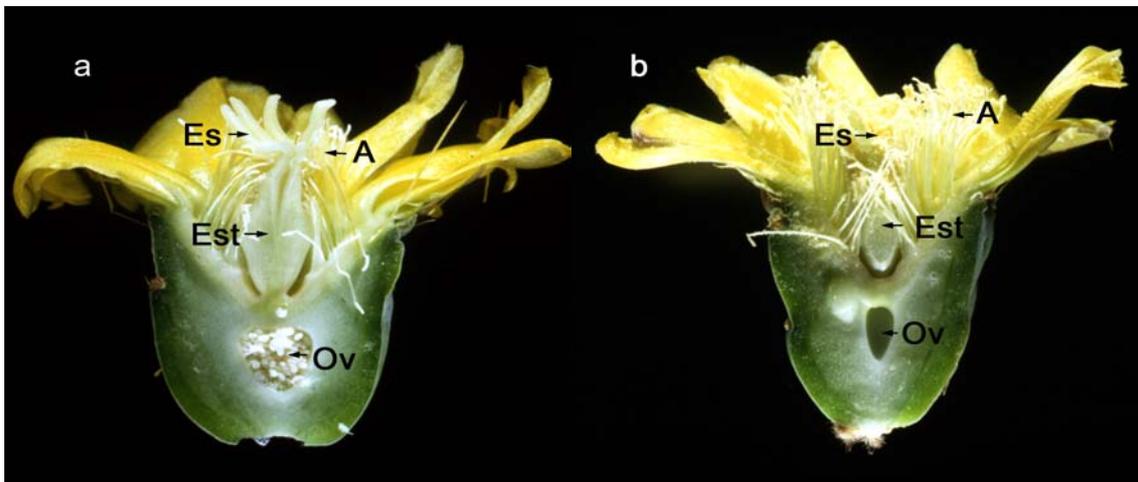


Figura 7. Flores unisexuales. a. Flor femenina en antesis mostrando las anteras (A) por abajo del nivel del estigma (Es), el estilo (Est) bien desarrollado y el ovario (Ov) lleno de óvulos. b. Flor masculina mostrando las anteras por arriba del nivel del estigma, estilo reducido y el ovario carente de óvulos.

FLOR MASCULINA

DESARROLLO DE LA ANTERA

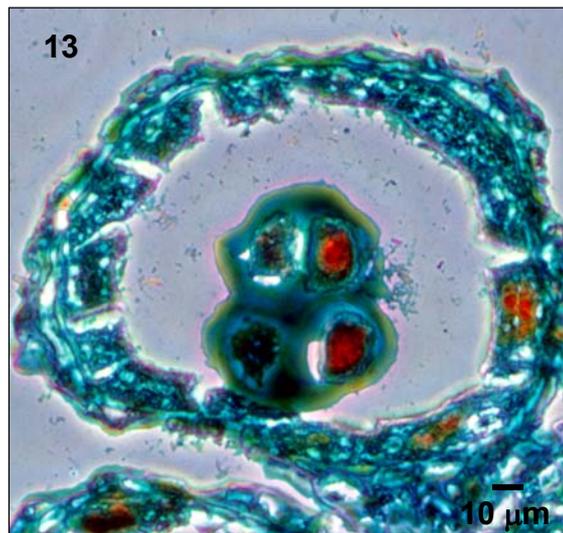
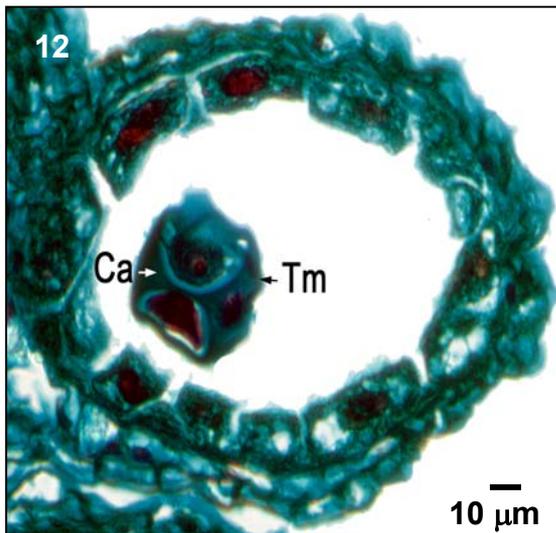
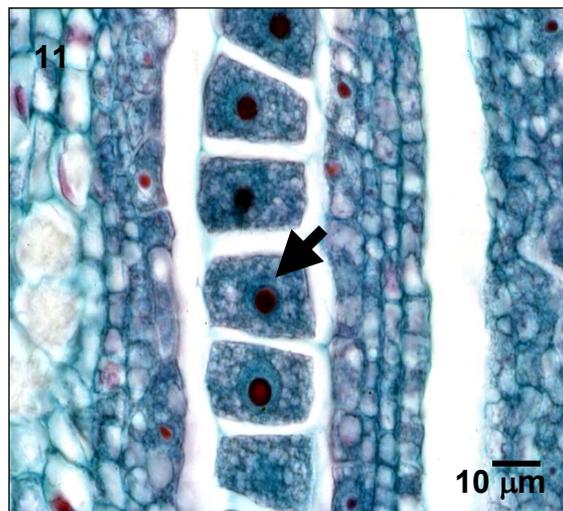
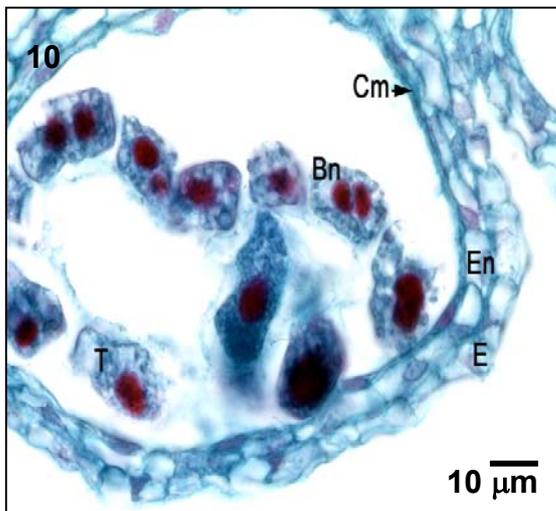
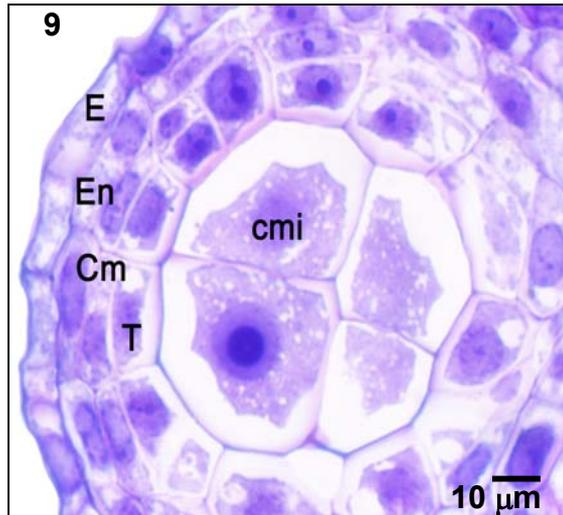
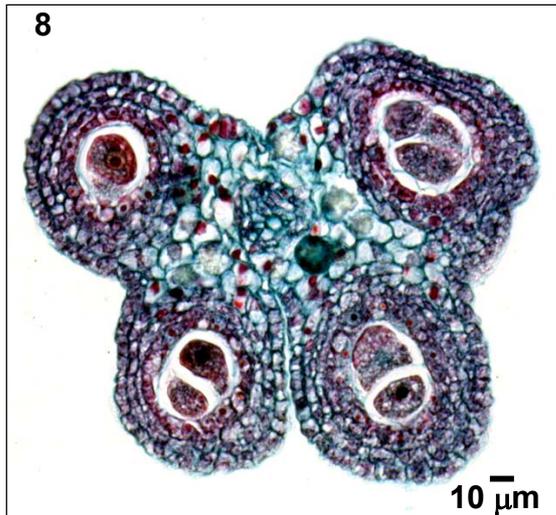
La antera joven es bilobulada, tetrasporangiada y con drusas en el tejido conectivo (Fig. 8). Debido a que solo se forma una capa media y ésta se origina de la capa parietal secundaria interna al igual que el tapete, se considera que el tipo de desarrollo de la pared de la antera es monocotiledóneo. La pared de la antera joven está formada por epidermis, endotecio, capa media y tapete (Fig. 9). El tapete duplica su tamaño formando células cúbicas binucleadas con citoplasma denso (Fig. 10). En el centro de cada microsporangio se observan las células madre de las microsporas (Fig. 11), las cuales se rodean de calosa para entrar en meiosis, formando tétradas tetraédricas de microsporas (Figs. 12 y 13).

Una vez que las microsporas han sido liberadas de la tétrada (Fig. 14), el endotecio comienza a aumentar de tamaño y a formar engrosamientos fibrosos en forma de barra en las paredes anticlinales. La capa media y el tapete son reabsorbidos y desaparecen cuando la antera está madura, la capa media se constriñe durante la segunda división meiótica y el tapete lo hace cuando la pared o exina del grano de polen se ha sintetizado (Fig. 15). De esta manera, la pared de la antera madura se encuentra formada por la epidermis y el endotecio. Antes de la antesis, en la pared de la antera, el endotecio y la epidermis se adelgazan en la zona del estomio, y el septo entre los dos microsporangios de cada lóbulo se disuelve, de tal forma que en la antesis los septos entre los microsporangios se han perdido, y la dehiscencia ocurre de manera longitudinal (Fig. 22).

