



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA
DE MÉXICO**

FACULTAD DE CIENCIAS

MICROSPOROGÉNESIS, MICROGAMETOGÉNESIS Y
ANÁLISIS PALINOLÓGICO DE UN HÍBRIDO NATURAL
(*Neobuxbaumia tetetzo* x *Cephalocereus columna-trajani*) Y
DE SUS ESPECIES PARENTALES

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

BIÓLOGO

P R E S E N T A:

GABRIEL MERINO DÍAZ

DIRECTORA DE TESIS:

**Dra. GUADALUPE JUDITH MÁRQUEZ
GUZMÁN**





Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

Hoja de Datos

1. Datos del alumno

Merino
Díaz
Gabriel
51151318
Universidad Nacional Autónoma de México
Facultad de Ciencias
Biología
403017340

2. Datos del tutor

Dra.
Guadalupe Judith
Márquez
Guzmán

3. Datos del sinodal 1

Dr.
Salvador
Arias
Montes

4. Datos del sinodal 2

Dra.
Martha Juana
Martínez
Gordillo

5. Datos del sinodal 3

Dra.
Nelly
Diego
Pérez

6. Datos del sinodal 4

M. en C.
Karina
Jiménez
Durán

7. Datos del trabajo escrito

Microsporogénesis, microgametogénesis y análisis palinológico de un híbrido natural (*Neobuxbaumia tetetzo* x *Cephalocereus columna-trajani*) y de sus especies parentales
70 p.
2011

AGRADECIMIENTOS

Esta investigación se realizó en el Laboratorio de Desarrollo en Plantas,
Facultad de Ciencias, UNAM.

A la Dra. Guadalupe Judith Márquez Guzmán, por haberme obsequiado tanto de su tiempo, tanto de su conocimiento y tanto de su paciencia.

Al M. en C. Alejandro Martínez Mena y a la M. en C. Ana Isabel Bieler Antolin, por la toma de microfotografías en cortes histológicos de *Cephalocereus columnna-trajani*, *Neobuxbaumia tetetzo* y el híbrido entre estos. Su trabajo fue más que importante y la calidad de este fue irreprochable.

A la Dra. Silvia Espinoza Matías del Laboratorio de Microscopía Electrónica de Barrido, de la Facultad de Ciencias, UNAM, por la toma de fotomicrografías en el microscopio electrónico de barrido. Gracias por la orientación, sugerencias y dedicación.

A la M. en C. Mónica Karina Pérez Pacheco por todo el conocimiento brindado, por su tiempo y por su dedicación que facilitó enormemente la realización de esta tesis. Su ayuda durante la caracterización de los granos de polen y su orientación en temas, tanto de índole anatómico como de índole técnico fue crucial.

A la M. en C. Dulce María Tapia Cruz y a la Bióloga Amelia López Herrera, por toda la atención, el apoyo, la orientación, la dedicación y sobretodo la paciencia para enseñarme el uso del ultramicrotomo. Son excelentes profesoras.

Al M. en C. Ricardo Wong, por su ayuda durante el uso de microscopios y por toda su orientación de índole técnico durante la realización de esta tesis.

A la Dra. Margarita Collazo Ortega por su apoyo en los temas de tipo estadístico, particularmente en el análisis de varianza (ANOVA). Gracias por la dedicación y el apoyo.

No menos importante es agradecerle a dos personas que participaron de manera relevante y valiosa durante la realización de esta tesis, facilitándome el trabajo en gran manera. Al Sr. Pedro Guadalupe Miranda Pacheco (promotor cultural) y al señor Joaquín pacheco (comerciante y artesano de ónix), mi más sincero agradecimiento por su tiempo y por toda la dedicación y el afecto que me brindaron en los días de colecta en el campo.

Por último a mis sinodales por el tiempo y la dedicación que me obsequiaron durante la revisión de ésta tesis. Gracias por la orientación.

Dra. Guadalupe Judith Márquez Guzmán

Dra. Nelly Diego Pérez

Dra. Martha Juana Martínez Gordillo

Dr. Salvador Arias Montes

M. en C. Karina Jiménez Durán

DEDICATORIA

Primeramente a mi madre, por facilitarme tanto la vida y por interesarse exageradamente en mí.

A mí por terminar mis estudios de licenciatura y por escoger esta carrera.

A todos los profesores que me dejaron un tanto de su conocimiento, tanto a nivel personal como académico. Entre los más importantes:

Al profesor Marco Aurelio Castañeda, durante mi estancia en la primaria Juana Pavón de Morelos, sin duda mi mejor profesor en esa escuela y uno de los mejores en mi vida académica.