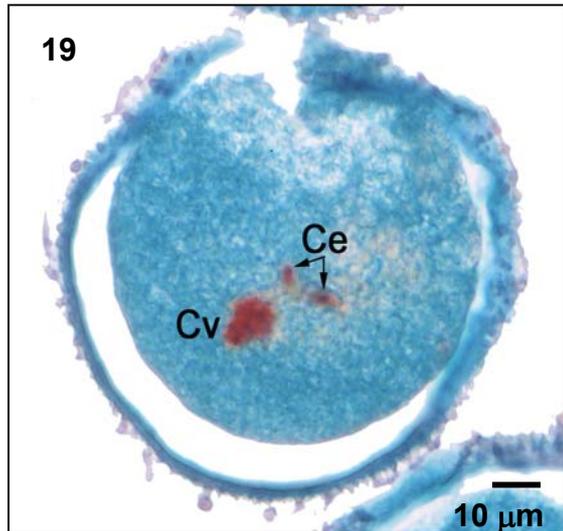
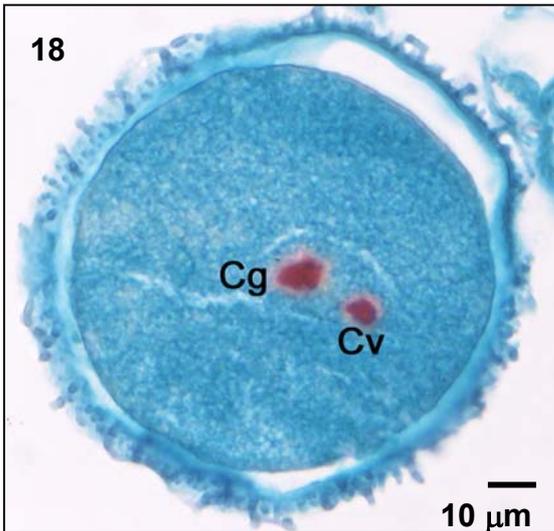
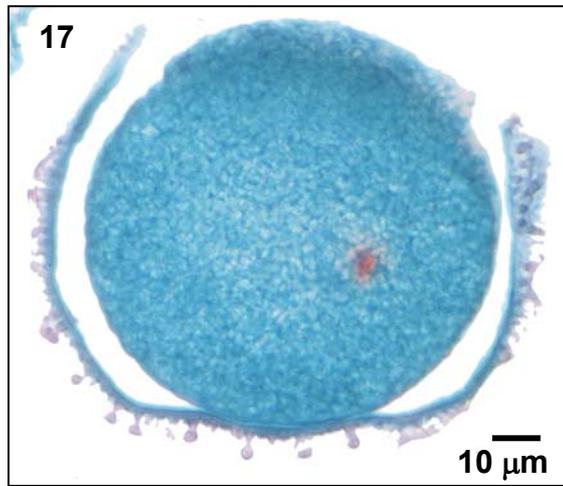
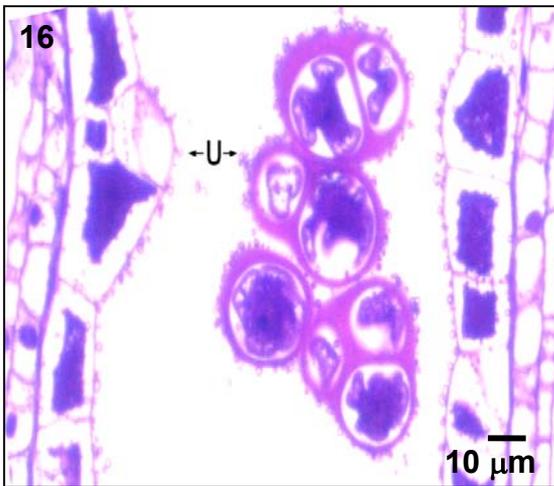
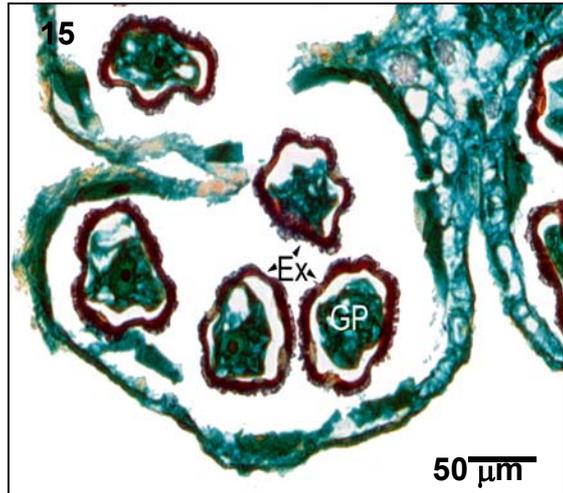
Microsporogénesis y microgametogénesis

La tétrada de microsporas se origina a partir de un proceso de citocinesis simultánea. Al suceder la primera división meiótica de la célula madre de la microspora no se forman paredes, resultando una célula binucleada; a continuación, la segunda división meiótica produce una célula con cuatro núcleos haploides que posteriormente forman paredes individuales formándose cuatro células. La tétrada que se forma a partir de este proceso es de tipo tetraédrico (Fig. 13). En esta etapa el tapete se observa binucleado con un citoplasma denso.

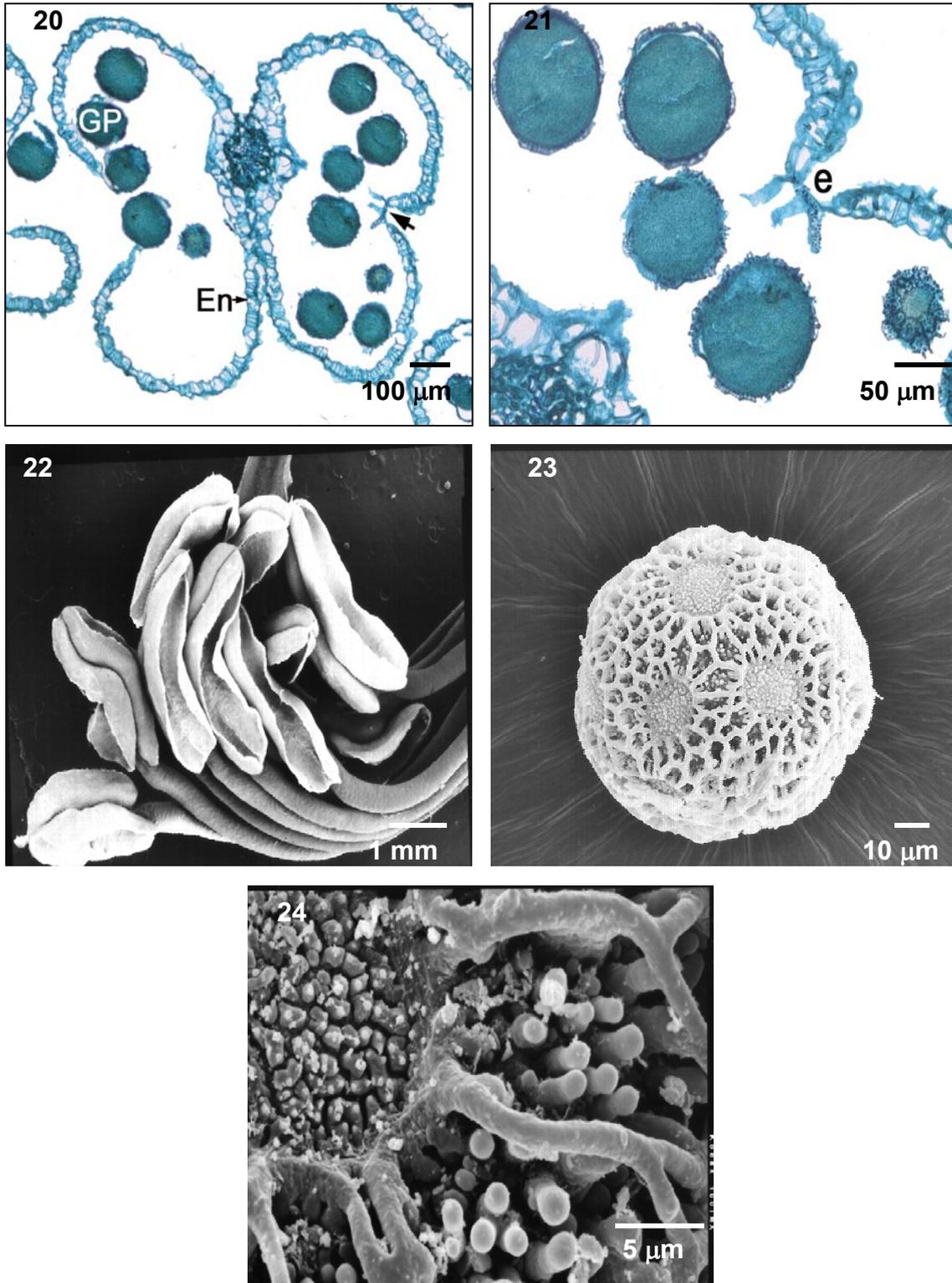
Las microsporas son liberadas de la tétrada en el momento que la pared de calosa se degrada, dando lugar a granos de polen unicelulares. Los granos de polen presentan citoplasma vacuolado, las que posteriormente se unifican para formar una sola vacuola. La pared de exina es delgada al principio, pero gracias a la aportación de esporopolenina proveniente de las células del tapete por medio de los cuerpos de Ubisch, comienza a engrosar y a presentar ornamentaciones (Fig. 16). Los granos de polen jóvenes recién liberados son uninucleados (Fig. 17). Posteriormente, los granos de polen jóvenes se dividen mitóticamente originando una célula vegetativa y una célula generatriz (Fig. 18). Esta última se divide nuevamente y forma dos células espermáticas (Fig. 19), por lo que el polen antes de ser liberado es tricelular (Figs. 20, y 21). Los granos de polen maduros son de forma esférica (Fig. 23), poliporados y con exina subtectada y reticulada heterobracada con báculas libres en las lúminas. Los poros tienen membrana con verrugas de forma poligonal (Fig. 24).



Figuras 8-13. Primordio de antera de la flor masculina y desarrollo de la antera de la flor masculina. 8. Corte transversal de antera joven bilobulada y tetrasporangiada. 9. Corte transversal de microsporangio. Se observa la epidermis (E), el endotecio (En), la capa media (Cm), el tapete (T) y las células madre de las microsporas (cmi). 10. Corte transversal del lóbulo mostrando tapete binucleado (Bn) y capa media en proceso de degeneración. 11. Corte longitudinal del microsporangio mostrando la formación de una sola hilera de microsporas (flecha). 12 y 13. Cortes transversales del microsporangio mostrando la tétrada (Tm) tetraédrica de microsporas rodeadas de calosa (Ca).



Figuras 14-19. Granos de polen de la flor masculina. 14. Corte transversal de microsporangio. Se observan granos de polen jóvenes (flecha) recién liberados de la tétada. 15. Corte transversal de microsporangio. La capa media y el tapete han sido reabsorbidos, y los granos de polen unicelulares muestran la síntesis de la pared de la exina (Ex). 16. Corte transversal de microsporangio mostrando los cuerpos de Ubisch (U) aportando esporopolenina para la síntesis de la exina del grano de polen. 17. Grano de polen unicelular antes de la primera división mitótica. 18. Grano de polen mostrando la célula vegetativa (Cv) y la célula generatriz (Cg). 19. Grano de polen tricelular. Se observan la célula vegetativa y dos células espermáticas (Ce).

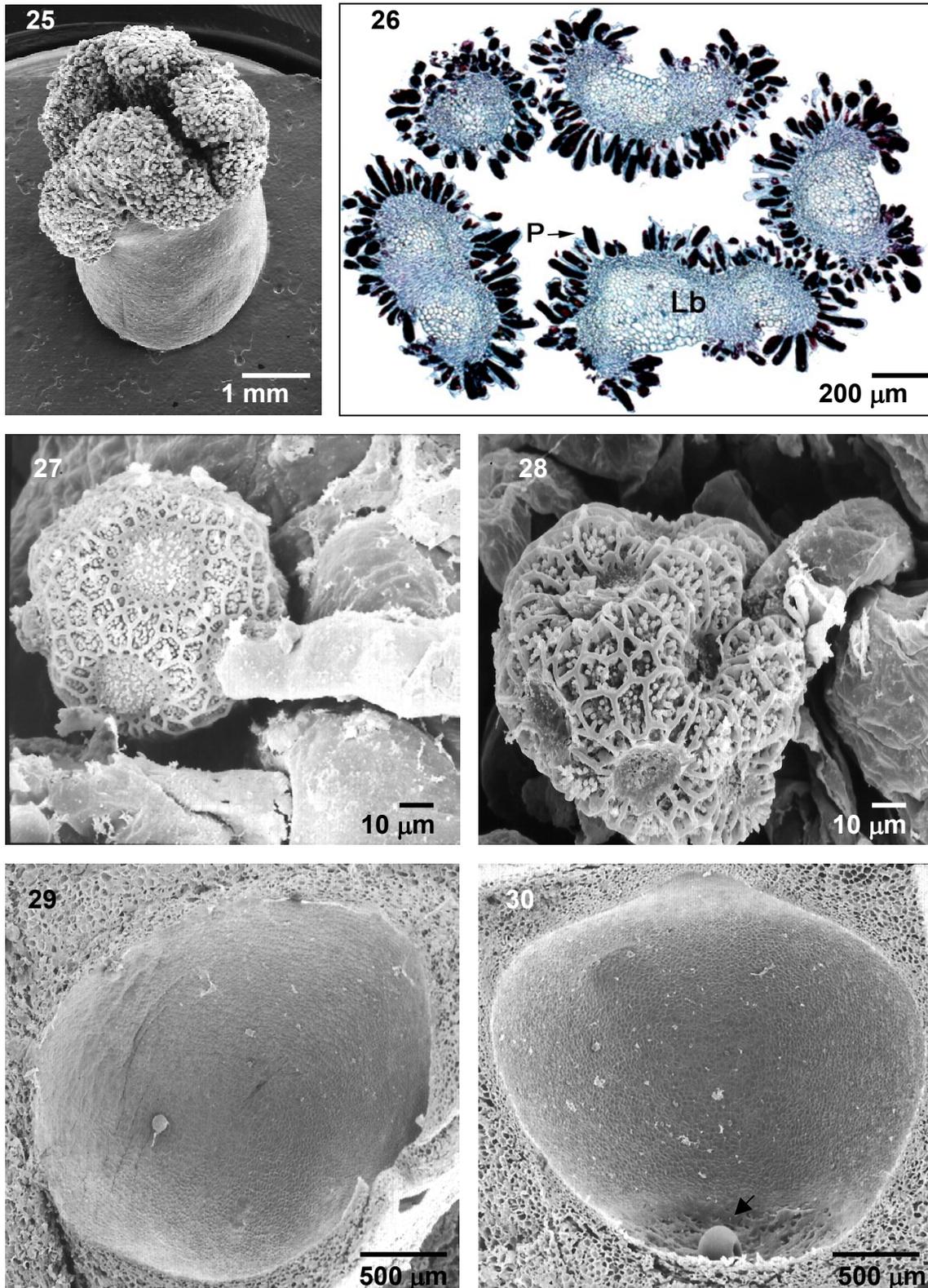


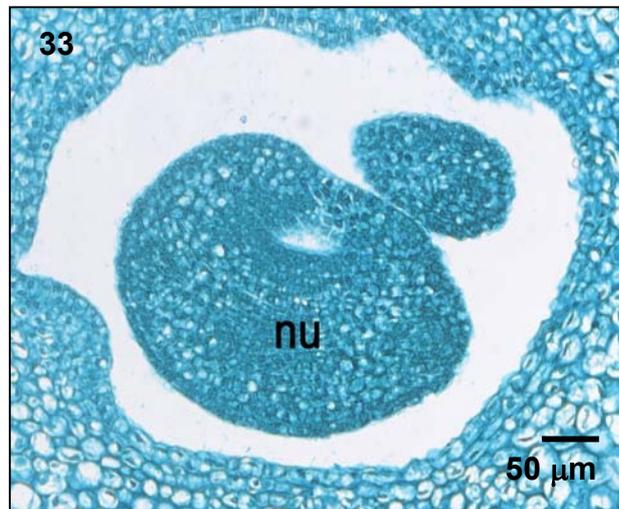
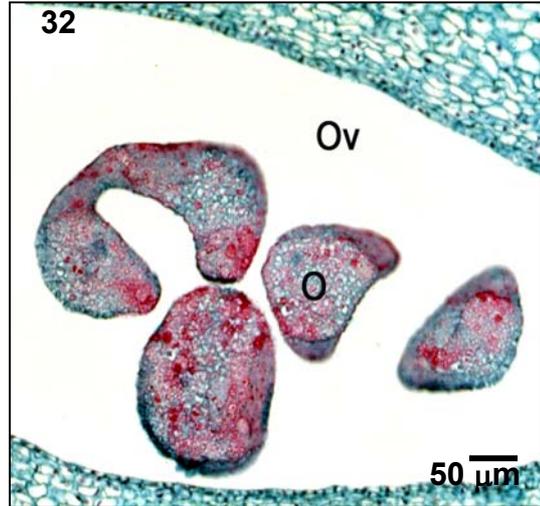
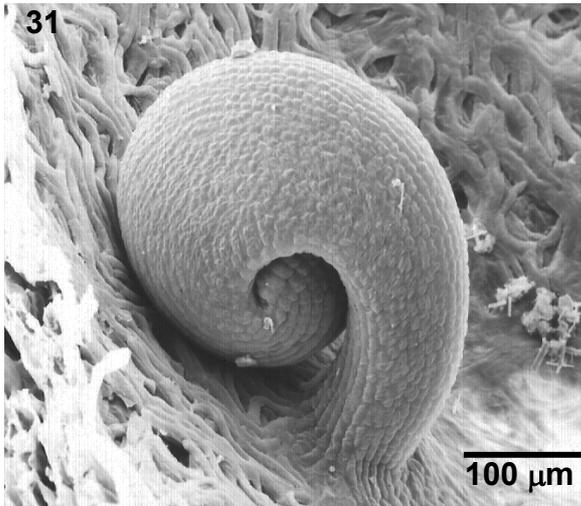
Figuras 20-24. Grano de polen de la flor masculina. 20. Corte transversal de antera. Se observan los granos de polen (GP) tricelulares. El endotecio (En) desarrolla engrosamientos en sus paredes celulares. La flecha señala la epidermis adelgazada en la región del estomio. 21. Corte transversal de antera mostrando la región del estomio (e) bien formada antes de la dehiscencia. 22. Anteras con dehiscencia longitudinal. 23. Polen maduro de la flor masculina. Se observa la exina subtectada, reticulada heterobracada y poros con membrana verrugada. 24. Se observa la exina subtectada, reticulada heterobracada y poros con membrana verrugada.

DESARROLLO DEL GINECEO

El estigma de las flores masculinas presenta reducción en tamaño y número de lóbulos estigmáticos (Fig. 25), generalmente tiene de 3 a 5 lóbulos estigmáticos rectos y cerrados que convergen en la zona basal (Fig. 26). Éstos están formados por papilas secretoras en donde los granos de polen germinan penetrando las papilas (Figs. 27 y 28). Lo anterior sugiere que el estigma de la flor masculina es receptivo, aunque no se sabe hasta donde crecen los tubos polínicos. El tejido de transmisión se observa con células alargadas parecidas a las papilas estigmáticas rodeando el estilo hueco de la flor masculina. Aunque el estilo de la flor masculina aparenta un desarrollo normal, tiene un menor diámetro que el de la flor femenina y presenta menos haces vasculares, uno por cada lóbulo estigmático.

Por lo general, la cámara ovárica de la flor masculina no contiene óvulos (Fig. 29), pero en casos excepcionales se encontraron primordios de óvulos en la parte basal del ovario (Fig. 30). Estos primordios ovulares se observaron en flores en etapa de anthesis, por lo que nunca alcanzan la etapa de óvulo maduro (Fig. 31). Los cortes histológicos mostraron que estos óvulos están atrofiados con crecimiento amorfo de la nucela (Figs. 32 y 33).





Figuras 31-33. Óvulos. 31. Óvulo inmaduro de la flor masculina en antesis. Se distingue al menos uno de los primordios tegumentarios. 32 y 33. Cortes transversales de ovario (Ov) mostrando óvulos (O) abortivos en etapas tempranas de desarrollo. Se observa el tejido nucelar (nu) con crecimiento amorfo.

FLOR FEMENINA

DESARROLLO DEL GINECEO

La flor femenina presenta un estigma húmedo bien desarrollado, con 10 a 12 lóbulos estigmáticos (Figs. 34 y 35). Las papilas del estigma presentan abundantes secreciones y sobre ellas se observan granos de polen germinando (Figs. 36-38). El estilo es hueco con gran cantidad de células papilosas en la epidermis interna, con el tejido de transmisión adyacente, además, es corto y de mayor diámetro comparado con el de la flor masculina (Fig. 39).

Desarrollo del óvulo

A partir de la placenta surgen los primordios de óvulos. La célula arqueosporial en posición subepidérmica se divide para formar a la célula parietal que continuará formando a la nucela y a la célula madre de las megasporas. En las etapas más tempranas del desarrollo que se observaron demuestran que los tegumentos surgen como pequeñas protuberancias a partir de la epidermis nucelar en el momento en que se diferencia la célula madre de las megasporas (Fig. 40). El primordio del óvulo comienza a curvarse y la célula madre de las megasporas empieza a prepararse para la meiosis (Fig. 41), aumenta significativamente de tamaño, adquiere forma alargada y su citoplasma se hace cada vez más denso (Fig. 42).