Al profesor Pedro Vega y a la Bióloga Dionisia Durán Espinosa, por enseñarme que se puede escapar de la mediocridad tanto como se quiera. Pedro vega fue el mejor profesor de matemáticas que tuve y la profesora Dionisia con su pasión por la biología influyó, indirectamente, en mi elección de esta carrera. Los dos eran o son, profesores del Colegio de Bachilleres No. 7.

A las Doctoras, Layla Michán Aguirre, Dora Azucena Herroz Zamorano, Dulce María Figueroa Castro, Claudia Chávez López, Aurora Zlotnik Espinosa, Hermelinda Margarita Villegas Ríos, María Genoveva González Morán y a la M. en C. Georgina Santos Barrera, por brindarme tiempo y dedicación, cada una en su especialidad. Todas, son o fueron, profesoras de la Facultad de Ciencias, UNAM.

A los Doctores, José Celestino Guerrero y García, Álvaro Chaos Cador y Alfonso José Vilchis Peluyera, por su esfuerzo, dedicación y por regalarme algo de su tiempo.

A la Dra. Rosaura Mayen Estrada y al Lic. Fernando Ángeles Uribe por brindarme los mejores cursos que tuve durante mi carrera. Disfrute cada una de sus clases de Animales I y de Física respectivamente,

A la Dra. Guadalupe Judith Márquez Guzmán, por cada una de las cosas que ha hecho por mí. Me recibió con una sonrisa siempre, me enseñó lo que tenía que saber, me orientó, me facilitó las herramientas que necesitaba y hasta se dio el tiempo de interesarse un poco en mi vida. Gracias de verdad.

A todos los amigos que tuve antes y durante mi tiempo en la facultad, Alberto Díaz, Joaquín, Hugo, Fabián, Juan Pablo, Nirani, Patricia y Zosim, entre otros.

A Sergio Valente por esa amistad tan sincera. Esa mente que tienes es envidiable.

A Edgar Migueles Pérez por tantos años de amistad.

A Juan Manuel Sánchez Ramírez. Dentro y fuera de la escuela siempre un excelente amigo. Espero seas muy exitoso hermano.

A Jesús Alvarado por interesarse tanto en mi vida. Eres un muy buen amigo.

A Maya Sathya Rubio Lozano. La mejor amiga (y confidente) que he tenido. Cada plática contigo es invaluable. Gracias por el interés en cada aspecto de mi vida, es y será siempre recíproco.

A Alberto Romo Galicia. Por tenerme en tan buena estima siempre y por toda la diversión. La estima es recíproca y seguramente duradera.

A María de Los Ángeles Gutiérrez Mendoza por cada uno de los días que he pasado con ella. Conocerla fue crucial en mi vida. Gracias por todo el cariño.

Por último gracias a mis compañeros de laboratorio por soportarme y hasta apreciarme en algunos momentos.

ÍNDICE

Resumen	1
I. Introducción	2
II. Antecedentes	
II. 1. El androceo	5
II. 2. Desarrollo de antera, microsporogénesis y microgametogénesis	5
II. 2. 1. Microsporogénesis y microgametogénesis en la familia Cactaceae	7
II. 3. Hibridación	9
II. 3. 1. Hibridación en cactáceas	11
III. Objetivos	15
IV. Justificación	16
V. Material y Métodos	
V. 1. Zona de estudio	17
V. 2. Unidades de estudio y distribución	20
V. 3. Trabajo de campo	22
V. 4. Trabajo de laboratorio	24
VI. Resultados	
VI. 1. Micromorfología polínica	27
VI. 1. 1. Análisis con microscopía óptica	27
VI. 1. 2. Análisis con Microscopia Electrónica de Barrido	29
VI. 2. Análisis comparativo (tamaño del grano de polen)	33
VI. 3. Desarrollo de la antera	34
VI. 3. 1. <i>Cephalocereus columna-trajani</i>	34
VI. 3. 2. <i>Neobuxbaumia tetetzo</i>	39

VI. 3. 3. Taxón Híbrido	43
VI. 4. Prueba de viabilidad	47
VII. Discusión	48
VIII. Conclusiones	53
IX. Apéndice	
IX. 1. Apéndice I. generalidades palinológicas	54
Bibliografía	65