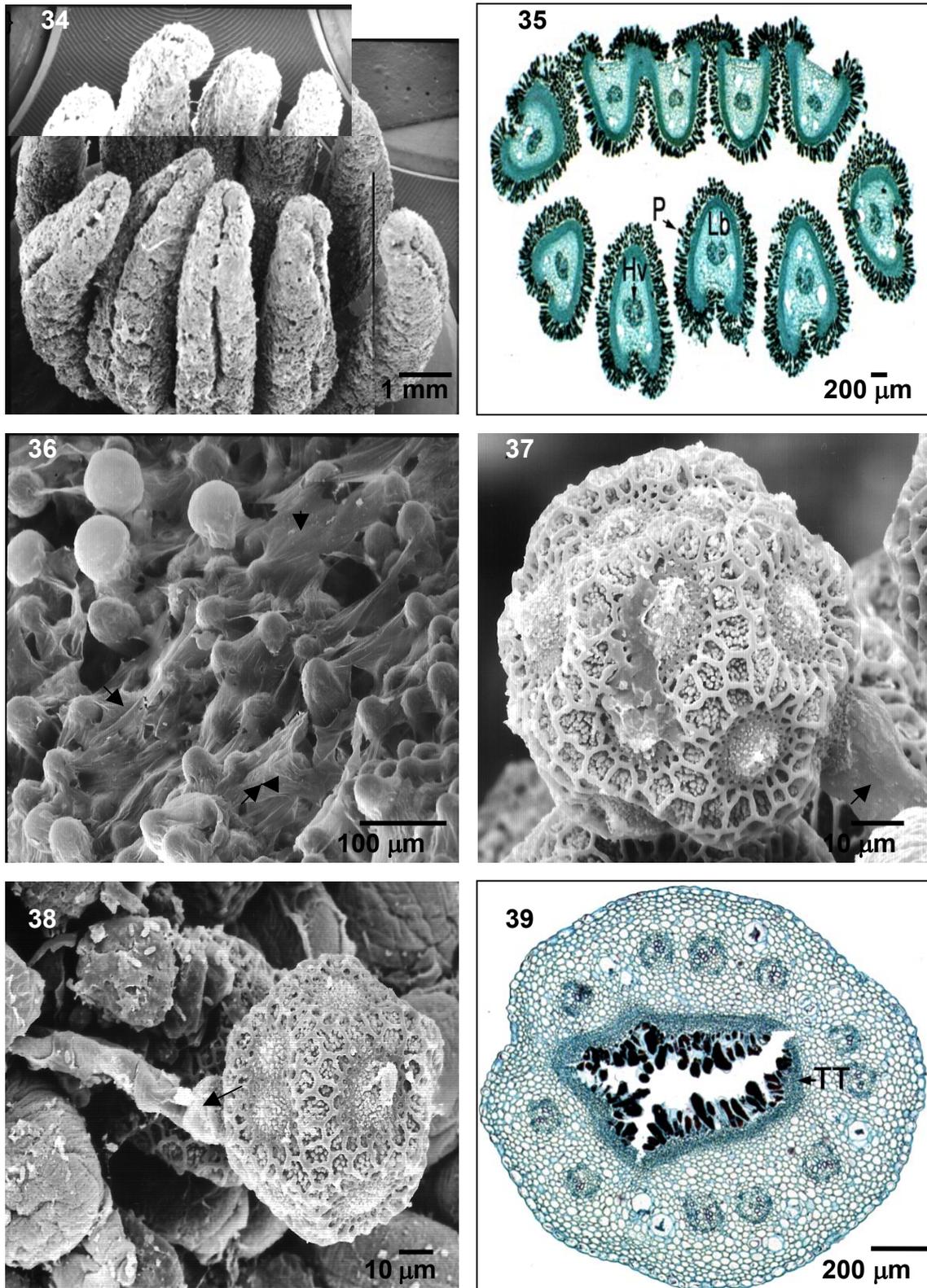
La curvatura del óvulo desde el inicio de su desarrollo se debe principalmente al crecimiento asimétrico de los tegumentos, hay un mayor número de divisiones anticlinales en la parte dorsal que en la ventral.

La célula madre de las megasporas entra en meiosis y después de la primera división, forma una díada (Fig. 43), la célula en posición micropilar no entra a meiosis II, mientras que la célula en posición calazal completa la meiosis II dando como resultado dos núcleos haploides, por lo tanto se observa una tríada lineal de megasporas (Fig. 44). La megaspóra funcional calazal da lugar al megagametofito y las megasporas restantes degeneran (Fig. 45). La formación del saco embrionario es de tipo monospórico, es decir, ocurren tres divisiones mitóticas de la megaspóra funcional hasta formar un saco embrionario octanucleado de tipo *Polygonum*.

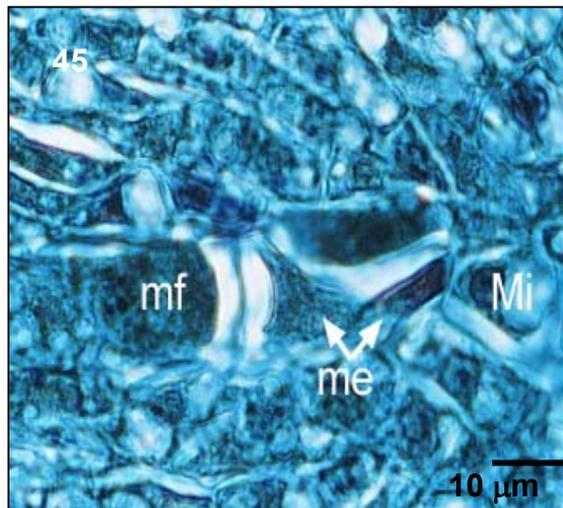
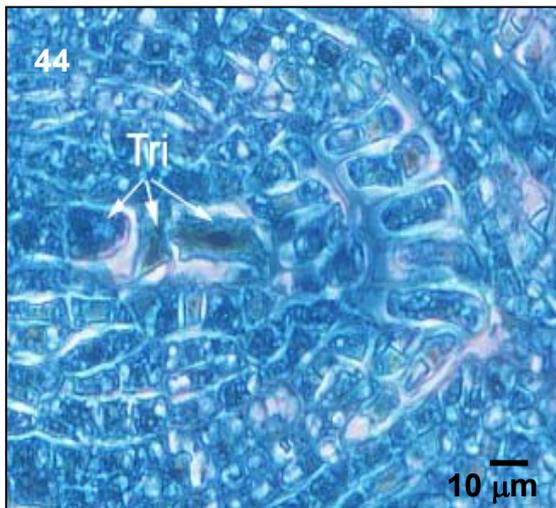
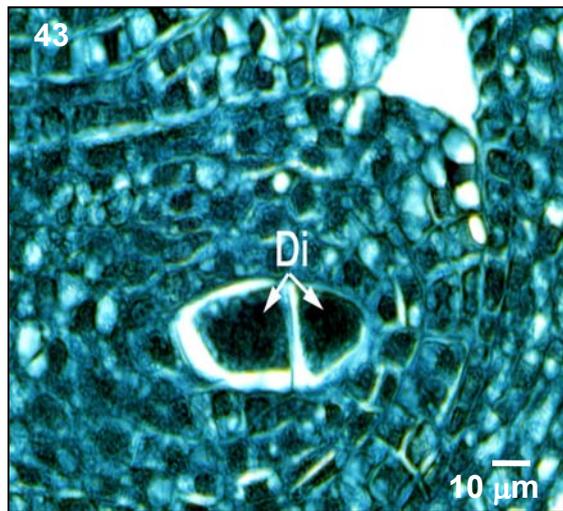
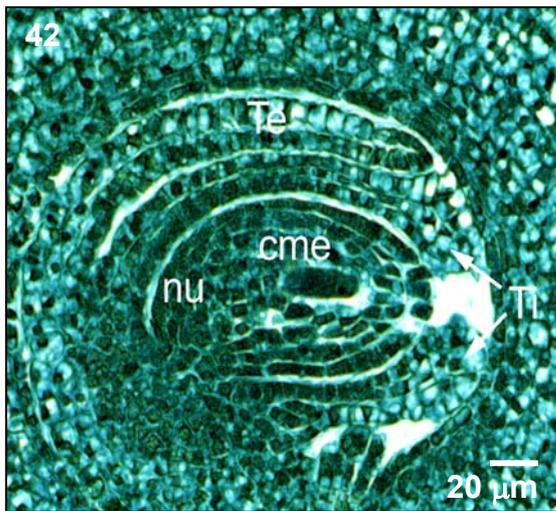
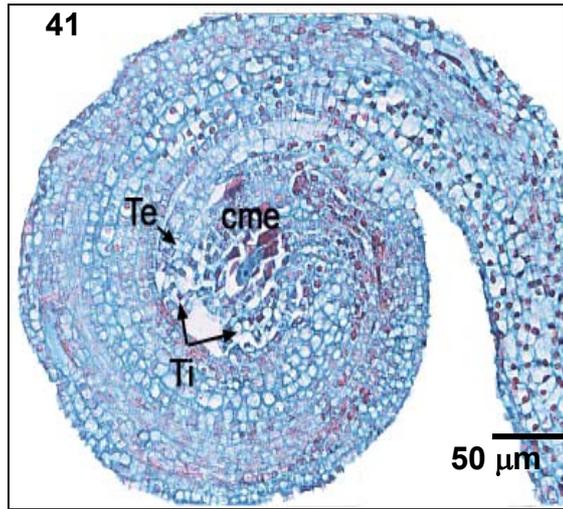
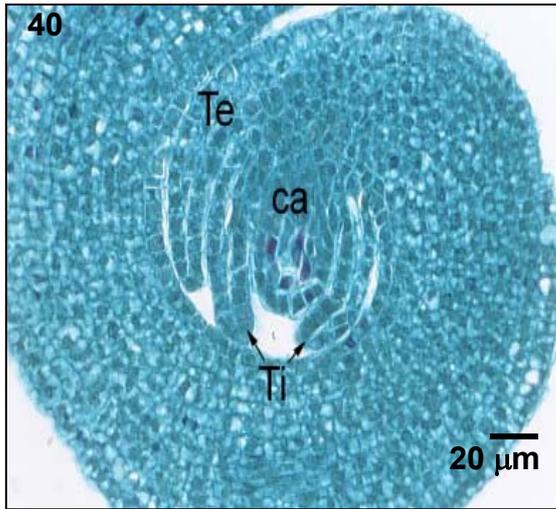
En el momento que la megaspóra funcional se prepara para dividirse mitóticamente, la nucela está totalmente cubierta por los tegumentos y el micrópilo se encuentra en una posición cercana al funículo. Los tegumentos son biestratificados, aunque el tegumento interno es pluriestratificado en la zona micropilar.

Las células antípodas son efímeras y sólo pueden ser observadas en etapas tempranas de desarrollo del saco embrionario. Las células que forman el saco embrionario en etapas cercanas a la antesis son: dos sinérgidas, la ovocélula y la célula central con dos núcleos polares. Los núcleos polares están rodeados de granos de almidón. Las sinérgidas tienen forma de pera y presentan un citoplasma denso con una gran vacuola hacia la región chalazal, el núcleo hacia la región micropilar, y un aparato filiforme conspicuo. La ovocélula y las sinérgidas conforman el aparato del huevo localizado en el extremo micropilar (Fig. 46).