RESUMEN

Vite *et al.* (1996), determinan la presencia de un híbrido entre *Cephalocereus columna-trajani* (Karw.) K. Schum., y *Neobuxbaumia tetetzo* (Web. ex K. Schum.), mencionando en el mismo trabajo la probable esterilidad del híbrido. En la presente investigación se estudia comparativamente el desarrollo de los granos de polen, el polen maduro y su viabilidad en las dos especies parentales y en su híbrido. Mediante la prueba de Alexander -realizada durante tres períodos de floración distintos-, la microtecnica convencional y el análisis palinológico, se obtuvieron los siguientes resultados: el desarrollo de los granos de polen en las especies parentales y en el híbrido sigue el patrón descrito para la tribu Pachycereeae, para la subfamilia Cactoideae y para la familia Cactaceae en general. Los granos de polen maduros presentan las mismas características morfológicas, siendo más parecidos el polen del híbrido y el de *Cephalocereus columna-trajani*. Por último la viabilidad de los granos de polen es superior al 90% para las dos especies parentales y para el híbrido. Se concluye que la microsporogénesis y la microgametogénesis son procesos semejantes en el híbrido y en sus especies parentales, y que no existe esterilidad en cuanto a la función masculina se refiere.

I. INTRODUCCIÓN

La familia Cactaceae es endémica de América y su distribución abarca prácticamente todo el continente. Estas plantas se han diversificado a través de casi todos los ambientes naturales, pero aproximadamente el 70% se ha establecido en las regiones áridas y semiáridas (Becerra, 2000) donde se mantienen diversos tipos de vegetación, incluido el matorral xerófilo, que cubre la mayor parte de la península de Baja California, grandes extensiones de la planicie costera y grandes áreas de la altiplanicie, desde Chihuahua y Coahuila, hasta Jalisco, Guanajuato, Hidalgo, Edo. de México, Querétaro, Puebla y Oaxaca (Rzedowski, 1988).

El Valle de Tehuacán-Cuicatlán (Reserva de la Biósfera desde 1998, ubicado en los estados de Puebla y Oaxaca) mantiene 19 tipos de vegetación (Villaseñor *et al.*, 1990), incluyendo al matorral xerófilo (32.9% del valle) y particularmente al matorral crasicaule, que se caracteriza por la presencia de cactáceas columnares (CONANP, 2007), las cuales son componentes principales de este tipo de ambiente en las zonas áridas y semiáridas (Casas, 2002). El valle es reconocido por la gran cantidad de estas cactáceas que, agregadas, dan lugar a grandes bosques, con densidades que pueden alcanzar entre 1200 y 1800 individuos por hectárea (Valiente *et al.*, 2009).

Dos géneros característicos del valle de Tehuacán-Cuicatlán son *Neobuxbaumia* y *Cephalocereus*, los cuales se encuentran distribuidos ampliamente, traslapándose en zonas determinadas (Arias *et al.*, 1997). Vite *et al.* (1996) estudiaron dos especies de cactáceas columnares: *Neobuxbaumia tetetzo* y *Cephalocereus columna-trajani* (Figs. 1a y 1c), cuyas poblaciones se traslapan en ciertas zonas (Vite *et al.*, 1996). De acuerdo a los resultados de estos autores, en las zonas de traslape de las dos especies, se presentan individuos con características morfológicas intermedias, tales como: el número de areólas por área, número de ramas y número de costillas, por lo cual no es posible incluirlos fácilmente en alguna de estas dos especies. Estas observaciones los conducen a proponer la existencia de un híbrido natural (Fig. 1b) entre *Neobuxbaumia tetetzo* y *Cephalocereus columna-trajani* (Vite *et al.* 1996). En la misma investigación se propone la posible esterilidad del híbrido como una hipótesis de trabajo. Dado que en la actualidad está comprobada la producción de frutos y de semillas que germinan exitosamente en el híbrido, si acaso se presentara la esterilidad, estaría confinada a la parte reproductora masculina. Es por ello que en la presente investigación se estudió el desarrollo de polen en el híbrido entre *Neobuxbaumia tetetzo* y *Cephalocereus columna-trajani* y en sus especies parentales, con el propósito de saber si los granos de polen de las dos especies parentales y del híbrido se desarrollan de forma tal que al final del desarrollo sean morfológicamente viables y puedan germinar.



Fig. 1. Individuos pertenecientes a la tribu Pachycereeae. a) *Neobuxbaumia tetetzo*, b) taxón híbrido c) *Cephalocereus columna-trajani*.

II. ANTECEDENTES

II. 1. El androceo

Las flores llamadas completas, presentan tanto estructuras reproductivas femeninas (gineceo) como masculinas (androceo). El androceo es el término colectivo que se le da a todas las estructuras reproductivas masculinas (estambres). Muchas angiospermas tienen estambres con filamentos (delgados, alargados y estériles) que sostienen a los microsporangios (estructuras donde se producen las microsporas) en su ápice. Los microsporangios forman parte de una estructura fértil llamada antera, dentro de la cual, a través de procesos como la microsporogénesis y la microgametogénesis, células diploides dan origen a granos de polen haploides, los cuales transportan los gametos de la planta (Raven y Johnson, 2002).