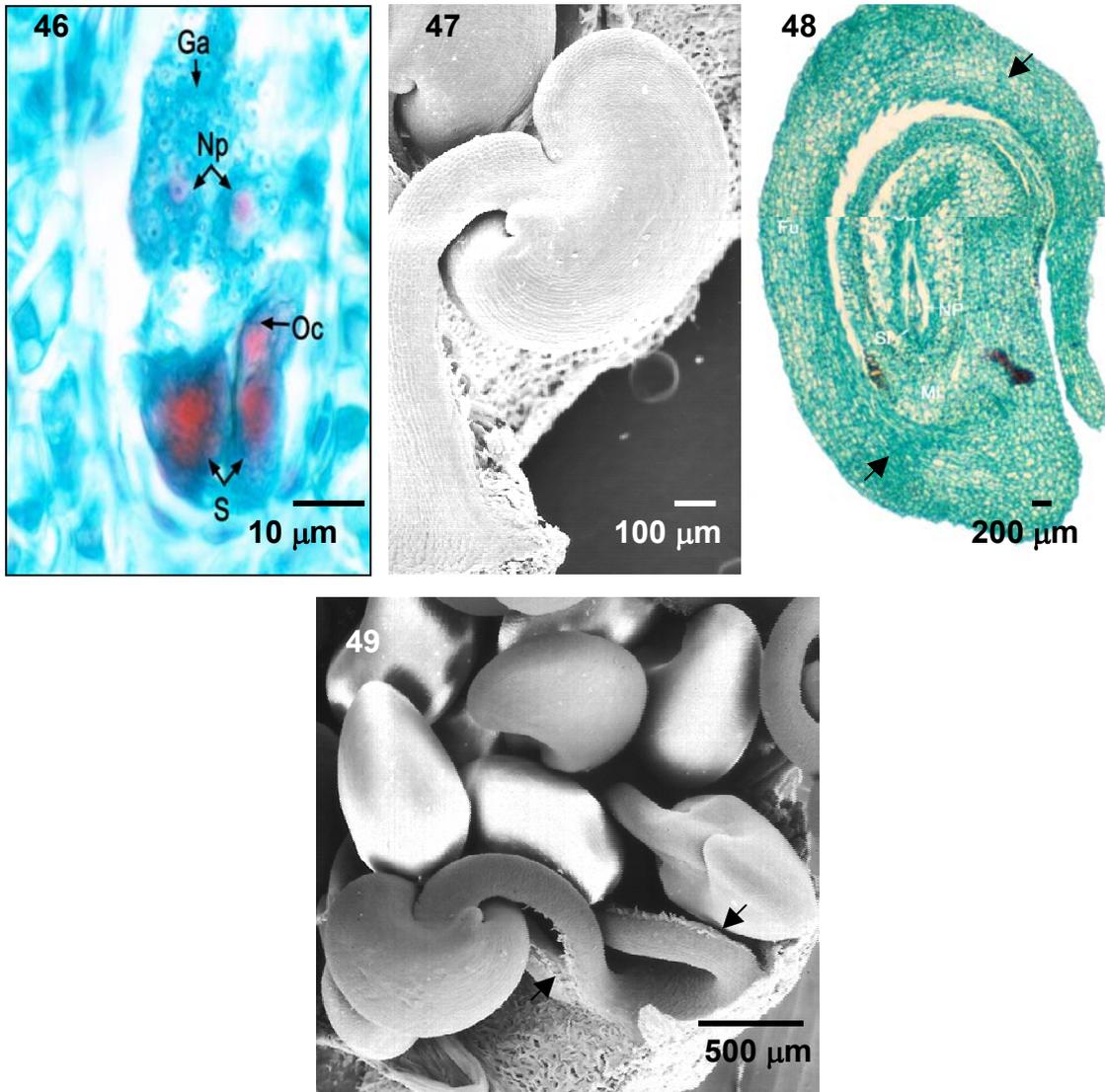
El óvulo maduro de *Opuntia robusta* es campilótropo, bitégmico y crasinucelado (Fig. 47). El micrópilo es formado por el tegumento interno, por lo cual es endóstomo. Entre los tegumentos se observa un espacio aéreo en la región más cercana a la cálaza (Fig. 48). El funículo es largo y presenta tricomas en su parte más ventral, además, se ensancha en su parte lateral y se fusiona con la base del mismo funículo (Fig. 49).



Figuras 34-39. Estigma y estilo de la flor femenina. 34. Estigma mostrando diez lóbulos estigmáticos. 35. Corte transversal de lóbulos estigmáticos (Lb) mostrando las papilas (P), cada lóbulo estigmático muestra un haz vascular en el centro (Hv). 36. Papilas estigmáticas con exudado (flecha). 37 y 38. Granos de polen germinando sobre las papilas estigmáticas. La flecha indica el tubo polínico. 39. Estilo hueco. Se observan células papilosas alargadas en la epidermis interna del estilo, subyacente a esa epidermis se observan varios estratos del tejido de transmisión (TT).



Figuras 40-45. Desarrollo de los óvulos, megasporogénesis y megagametogénesis en la flor femenina 40. Corte longitudinal de primordio de óvulo mostrando el desarrollo del tegumento interno (Ti) y del tegumento externo (Te). Se observa a la célula arquesporial (ca) rodeada por el tejido nucelar. 41 y 42. Cortes longitudinales de óvulo. La célula madre de la megaspora (cme) es grande, conspicua y se encuentra rodeada por la nucela (nu) y por los tegumentos biestratificados. 43. Corte longitudinal de óvulo mostrando la díada de megasporas (Di). 44. Corte longitudinal de óvulo mostrando la triada de megasporas (Tri). 45. Corte longitudinal de óvulo. La megaspora funcional (mf) se encuentra hacia la región calazal, mientras que las megasporas abortivas (me) se encuentran hacia la región micropilar (Mi).



Figuras 46-49. 46. Corte longitudinal de óvulo. Saco embrionario donde se observan las dos sinérgidas (s), la ovocélula (Oc) y la célula central con dos núcleos polares (Np), esta última se observa rodeada de granos de almidón (Ga). 47. Óvulo campilótropo de la flor femenina. 48. Corte longitudinal de óvulo crasinucelado, bitégmico y campilótropo rodeado por el funículo (flechas). 49. Cámara ovárica de la flor femenina con gran cantidad de óvulos en la placenta de origen parietal. Se observa el funículo con tricomas en la parte ventral (flechas).

DESARROLLO DE LA ANTERA

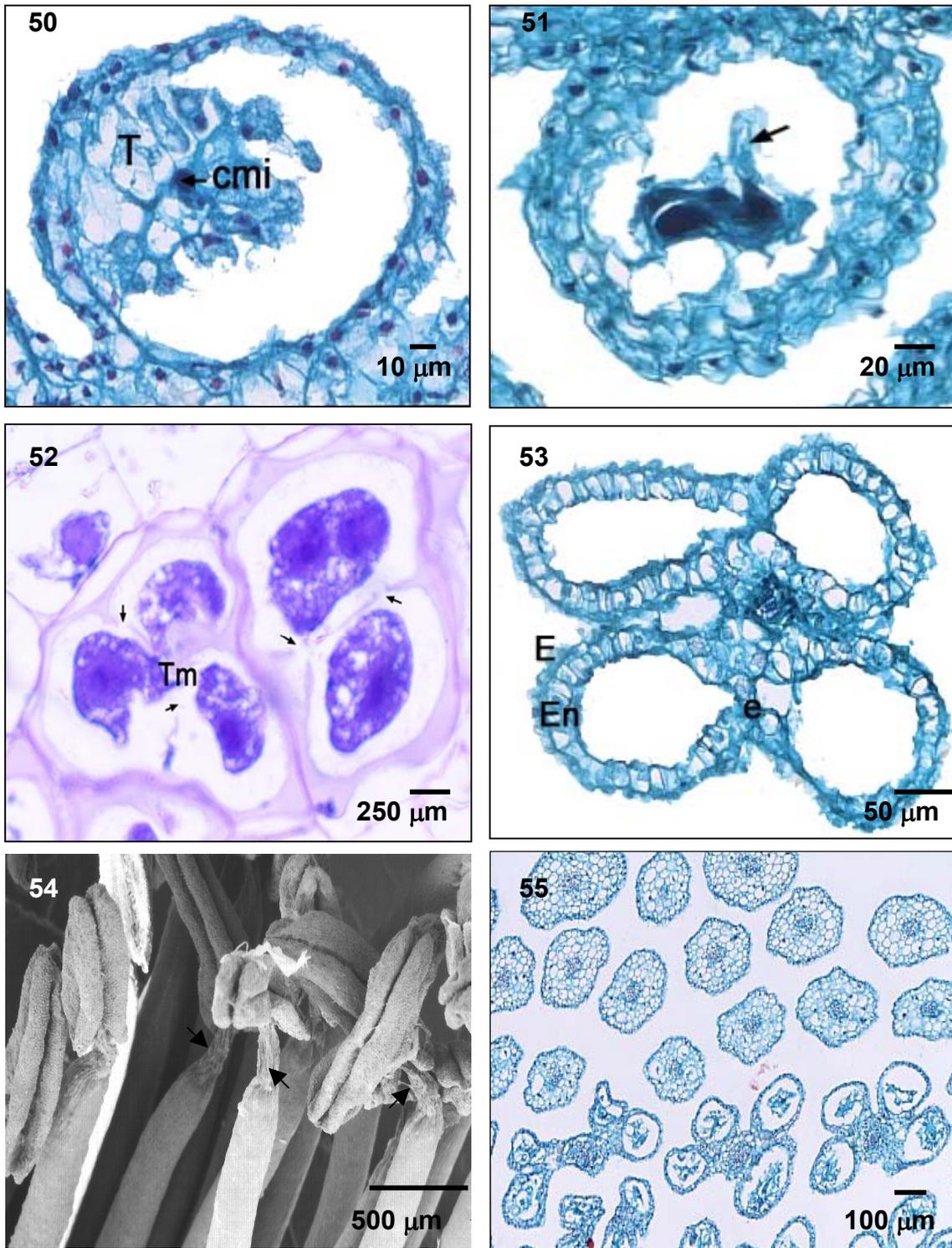
En las etapas de desarrollo más tempranas que se observaron, la pared de la antera está formada por cuatro capas uniestratificadas: epidermis, endotecio, capa media y tapete. Esta última capa se encuentra dispuesta en el centro del microsporangio, rodeando a las células madres de las microsporas (Fig. 50). La antera joven es bilobulada, tetrasporangiada y con drusas en el tejido conectivo.

Previo a la meiosis de la célula madre de la microspora, las células del tapete duplican su tamaño, son uninucleadas, con citoplasma denso y tienen forma cúbica. La capa media y el tapete son reabsorbidos y desaparecen cuando la antera está madura. La capa media se constriñe durante la primera división meiótica y el tapete se vacuoliza e hipertrofia y comienza a degenerar durante la meiosis de las células madres de las microsporas (Fig. 51). En anthesis, las anteras están vacías, la pared de la antera sólo conserva epidermis y endotecio, es tetrasporangiada e indehiscente, pues la región del estomio no alcanza a desarrollarse por completo (Fig. 53).