II. 2. Desarrollo de antera, microsporogénesis y microgametogénesis

Inicialmente el alargamiento celular y una mitosis diferencial en cada esquina del primordio de la antera dan lugar a cuatro lóbulos, que corresponden a los microsporangios (Greyson, 1994) constituidos por una protodermis, una hipodermis y tejido meristemático. Las células subepidérmicas se desarrollan en células arquesporales que a su vez se dividen periclinalmente para dar lugar a lo que será la pared del microsporangio (capa parietal) y al tejido esporógeno (Batygina, 2002). Las células de la capa parietal se dividen periclinalmente para formar dos capas de células: la externa (capa parietal primaria) y la interna que es la capa parietal secundaria. La capa parietal primaria formará el endotecio y la secundaria el tapete (Greyson, 1994). El origen de la(s) capa(s) media(s)

depende del tipo de desarrollo que tenga la pared de la antera, originándose, ya sea, a partir del tejido que da origen al endotecio (dicotiledóneas) o a partir del tejido que da origen al tapete (monocotiledóneas). El número de capas medias es variable (Johri, 1992). El endotecio es una estructura de sostén que presenta una gran variedad de formas y que a medida que la antera se aproxima a la dehiscencia (apertura) sufre engrosamientos (Esau, 1976). Cuando está cercana a la dehiscencia, el endotecio pierde agua y se colapsa de tal manera que abre el estomio (fisura en el endotecio) dejando una abertura para la salida de los granos de polen (Fahn, 1990). El tapete (o tapetum) es un continuo de células que pueden ser uni, bi, o plurinucleadas y ricas en material cromatínico (Esau, 1976) que se encuentran adyacentes al lóculo de la antera.

Las células esporógenas diploides comienzan a dividirse mitóticamente en diferentes planos, dando lugar a las células madre de las microsporas (CMMi) (Fahn, 1990). Las CMMi se rodean de calosa y sufren meiosis dando lugar a cuatro células (microsporas haploides) que corresponden a las tétradas de microsporas (Shivanna, 2003). Desde el momento en que las microsporas son liberadas de sus respectivas tétradas, debido a la acción de la calasa (producida por el tapete), que degrada la pared de calosa, el tapete (secretor) comienza a producir los precursores de la exina, es decir, la protoesporopolenina y la esporopolenina que se asientan en la superficie de la microspora, sobre la pared de intina producida por la propia microspora (Dafni *et al*, 2000). Cuando esto sucede el tapete degenera y libera sustancias importantes para el grano de polen, tales como el pollenkit y la elastoviscina que tienen como función principal

participar en la dispersión exitosa del polen (Dafni *et al.*, 2000). Por último, el núcleo de cada microspora se divide asimétricamente dando lugar a una célula vegetativa grande (que contiene los plastos y las mitocondrias) y una célula generatriz pequeña sin organelos. La célula generatriz por medio de una nueva mitosis produce dos células espermáticas que representan a los gametos masculinos (Shivanna, 2003).

II. 2. 1 Microsporogénesis y microgametogénesis en la familia Cactaceae

En la familia Cactaceae, particularmente, la antera es tetrasporangiada y su pared está compuesta de una epidermis, un endotecio fibroso, una capa media monoestratificada y un tapete (Johri, 1992). La epidermis es persistente y ligeramente lignificada, el endotecio desarrolla engrosamientos y la capa media es efímera. El tapete es glandular (secretor) con células multinucleadas (Davis, 1966).

El proceso de meiosis es simultáneo para las células madre de las microsporas y el resultado de este proceso son tétradas de tipo tetraédrico. Los granos de polen son tricolpados y liberados al medio en etapa tricelular (Johri, 1992).

Cabe destacar que aunque existen algunos trabajos sobre el desarrollo de las anteras y granos de polen en la familia Cactaceae (Tabla 1) son pocos los enfocados a miembros de la tribu Pachycereeae (Núñez-Mariel *et al.* 2001 y

2005), en la cual se encuentran los géneros de cactáceas columnares (Núñez-Mariel, 2005).

Tabla 1. Estudios dedicados al desarrollo de la antera y los granos de polen en la familia Cactaceae (Modificado de Núñez-Mariel, 2005).

Especie	Referencia
Subfamilia PERESKIOIDEAE <i>Pereskia aculeata</i> <i>P. bleo</i> <i>P. grandifolia</i> <i>P. lychnidiflora</i> <i>P. nemorosa</i>	Tiagi , 1967 Tiagi, 1967 Tiagi, 1967 Jiménez, 2002 Neuman, 1935
Subfamilia OPUNTIOIDEAE <i>Opuntia dillenii</i> <i>O. spinosissima</i> <i>O. stenopetala</i> <i>O. tomentosa</i> var. <i>tomentosa</i>	Tiagi, 1954 Strittmatter <i>et al.</i> , 2002 Orozco, 2002 Flores, 2002
Subfamilia CACTOIDEAE Tribu Cacteae <i>Ferocactus wislizeni</i>	Kapil y Prakash, 1969
Tribu Cereeae <i>Cereus jamacaru</i>	Kapil y Prakash, 1969
Tribu Hylocereeae <i>Hylocereus polyrhizus</i> <i>H. undatus</i> <i>Selenicereus megalanthus</i> <i>Epiphyllum phyllanthus</i>	Benega - García <i>et al.</i>, 2009 Benega - García <i>et al.</i>, 2009 Benega - García <i>et al.</i>, 2009 García de Almeida <i>et al.</i> 2010
Tribu Pachycereeae <i>Pachycereus militaris</i> .	Núñez-Mariel <i>et al.</i> , 2001 Núñez-Mariel <i>et al.</i>, 2005
<i>P. fulviceps</i> <i>P. gaumeri</i> <i>P. pringlei</i> <i>Myrtillocactus geometrizans</i>	Núñez-Mariel <i>et al.</i>, 2005 Núñez-Mariel <i>et al.</i>, 2005 Núñez-Mariel <i>et al.</i>, 2005 Núñez-Mariel <i>et al.</i>, 2005
Tribu Pterocacteae <i>Pterocactus australis</i> <i>P. araucanus</i> <i>P. hickenii</i> <i>P. valentini</i>	Gotelli, 2009 Gotelli, 2009 Gotelli, 2009 Gotelli, 2009

- El cuadro ha sido modificado para mostrar solamente los estudios que tienen como objeto de estudio la antera y han sido añadidos otros (autores en letras oscuras)

II. 3. Hibridación

El fenómeno de hibridación natural se presenta cuando dos taxa diferentes genéticamente se cruzan y logran producir descendencia, la cual puede ser estéril o no (Friedrich, 1974). La hibridación exitosa es relativamente común en la naturaleza (Arnold *et al.*, 2001) y se presenta con mayor frecuencia entre especies del mismo género, siendo menos frecuente entre especies de géneros distintos (Niklas, 1997). Esto obedece a la incompatibilidad entre organismos alejados filogenéticamente (Arnold y Hodges, 1995), por lo tanto, la producción de un híbrido plantea dudas con respecto a si se desarrolla de manera normal. Algunos científicos puntualizan el hecho de que muchos híbridos naturales exhiben una reducción en viabilidad y en fertilidad (Templeton, 1981). Los híbridos intergenéricos, por ejemplo, pueden presentar anormalidades en el desarrollo y funcionamiento de las estructuras reproductoras o una segregación anormal de los cromosomas, debido a una incongruencia genética (Lester y Kang, 1998). Por estas razones los híbridos pueden ser estériles y esta esterilidad total o parcial puede derivar en su desaparición, sin llegar a representar una nueva especie.

Dentro de la gran variedad de plantas, la familia Cactaceae ha demostrado tener una gran predisposición para la hibridación intergenérica o interespecífica, lo que permite suponer un escaso desarrollo de barreras reproductivas ya sea precigóticas o postcigóticas (Machado, 2008).

Por otra parte, existe aún la controversia acerca de si la hibridación es importante en el proceso evolutivo o no. Algunos estudios, a nivel molecular, han demostrado

que la hibridación juega un papel significativo en la evolución de las plantas (Rieseberg y Ellstrand, 1993), aunque contribuye de manera variable en el proceso evolutivo según el taxón (Kirk *et al.*, 2004). Este fenómeno puede brindar fenotipos y combinaciones alélicas nuevas con relación a las especies parentales (Burke y Arnold, 2001), presentándose un aumento en la diversidad genética, que da origen a variaciones adaptativas por la mezcla de genotipos (Cruz, 2002). Se ha señalado también que la hibridación genera caracteres adaptativos -que pueden aumentar su adecuación o permitirles invadir nuevos hábitats- mucho más rápido de lo que los generaría el proceso continuo de mutación (Stebbins, 1959). Las variaciones adaptativas pueden hacer menos o más apto al híbrido y según Investigaciones recientes, los híbridos pueden ser más aptos que los individuos de sus especies parentales (Arnold *et al.*, 1999). De resultar apto el híbrido, existe la posibilidad de que se establezca y compita exitosamente con otras especies y a la larga represente una nueva especie (Friedrich, 1974). Entonces, a través de la hibridación natural se pueden generar nuevas especies y se piensa que puede ser un importante estímulo para la reorganización genética o cromosómica desde el punto de vista del modelo saltacionista de especiación (Rieseberg, 1997).