En la flor femenina, el filamento del estambre se observa colapsado en su parte apical (Fig. 54). En cortes histológicos los filamentos tienen células parenquimáticas con vacuolas grandes y los haces vasculares colapsados (Fig. 55) comparados con los filamentos de la flor masculina en las que no hay estos cambios.

Microsporogénesis

Las células esporógenas se dividen mitóticamente y se diferencian en células madre de las microsporas. Para iniciar la meiosis cada célula madre de la microspora se rodea de una pared de calosa, sin embargo, esta pared de calosa no se desarrolla por completo y se observan díadas, tríadas y tétradas de microsporas (Fig. 52). Para este momento, las paredes de calosa no se sintetizan completamente y la tétrada de microsporas presenta anomalías, se colapsa y finalmente degenera antes de que se degrade la calosa que se formó alrededor de ella.



Figuras 50-55. Desarrollo de la antera en la flor femenina. 50. Corte transversal de microsporangio mostrando células madre de las microsporas (cmi) y células del tapete (T) altamente vacuoladas. 51. Microsporangio en etapa de meiosis con tapete colapsado. 52. Corte transversal de microsporangio. Comienzan a formarse las tétradas de microsporas (Tm), sin embargo, las paredes de calosa no se sintetizan por completo (flechas). 53. Corte transversal de antera en etapa cercana a la antesis. La antera se encuentran vacía e indehiscentes; la pared de la antera consta de epidermis (E) y endotecio (En). La región del estomio (e) no alcanza a formarse por completo. 54. Anteras indehiscentes con la parte apical del filamento colapsado. 55. Corte transversal de anteras y filamentos de la flor femenina. Las células de la parte apical de los filamentos se observan muy vacuoladas y el haz vascular está reducido.

DISCUSIÓN

La población dioica de *Opuntia robusta* de la presente investigación se encuentra en una zona erosionada por el pastoreo excesivo, en un lugar abierto. En la última colecta realizada en el 2004 se observó que esta población estaba quemada por la inducción del hombre, posiblemente para favorecer el pastoreo del ganado caprino, para formar sembradíos, o quizás para la construcción de nuevas viviendas, pues se observó maquinaria para remoción de escombros. Estas características del hábitat también se han observado en las poblaciones dioicas estudiadas por Del Castillo (1986), lo que sugiere que la actividad humana y el pastoreo han favorecido el establecimiento de *O. robusta*.

Desde el punto de vista ecológico el fuego provocado por causas naturales permite el establecimiento de nuevas especies (Ricklefs, 1996), como ocurre en algunas especies del género *Opuntia*, debido a la exitosa propagación vegetativa que las caracteriza (Del Castillo, 1986). Sin embargo cuando el fuego es causado por el hombre sin ningún tipo de control, puede devastar poblaciones de ésta y otras especies (Margalef, 1974). En la población de *O. robusta* estudiada se observó que el fuego inducido por el hombre provocó gran mortalidad de esta y otras especies; sin embargo, de las partes de *O. robusta* que sobrevivieron se observaron retoños que con el tiempo podrían incrementar la propagación vegetativa, permitiendo la regeneración de la población gracias a la poca competencia intra e interespecífica que existe ya que no son muchas las especies de *Opuntia* alrededor.

En cuanto a la polinización, las abejas forman el grupo de polinizadores más importante, responsable de la polinización de plantas en mayor grado que cualquier otro grupo animal. Estos insectos poseen piezas bucales, pelos en el cuerpo y otros apéndices con adaptaciones especiales que les permiten recoger y transportar polen (Raven, 1999). Antagónicamente, los coleópteros y las hormigas no son importantes polinizadores debido a que no poseen adaptaciones tan especializadas como las abejas para transportar polen (Raven, 1999; Pimienta-Barríos, 2002). En *O. robusta* se observaron coleópteros y hormigas deambulando dentro de una misma flor, alimentándose de néctar, polen y partes florales como tépalos. Por otra parte, se observaron abejas y abejorros con polen en los pelos de su cuerpo, visitando flores masculinas y femeninas, probablemente llevando a cabo la polinización cruzada, lo que sugiere que estos insectos intervienen como polinizadores de esta especie.

Morfológicamente las flores de *O. robusta* son bisexuales desde el inicio de la ontogenia. Sin embargo en la anthesis son funcionalmente unisexuales formando una población dioica. La flor masculina no desarrolla por completo el gineceo y muestra un ovario reducido sin óvulos en su interior, aunque ocasionalmente se encontraron primordios de óvulos en la parte basal del ovario, los cuales no alcanzan la madurez. La flor femenina no desarrolla por completo el androceo y las anteras son indehiscentes sin polen en su interior. Otras especies de la subfamilia Opuntioideae con funcionalidad unisexual que también muestran remanentes del sexo opuesto son: *Opuntia sanfelipensis* y *Opuntia wolfii* con anteras abortivas, *Consolea spinosissima* y *Opuntia stenopetala* con anteras indehiscentes, y *Opuntia quimilo* con anteras dehiscentes, de las cuales en ninguna se encontraron granos de polen, mostrando flores funcionalmente femeninas (Rebman, 1988; Orozco, 2002; Strittmatter *et al.*, 2002; Díaz y Cocucci, 2003). En *C. spinosissima* los lóbulos estigmáticos están cerrados y *O. stenopetala* desarrolla un estilodio carente de lóbulos estigmáticos, ambas especies tienen óvulos abortivos por lo cual sus flores son funcionalmente masculinas (Orozco, 2002; Strittmatter *et al.*, 2002).

SISTEMA REPRODUCTIVO EN CACTÁCEAS Y EN *Opuntia robusta*

La reproducción sexual es compleja y diversa comparada con la reproducción asexual. Las cactáceas presentan diversos sistemas reproductivos, tanto asexuales como sexuales; dentro de los sexuales se pueden encontrar sistemas hermafroditas, dioicos, ginodioicos, androdioicos y trioicos (Bravo-Hollis, 1978, Del Castillo, 1986; Leuenberger, 1986; Areces-Mallea, 1992; Hoffman, 1992; Valiente-Banuet *et al.* 1997; Orozco, 2002; Strittmatter *et al.*, 2002; Núñez, 2004; Baker, 2006; Sánchez, 2007), mientras que en los asexuales existe la apomixis (Pimienta-Barrios y Del Castillo, 2002; Aguirre *et al.*, 2004) y la propagación vegetativa (Arreola, 1997; Rebman y Pinkava, 2001; Pimienta-Barrios y Del Castillo, 2002).

Gracias a las investigaciones embriológicas se han podido establecer los eventos y etapas ontogenéticas en las cuales las estructuras reproductivas masculinas y femeninas presentan cambios o alteraciones que han llevado a la unisexualidad. En esta situación se encuentran *Consolea spinosissima* (Strittmatter *et al.*, 2002), *C. rubescens* (Strittmatter y Negrón-Ortiz, 2000), *Opuntia stenopetala* (Orozco, 2002), *Pachycereus pringlei* (Fleming *et al.*, 1994) y *Mammillaria dioica* (Sánchez, 2007). Sin embargo, de las especies *Pereskia marcanoi* (Areces-Mallea, 1992), *P. portulaciflora*, *P. quisqueyana*, *P. zinniflora* (Leuenberger, 1986), *Opuntia quimilo* (Díaz y Cocucci, 2003), *O. quitensis*, (Anderson, 2001), *O. sanfelipensis*, *O. molesta* (Rebman y

Pinkava, 2001), *O. calmalliana*, *O. wolfii* (Rebman, 1998), *Echinocereus coccineus* (Hoffman, 1992), *E. yavapaiensis* (Baker, 2006), *Mammillaria neopalmeri* (Lindsay y Dawson, 1952) y *Neobuxbaumia mezcalaensis* (Valiente *et al.*, 1997) no se conocen con precisión el conjunto de posibles causas embriológicas que los han llevado a la unisexualidad. En el Laboratorio de Desarrollo en Plantas de la Facultad de Ciencias, UNAM, se está estudiando la embriología de *P. portulaciflora*, *N. mezcalaensis* y *Pachycereus fulviceps* (S. Vázquez com. pers.), con el objetivo de conocer con certeza el sistema reproductivo que presentan y los detalles del desarrollo embriológico que tienen que ver con el establecimiento de la unisexualidad funcional.

De acuerdo con la distribución, dispersión y procesos de propagación vegetativa las opuntias son el género más exitoso dentro de las cactáceas (Pimienta-Barrios y Del Castillo, 2002; Aguirre *et al.*, 2004). Al parecer este éxito se debe fundamentalmente a la estrecha asociación que hay con los animales durante los procesos reproductivos y de propagación. De igual forma, los eventos relacionados con el éxito ecológico y evolutivo son explicados en términos de la riqueza en la combinación de diversas estrategias reproductivas (Aguirre *et al.*, 2004).

El desarrollo de los sistemas reproductivos obligados a la reproducción cruzada da ventajas adaptativas a la reproducción sexual en *Opuntia* y en otras angiospermas, con el mantenimiento de la variabilidad genética en las especies, como puede ser el caso de los sistemas dioicos (Pimienta-Barrios y Del Castillo, 2002). Varios de los diferentes sistemas reproductivos sexuales y asexuales que existen en las angiospermas han sido reportados para el género *Opuntia*. La mayoría de las especies de este género son hermafroditas, sin embargo, sistemas reproductivos dioicos, trioicos y ginodioicos también existen dentro de las opuntias (Bravo-Hollis, 1978; Del Castillo, 1986; Rebman, 1998; Anderson, 2001; Orozco, 2002; Díaz y Cocucci, 2003; Flores, 2005).