Por último, cabe destacar que la especiación híbrida va más allá de la formación del híbrido y del mantenimiento de una zona híbrida estable. La especiación híbrida según autores (Charlesworth, 1995; Rieseberg, 1997), involucra posiblemente un evento fundador en el que híbridos de primera generación colonicen nuevas localidades y puedan aislarse espacial y ecológicamente de sus especies parentales.

II. 3. 1. Hibridación en cactáceas.

Hay numerosas investigaciones dedicadas al estudio de híbridos en plantas. Dentro de éstas, las dedicadas al estudio de identificación de híbridos o probables híbridos en cactáceas no son pocas, sobre todo a partir de la segunda mitad del siglo XX, donde el tema comenzó a interesar más a la comunidad científica.

Glass (1963), estudió un probable híbrido entre los géneros *Myrtillocactus* y *Lemaireocereus* en México. Moran (1963) descubre dos híbridos naturales dentro del género *Bergerocactus* también en México. Grant y Grant (1971) estudian la hibridización natural entre *Opuntia spinosior* y *Opuntia versicolor*. Los mismos autores reportan los fenómenos de hibridación en la especie *Opuntia phaeacantha* en poblaciones de Texas (Grant y Grant, 1979) y descubren la producción de microespecies clonales de origen híbrido en la especie *Opuntia lindheimeri* (Grant y Grant, 1980).

A partir de 1980 se han generado investigaciones que han tenido como objetivo la identificación de híbridos intergenéricos e interespecíficos en la familia Cactaceae. Los híbridos intergenéricos e interespecíficos reportados desde entonces se enlistan en las Tablas 2 y 3 respectivamente.

Tabla 2. Híbridos intergenéricos de la familia Cactaceae (modificado de Cruz, 2002).

Híbrido	Progenitores	Fuente
<i>Cleistocana mirabilis</i>	<i>Cleistocactus fieldianus</i> x <i>Matucana supertexta</i>	Rowley (1994 citado en Hunt, 1999)
X <i>Espostocactus</i>	<i>Cleistocactus icosagonus</i> x <i>Esposota lanata</i>	Mottram (1990 citado en Hunt, 1999)
X <i>Haagespostoa albisetata</i>	<i>Haageocereus pseudomelanostele</i> x <i>Esposota melanostele</i>	Rowley (1982 a) Hunt (1999) Anderson (2001)
X <i>Heliochia vandessi</i>	<i>Heliocereus speciosus</i> x <i>Nopalxochia phyllanthoides</i>	Hawkes (1982)
X <i>Myrtillocactus lindsayi</i>	<i>Bergerocactus emoryi</i> x <i>Myrtillocactus cochal</i>	Morán (1962) Hunt (1999) Anderson (2001)
X <i>Pacherocactus orcuttii</i> (nombrado así por Moran, 1962, 1963)	<i>Pachycereus pringlei</i> x <i>Bergerocactus emoryi</i>	Rowley (1982b) Hunt (1999) Anderson (2001)
Híbrido estéril	<i>Neobuxbaumia tetetzo</i> x <i>Cephalocereus columna-trajani</i> .	Vite et al. (1996)
X <i>Myrtillocereus</i>	<i>Myrtillocactus geometrizans</i> x <i>Stenocereus dumortieri</i>	Glass y Foster (1964), en Arias y Terrazas (2008) Rowley (2004) *
X <i>Pachebergia apicicostata</i>	<i>Pachycereus pecten-aboriginum</i> x <i>Backebergia militaris</i>	Arias y Terrazas (2008) *

*A este cuadro (Cruz, 2002) se le agregan dos especies más (*xMyrtillocereus* y *xPachebergia apicicostata*) que no corresponden al cuadro original.

Tabla 3. Híbridos interespecíficos de la familia Cactaceae (Tomado de Cruz, 2002).