Se ha observado que *Opuntia robusta* presenta poblaciones hermafroditas, dioicas y trioicas (Del Castillo, 1986; Bravo-Hollis, 1978); mientras que la población de esta investigación presenta un sistema reproductivo dioico. Este sistema también fue observado por Del Castillo (1986) y Del Castillo y González (1988) en las poblaciones de Mexquitic ladera norte, Sierra de San Miguelito, El Tepetate y El Palmar en el Estado de San Luís Potosí, y Huayacotla en el Estado de Hidalgo. Los sistemas reproductivos observados sugieren que en esta especie, cada población se caracteriza por presentar su propio sistema reproductivo. Asimismo, la población estudiada

comparte el sistema reproductivo con otras cactáceas, dentro de las cuales están *Opuntia stenopetala*, *Mammillaria dioica*, *Pereskia marcanoi*, *P. portulaciflora*, *P. zinniflora*, *O. grandis*, *O. glaucescens*, *O. quitensis*, *C. corallicola*, *C. rubescens*, *Echinocereus coccineus* y *E. yavapaiensis* (Bravo-Hollis, 1978; Leuenberger, 1986; Areces-Mallea, 1992; Hoffman, 1992; Negrón-Ortiz, 1998; Rebman, 1998; Anderson, 2001; Orozco, 2002; Flores, 2005; Baker, 2006)

ORIGEN DE LA UNISEXUALIDAD EN CACTÁCEAS Y EN *Opuntia robusta*

De las 25 especies de cactáceas conocidas con dimorfismo sexual, no todas mantienen una estrecha relación filogenética, por lo que se considera que la unisexualidad ha surgido varias veces de manera independiente en esta familia (Orozco, 2002; Núñez, 2004). Las flores unisexuales pueden presentar dos tipos de flores unisexuales. El primero es aquel donde las flores en antesis son completamente unisexuales desde el inicio del desarrollo o bien que tengan una fase inicial bisexual y después por atrofia se vuelvan unisexuales. En *Selenicereus innesii* se ha dicho que no existe ningún remanente de alguno de los sexos, sin embargo estos reportes no han sido confirmados con desarrollo floral (Kimnach, 1982). El segundo tipo implica que puede ocurrir que una o varias mutaciones afecten la funcionalidad de alguno de los verticilos sexuales, formando flores unisexuales con remanentes del sexo opuesto, simulando morfológicamente flores perfectas (Lewis, 1942; en Bawa, 1980; Charlesworth y Guttman, 1999), lo cual es lo más común en las pocas especies estudiadas de la familia Cactaceae.

Casi todas las cactáceas han sido reportadas con el patrón morfológico de flores funcionalmente unisexuales con remanentes del sexo opuesto, lo que parece indicar que han evolucionado a partir de un ancestro hermafrodita, aunque no se descartan vías intermedias (trioicas, androdioicas o ginodioicas) que culminen en el dioicismo funcional. Debido a lo antes mencionado, es importante conocer las características morfológicas, ecológicas, genéticas, moleculares y embriológicas, entre otras, en especies unisexuales, para poder relacionarlas filogenéticamente y hacer conjeturas fidedignas acerca del ancestro de las flores unisexuales.

Por la presencia de ambos verticilos sexuales, pero la función de sólo uno de ellos, se podría pensar que las flores presentan labilidad sexual, es decir, que en un episodio floral existe la función de un sexo (femenina o masculina) mientras que en el siguiente episodio cambia la función al sexo opuesto (Del Castillo, 1986; López, 2004). Sin embargo, no hay evidencias de este fenómeno en la familia Cactaceae. Por ejemplo,

en *O. robusta* se trató de observar la labilidad sexual, pero los resultados indican que esta especie no tiene cambios en la sexualidad de un episodio reproductivo a otro, las plantas fueron marcadas para identificar su sexo, después de dos años se encontró que el sexo de las plantas correspondía a las marcas hechas con anterioridad. Asimismo, Orozco (2002) marcó en el campo a los individuos masculinos y femeninos de *O. stenopetala* para facilitar su reconocimiento en colectas posteriores y a lo largo de seis años de revisión no se encontraron cambios en la función sexual de los individuos marcados.

DETERMINACIÓN DEL SEXO FLORAL

Antera de la flor femenina

De acuerdo a la bibliografía consultada no existen un patrón general de desarrollo de flores masculinas debido a que la unisexualidad se establece en diferentes etapas del desarrollo, incluso en *Selenicereus innesii*, aunque no hay reportes confiables, se puede pensar que las flores pueden ser unisexuales desde el inicio del desarrollo (Kimnach, 1982).

Comparando el desarrollo de la antera en las flores femeninas de las especies de cactáceas con flores unisexuales se encuentran diferencias en los patrones de desarrollo. *O. robusta* presenta ciertas diferencias en la determinación de la esterilidad masculina en la flor femenina con respecto a *Opuntia stenopetala*, *Consolea spinosissima*, *Mammillaria dioica* y *Pachycereus pringlei* (Orozco, 2002; Strittmatter *et al.*, 2002; Núñez, 2004; Sánchez, 2007).

El desarrollo de la pared de la antera en la flor femenina de *O. robusta* es de tipo monocotiledóneo, es decir, está formada por cuatro capas uniestratificadas: epidermis, endotecio, capa media y tapete. En las flores femeninas de *C. spinosissima* y *O. stenopetala*, así como las bisexuales de *M. dioica* se ha observado el mismo tipo de desarrollo de la pared de la antera (Orozco, 2002; Strittmatter *et al.*, 2002; Sánchez, 2007). En las flores femeninas de *M. dioica* las anteras presentan una capa biestratificada del tapete (Sánchez, 2007).

En *O. robusta* las células del tapete degeneran después de haberse formado la tétrada de microsporas, y en anthesis la pared de la antera sólo conserva la epidermis y el endotecio. En *O. stenopetala* las células del tapete degeneran antes de que se forme la tétrada de microsporas, mientras que en *C. spinosissima* la degeneración del tapete ocurre después de la profase I. Aunque la degeneración del tapete de estas especies

sucede en diferentes etapas del desarrollo, en antesis las anteras no contienen polen y son indehiscentes.

La esterilidad masculina en la flor femenina de *O. robusta* sucede después de la meiosis; en principio las microsporas forman tétradas pero posteriormente éstas degeneran. En etapas más avanzadas las anteras se observan vacías. En *O. stenopetala* la esterilidad masculina sucede en la etapa de células madre de las microsporas, misma que no presenta meiosis (Orozco, 2002; Flores, 2005). La esterilidad masculina de *C. spinosissima* ocurre cuando la células madre de las microsporas se encuentran en profase I (Strittmatter *et al.*, 2002). En *M. dioica* la mayoría de las células madre de las microsporas degeneran al inicio de la meiosis, y las pocas que alcanzan la meiosis I no forman granos de polen, por lo tanto, la esterilidad masculina de *M. dioica* se define durante la meiosis I (Sánchez, 2007). En *P. pringlei* se considera que la esterilidad masculina es parcial, pues a pesar de formar algunos granos de polen, las anteras muestran malformaciones durante su desarrollo. Las células madre de las microsporas de *P. pringlei* pueden degradarse antes o durante la meiosis, o bien, formar tétradas e incluso granos de polen uninucleados, amorfos y con la pared de exina delgada y malformada (Núñez, 2004).

En *O. robusta* los filamentos del estambre presentan anomalías en su parte apical, se observan colapsados. Este colapso también se ha observado en los filamentos de *Mammillaria dioica*, *Consolea spinosissima* y *Opuntia stenopetala*, sin embargo, en estas dos últimas especies, se ha observado que también se colapsa el resto del filamento, lo cual no sucede ni en *M. dioica*, ni en *O. robusta*. El colapso de la parte apical de los filamentos podría ser la razón principal por la cual no se forman granos de polen, ya que el colapso no permite que la antera reciba los nutrientes necesarios provenientes del haz vascular (Orozco, 2002; Strittmatter *et al.*, 2002; Sánchez, 2007).

A la par de las investigaciones embriológicas, actualmente se ha propuesto que el aborto de las anteras de las flores femeninas es un evento que obedece a un proceso de muerte celular programada que involucra aspectos bioquímicos, moleculares, fisiológicos, etc., como ocurre en *Heliantus sp* (Balk y Laever, 2001) y en *O. stenopetala* (Flores, 2005). En *O. robusta* este tipo de estudios se encuentra en proceso (I. Alfaro y S. Vázquez, com. pers.).

Óvulos de la flor masculina

De igual manera que en el aborto del androceo de las flores femeninas, también existen diferencias en la determinación de la esterilidad femenina en las flores masculinas de *O. robusta* con respecto a las flores masculinas de *O. stenopetala*, *C. spinosissima* y *P. pringlei*.

El ovario de la flor masculina de *O. robusta* es reducido en comparación con el de la flor femenina, lo mismo ocurre con el ovario de *P. pringlei* (Fleming, 1994) y *O. stenopetala*, aunque algunos individuos de esta última especie puede ser que no desarrollen el ovario (Orozco, 2002).

En *O. robusta* se presentan anomalías en el desarrollo de los óvulos de la flor masculina; en etapas tempranas de desarrollo se observaron óvulos indefinidos sin tejidos celulares no diferenciados; y en anthesis se encontraron primordios de óvulos que no alcanzaron su máximo desarrollo. En *O. stenopetala* los óvulos comienzan a degenerar en etapa de células madres de las megasporas (Orozco, 2002). Los óvulos en *C. spinosissima* se desarrollan con normalidad; sin embargo, en anthesis éstos degeneran sin llegar a formar frutos (Strittmatter *et al.*, 2002). En *P. pringlei* existen diferentes patrones de esterilidad, y aunque algunos frutos de las flores masculinas llegan a formar semillas viables, muchas otras no lo son, ya que sólo son funículos con un crecimiento anormal que así permanecen durante el desarrollo del fruto. En otras semillas, aunque se forman embriones rodeados de nucela (o perispermo), su cubierta seminal no es normal debido a que los tegumentos nunca los cubrieron durante el desarrollo de los óvulos (Núñez, 2004). Se desconoce si esos embriones cubiertos sólo por nucela son producto de la reproducción sexual o por procesos incluso apomícticos.

La megasporogénesis y la megagametogénesis en *O. robusta* tiene características similares a las descritas para otras especies de cactáceas, tiene tegumentos de origen dérmico, triada lineal de megasporas, en donde la megaspora en posición calazal es la funcional y desarrolla un saco embrionario de tipo *Polygonum* (Jhori *et al.*, 1992; Jiménez, 2002; Orozco, 2002; Núñez, 2004; Sánchez, 2007).

Debido a que en el estigma de la flor masculina se observaron granos de polen germinando, actualmente se están realizando investigaciones para establecer el crecimiento y el recorrido de los tubos polínicos a lo largo del gineceo, aunque es de esperarse que no se lleve a cabo la fecundación, ya que en el ovario no hay óvulos

maduros que fecundar (R. Hernández y S. Vázquez, com. pers.). También se está estudiando y comparando detalladamente los tejidos que se encuentran reducidos en el gineceo de las flores masculinas y se determinará si la muerte celular programada juega algún papel en la atrofia de este órgano sexual (I. Alfaro y S. Vázquez, com. pers.).

CONCLUSIONES

La población estudiada de *Opuntia robusta* es unisexual, presenta dos morfos florales, uno masculino y otro femenino. La población tiene un sistema reproductivo funcionalmente dioico debido a que la flor masculina no desarrolla óvulos viables y la flor femenina no desarrolla granos de polen viables, aunque por la conservación de órganos vestigiales a simple vista aparentan ser flores bisexuales.

La flor femenina presenta androceo compuesto de estambres con filamentos colapsados en su parte apical, las anteras de color blanco son indehiscentes y sin granos de polen en su interior. En anthesis, el gineceo presenta lóbulos (10-12) largos y abiertos, el estilo es corto y ancho en su base. El ovario contiene gran cantidad de óvulos campilótopos con placentación parietal. El androceo degenera en un momento posterior a la meiosis de la célula madre de las microsporas y en la formación de tétradas de microsporas, las paredes de calosa no se forman por completo y las microsporas comienzan a colapsarse.