Híbrido	Progenitores	Referencia
<i>Arrojadoa x albiflora</i>	<i>A. dinae</i> spp. <i>dinae</i> x <i>A. rhodantha</i> <i>A. dinae</i> x <i>A. rhodantha</i>	Hunt (1999) Anderson (2001)
<i>Cleistocactus x crassiserpens</i>	<i>c. serpens</i> x <i>C. icogagonus</i>	Hunt (1999) Anderson (2001)
<i>Disocactus x hybridus</i>	<i>D. phyllanthoides</i> x <i>D. speciosus</i>	Anderson (2001)
<i>D. x mallisonii</i>	<i>D. flagelliformis</i> x <i>D. speciosus</i>	Anderson (2001)
<i>D. x violaceus</i>	<i>D. ckermannii</i> x <i>D. speciosus</i>	Anderson (2001)
<i>Echinocereus. x X. roetteri</i>	<i>E. coccineus</i> x <i>E. dasyacanthus</i>	Hunt (1999), Anderson (2001)
<i>Echinopsis x cabrerana</i>	<i>E. strigosa</i> x <i>E. terscheckii</i>	Hunt (1999) Anderson (2001)
<i>Hatiora x graeseri</i>	<i>H. gaertneri</i> x <i>H. rosea</i>	Hunt (1999) Anderson (2001)
<i>Melocactus x albicephalus</i>	<i>M. ernestii</i> x <i>M. glaucescens</i>	Taylor (1991, citado en Anderson, 2001) Hunt (1999)
<i>M. x horridus</i>	<i>M.ernestii</i> x <i>M. glaucescens</i>	Taylor (1991, citado en Anderson, 2001), Hunt (1999)
<i>Opuntia x aequatorialis</i>	<i>O. pubescens</i> x <i>O. soederstromiana</i>	Hunt (1999)
<i>O. x bakeri</i>	<i>O. pubescens</i> x <i>Opuntia</i>	Madsen (1989 citado en Anderson

	<i>soederstromiana</i>	2001)
<i>O. x berchiniana</i>	<i>O. humifusa x O. stricta</i>	Hunt (1999)
<i>O. x columbiana</i>	<i>O. fragilis x polyacantha var. polyacantha</i>	Anderson (2001)
<i>O. x congesta</i>	<i>O. acanthocarpa x O. whipplei</i> <i>O. acanthocarpa var. thornberi x O. whipplei</i>	Hunt (1999) Anderson (2001)
<i>O. x cubensis</i>	<i>O. dillenii x O. militaris</i> <i>O. militaris x O. stricta</i>	Hunt (1999) Anderson (2001)
<i>O. x curvispina</i>	<i>O. clorotica x O. pinaeacantha</i>	Hunt (1999) Anderson (2001)
<i>O.x deserta</i>	<i>O. acanthocarpa var. coloradensis</i> <i>x O. echinocarpa</i>	Anderson (2001)
<i>O. x fosbergii</i>	<i>O. bigelovii x O. echinocarpa u O. phaeacantha</i> <i>O. bigelovii x O. echinocarpa</i>	Hunt (1999) Anderson (2001)
<i>O. x kelvinensis</i>	<i>O. fulgida x O. spinosior</i>	Hunt (1999) Anderson (2001)
<i>O. x lucayana</i>	<i>O. dillenii x O. nashii</i>	Hunt (1999) Anderson (2001)
<i>O. x multigeniculata</i>	<i>O. echinocarpa x O. whipplei</i>	Hunt (1999) Anderson (2001)
<i>O. x neaorbuscula</i>	<i>O. arbuscula x O. spinosior</i>	Hunt (1999) Anderson (2001)
<i>O. x occidentalis</i>	<i>O. engelmannii x O. phaeacantha</i>	Anderson (2001)
<i>O. x prolifera</i>	<i>O. alcahes x A. cholia</i>	Mayer et al. (200)
<i>O. x quipa</i>	<i>O. inamoena x O. palmadora</i>	Hunt (1999)
<i>O. x spinosibacca</i>	<i>O. eureispina x O. phaeacantha</i>	Hunt (1999) Anderson (2001)
<i>O. x tetracantha</i>	<i>O. acanthocarpa var. major x O. leptocaulis</i>	Anderson (2001)
<i>O. x vaseyi</i>	<i>O. littoralis x O. phaeacantha</i>	Hunt (1999) Anderson (2001)
<i>O. x viridiflora</i>	<i>O. imbricata x O. whipplei</i>	Hunt (1999) Anderson (2001)
<i>O. x vivipara</i>	<i>O. arbuscula x O. versicolor</i>	Hunt (1999) Anderson (2001)
<i>O. x wootonii</i>	<i>O. engelmannii x O. phaeacantha</i>	Anderson (2001)
<i>Pilosocereus x subsimilis</i>	<i>P. magnificus x P. floccosus spp. cuadricostatus</i>	Hunt (1999)
<i>Schiumbergera x buckleyi</i>	<i>S. russeliana x S. truncata</i>	Hunt (1999) McMillan y Horobin (1995 citado en Anderson, 2001)
<i>S. x exotica</i>	<i>S. opuntoides x. S. truncata</i>	Hunt (1999) McMillan y Horobin (1995 citado en Anderson, 2001)
<i>S. x reginae</i>	<i>S. orssichiana x S. truncata</i>	
<i>Tacinga x quipa</i>	<i>T. inamoena x T. palmadora</i>	Stuppy y Taylor (citado en Anderson (2001)
<i>T. x mombergii</i>	<i>T. lavix x T. pseudopotinatus</i>	Anderson (2001)
<i>Trichocereus x mendocinus</i>	<i>T. candicans x T. strigosus</i>	Méndez (2000)
<i>Turbinicarpus x mombergerii</i>	<i>T. laui x T. pseudopectinatus</i>	Hunt (1999)