El androceo de la flor masculina está compuesto por estambres y anteras de color amarillo. Las anteras son dehiscentes con polen fértil en su interior. El gineceo presenta lóbulos estigmáticos (3-5) rectos y cerrados, que no se bifurcan por completo, el estilo es alargado y delgado comparado con el de la flor femenina. El estigma, aunque reducido, es funcional porque permite la germinación de granos de polen. El ovario es reducido y por lo general sin óvulos en su interior, sin embargo, algunos individuos llegan a presentar óvulos abortivos o primordios de óvulo en la parte basal del ovario.

LITERATURA CONSULTADA

Aguirre R., J. A. Reyes-Agüero y A. Valiente-Banuet. 2004. Reproductive biology of *Opuntia*: a review. *Journal of Arid Environments*. 64(4): 549-585.

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

Anderson E. 2001. *The cactus family*. Timber Press. Portland.

Areces-Mallea A. E. 1992. *Pereskia marcanoi*, a new species of Cactaceae from Hispaniola. *Brittonia* 44: 423-428.

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

Arias-Guzmán U., S. Arias y P. Dávila. 2003. Catálogo de cactáceas mexicanas. Universidad Nacional Autónoma de México y Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad, México.

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

Baker M. 2006. A new florally dimorphic hexaploid, *Echinocereus yavapaiensis* sp. Nov. (Section *Triglochidiatus*, Cactaceae) from central Arizona. *Plant Systematics and Evolution* 258: 63-83.

Balk J. y Laever C. 2001. The PET-CMS mitochondrial mutation in sunflower is associated with premature programmed cell death cytochrome c release. *Plant Cell* 13: 1803-1818.

Barret S. 1998. The evolution of mating strategies in flowering plants. *Trends in Plant Science* 3: 334-341.

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

- Bawa K. S. y J. H. Beach. 1981. Evolution of sexual systems in flowering plants. *Annals of Missouri Botanical Garden* 68: 254-274.
- Bemis, W. P., J. W. Berry y A. J. Deutschman. 1972. Observation on male sterile *Mammillaria*. *Cactus and Succulent Journal (U.S.)* 44: 256.
- Benson L. 1982. *The cacti of the United States and Canada*. Stanford University Press. Stanford.
- Bhojwani S. y W. Y. Soh. 2001. *Current trends in the embryology of angiosperms*. Kluwer Academic Publishers. Boston.
- Brandegge K. 1897. Notes on Cactaceae-I. Cactae of Baja California. *Erythea* 5 (11): 111-123.
- Bravo-Hollis H. 1978. *Las cactáceas de México*. 2ª edición. Volumen 1. Universidad Nacional Autónoma de México. México.
- Britton, L y N. Rose. 1919. *The Cactaceae*. 2ª ed. Vol. I. Dover Plub. Inc. Nueva York.
- Charlesworth D. y D. Guttman. 1999. The evolution of dioecy and plant sex chromosome system. En: Ainsworth C. (ed.) *Sex Determination in Plants*. Bios Scientific Publishers. Oxford.
- Darwin, C. 1877. *The different forms of flowers on plants of the same species*. Murray. London (reprint en 1986). The University of Chicago Press. Chicago
- Del Castillo R. 1986. La selección natural de los sistemas de cruzamiento de *Opuntia robusta*. Tesis de Maestría. Colegio de Posgraduados. Chapingo. México.
- Del Castillo R. y M. González. 1988. Una interpretación evolutiva del polimorfismo sexual de *Opuntia robusta* (Cactaceae). *Agrociencia* 71: 185-196.
- Dellaporta S. y A. Calderón-Urrea. 1993. Sex determination in flowering plants. *The Plant Cell* 5: 1241-1251.

Díaz L. y A. Cocucci. 2003. Functional gynodioecy in *Opuntia quimilo* (Cactaceae) a tree cactus pollinated by bees and hummingbirds. *Plant Biol.* 5: 531-539.

Eguiarte L., J. Núñez-Farfán, C. Cordero y C. Domínguez. 1999. Biología evolutiva de la reproducción en plantas. En: Eguiarte, L. y J. Núñez-Farfán (eds.). *La evolución biológica*. UNAM, CONABIO. México.

Fleming T. H., S. Maurice, S. L. Buchmann y M. D. Tuttle. 1994. Reproductive biology and relative male and female fitness in a trioecious cactus, *Pachycereus pringlei* (Cactaceae). *American Journal of Botany* 81(7):858-867.

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

Flores R. 2002. Embriología de *Opuntia tomentosa* Salm-Dick var. *tomentosa* Salm-Dick (Cactaceae). Tesis de Licenciatura. Facultad de Ciencias. UNAM.

Flores R. 2005. Esterilidad masculina en *Opuntia stenopetala* (Cactaceae). Tesis de Maestría en Ciencias Biológicas. Facultad de Ciencias. UNAM. México.

Flores-Vindas E. 1999. *La planta estructura y función*. Volumen II. LUR. Costa Rica.

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

Goethe J. W. 1790. *The metamorphosis of plants*: En Álvarez-Buylla R., E. 2002. La diversidad de las formas vegetales. Variaciones sobre un mismo tema. *Ciencias* 65: 19-28.

Gómez S. 2001. *Enciclopedia ilustrada de cactus y otras suculentas*. Mundi-Prensa. España.

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

Hernández H. y H. Godínez. 1994. Contribución al conocimiento de las cactáceas mexicanas amenazadas. *Acta Botánica Mexicana* 26: 33-52.

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

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

Johri B., K. Ambegaokar y P. Srivastava. 1992. *Comparative embryology of angiosperms*. Springer-Verlag. Berlin.

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

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

Lindsay G. y E. Dawson. 1952. *Mammillaria* of the islands off Northwestern Baja California, México. *Cactus and Succulent Journal* 24: 76-84.

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

López M. S. 2004. La evolución de los ajustes facultativos en la proporción sexual en plantas: un estudio con *Begonia gracilis*. Tesis de Doctorado. Instituto de Ecología, UNAM.

Margalef R. 1974. *Ecología*. Omega. Barcelona.

Mauseth, J. D. 1984. Introduction to cactus anatomy, part 11 flower structure. *Cactus and Succulent Journal* 54: 250-255.

Mauseth J. D. 2003. *Botany an introduction to plant biology*. Jones and Bartlett Publishers. Boston.

Miranda F. y E. Hernández. 1963. Los tipos de vegetación de México y su clasificación. *Boletín de la Sociedad Botánica de México* 28: 29–179.

Nobel P. S. 2002. *Cacti biology and uses*. University of California Press. Berkeley.

Negrón-Ortiz V. 1998. Reproductive biology of a rare cactus, *Opuntia spinosissima* (Cactaceae), in the Florida Keys: why is seed set very low? *Sex Plant Reprod* 11: 208-212.

Núñez M. C. 2004. Cactáceas columnares de México: estudio embriológico de cinco especies de la tribu *Pachycereeae*. Tesis de Doctorado. Facultad de Ciencias. UNAM. México.

Orozco A. G. 2002. Sistema reproductivo de *Opuntia stenopetala* Engelmann (Cactaceae). Tesis de Licenciatura. Facultad de Ciencias. UNAM. México.

Orozco A. G. 2005. Clonación de TSL y STY en *Opuntia stenopetala*. Dos genes asociados al desarrollo del estilo y el estigma. Tesis de Maestría en Ciencias Biológicas. Facultad de Ciencias. UNAM. México.

Pimienta-Barrios E. y R. F. Del Castillo. 2002. Reproductive biology. En: Nobel, P. (ed.). *Cacti biology and uses*. University of California Press. Berkeley.

Ramírez, N. y P. E. Berry. 1995. Producción y costo de frutos y semillas entre modos de polinización en 232 especies de plantas tropicales. *Revista de Biología Tropical* 43: 51-159.

Raven H., R. Evert y S. Eichhorn. 1999. *Biology of plants*. Worth Publishers New York. Nueva York.

Rebman J. P. 1998. A new cholla (Cactaceae) from Baja California, México. *Haseltonia* 6: 17-21.

Rebman J. P. y D. J. Pinkava. 2001. *Opuntia* cacti of North America, an overview. *Florida entomologist* 84(4): 474-483.

Renner S. S. y R. E. Ricklefs. 1995. Dioecy and its correlates in the flowering plants. *American Journal of Botany* 82(5): 596-606.

Ross R. 1982. Initiation of stamens, carpels and receptacle in the Cactaceae. *American Journal of Botany* 63: 369-379.

Ricklefs R. 1996. *Ecology*. W. H. Freeman and Company. Nueva York.

Rzedowski J. 1988. *Vegetación de México*. Limusa. México.

Sakai A. K. y S. G. Weller. 1999. A review of terminology, biogeographic patterns. Ecological correlated and phylogenetic approaches. En: Geber M., T. Dawson y L. Delph (eds.). *Gender and sexual dimorphism in flowering plants*. Springer-Verlag. Berlin.

Sánchez C. D. 2007. Embriología de *Mammillaria dioica* K. Brandegees (Cactaceae). Tesis de Licenciatura. Facultad de Ciencias. UNAM. México.

Scheinvar L. 2004. *Flora cactológica del Estado de Querétaro. Diversidad y riqueza*. FCE. México.

Strittmatter L. I. y V. Negrón-Ortiz. 2000. Floral dimorphism in two species of *Consolea* (Cactaceae): implications for mating system and taxonomy. Symposium: Flora of the Greater Antilles. The New York Botanical Garden. Estados Unidos de América. Junio 23 al 24 del 2000.

Strittmatter L. I., V. Negrón-Ortiz y R. J. Hickey. 2002. Subdioecy in *Consolea spinosissima* (Cactaceae): breeding system and embryological studies. *American Journal of Botany* 89(9): 1373-1387.

Tiagi Y. D. 1954. Studies in the floral morphology of *Opuntia dilenii* Haworth. *Botaniska notiser* 10: 343-355.

Valiente-Banuet A., A. Rojas, M. del Coro y P. Dávila. 1997. Pollination biology of two columnar cacti (*Neobuxbaumia mezcalaensis* y *Neobuxbaumia macrocephala*) in the Tehuacan Valley, Central México. *American Journal of Botany* 84(4): 452-455.

Vázquez N. G. y O. Echeverría. 2000. *Introducción a la microscopía electrónica aplicada a las ciencias biológicas*. FCE. México.

Wolf D., J. Satkoski, K. White, y L. Reisenberg. 2001. Sex determination in the androdioecious plant *Datisca glomerata*, and its dioecious sister species, *D. cannabina*. *Genetics* 159: 1243-1257.