Cabe destacar que de los híbridos intergenéricos mencionados en la Tabla 2, cinco (sombreados) son resultado de hibridación entre géneros de la tribu Pachycereeae (Bravo-Hollis, 1978), tribu donde se encuentran los géneros de cactáceas columnares y a los cuales pertenecen el híbrido y las especies parentales estudiados en la presente investigación.

Las especies parentales del híbrido al que se avoca este trabajo, es decir, *Cephalocereus columna-trajani* y *Neobuxbaumia tetetzo*, son especies que comparten algunas características. Entre ellas se encuentra, por ejemplo, el tipo de polinización (quiropterofilia), en el cual las flores tubulares (con gran cantidad de polen y néctar) abren en la noche esperando la llegada de murciélagos denominados cactofílicos, de la familia Phyllostomidae (Simmons y Wetterer, en Fleming y Valiente-Banuet, 2002). Además ambos están bien representados y forman comunidades simpátricas en el valle de Tehuacán-Cuicatlán y en un mismo periodo de tiempo sus flores están expuestas a la polinización. Entre las características que presentan estas dos especies de cactáceas columnares y que les permiten entrecruzarse se encuentran la época de floración, el tipo de polinización, y por supuesto, la cercanía de las poblaciones (Vite *et al.*, 1996).

La presente investigación está dedicada al análisis comparativo del desarrollo de la antera y de los granos de polen entre las especies parentales y su híbrido y es preciso destacar que trabajos similares no son conocidos para ninguna especie híbrida de la familia Cactaceae.

III. OBJETIVOS

Objetivo general

Conocer el proceso de formación, caracterización y viabilidad de los granos de polen en las especies parentales (*Neobuxbaumia tetetzo* y *Cephalocereus columna-trajani*) y en el híbrido resultante.

Objetivos particulares

- 1.- Comparar la estructura del grano de polen maduro.
- 2.- Comparar el desarrollo de los granos de polen.
- 3.- Determinar la viabilidad de los granos de polen.

IV. JUSTIFICACIÓN

El conocer a profundidad los procesos reproductivos que se presentan en las especies, representa una herramienta fundamental para la conservación. La hibridación es un proceso por el cual la variabilidad genética aumenta debido a la combinación de la información genética de dos taxa, por lo cual, se hace imprescindible el estudio de este proceso que puede dar lugar, en el mejor de los casos, a la generación de nuevas especies, que en un momento dado podrían representar el inicio de nuevos linajes evolutivos. Dado que el híbrido entre *Neobuxbaumia tetetzo* y *Cephalocereus columna-trajani* posee un gineceo que se desarrolla normalmente produciendo frutos y semillas viables, el interés de esta investigación fue averiguar si al igual que en la parte femenina, hay un correcto desarrollo de los granos de polen, tanto en el híbrido como en las especies parentales.

V. MATERIAL Y MÉTODOS

V. 1. Zona de estudio

El material se colectó en el valle de Tehuacán-Cuicatlán. El lugar de colecta se encuentra ubicado en el estado de Puebla (Fig. 2) a 1500 m sobre el nivel del mar en una posición N 18° 20' 00.4" y O 97° 27' 36" y cercano al Jardín Botánico "Helia Bravo Hollis" (Fig. 3). Los individuos de *Cephalocereus columna-trajani* se encontraron en la pendiente de un cerro, mientras que los individuos de *Neobuxbaumia tetetzo* se encontraron en su mayoría en el valle, en estrecho contacto con los individuos de *C. columna-trajani*. Los individuos híbridos se ubicaron exactamente en la zona donde las dos poblaciones parentales se traslapan, justo a un lado de la carretera. El clima del lugar es árido, semicálido, con una marcada época de lluvias en verano. La precipitación anual es de 380 mm y el promedio de temperatura anual es de 21.2° C. El clima es generado por el efecto de sombra de montaña o sombra orográfica (Arias *et al.*, 2001).

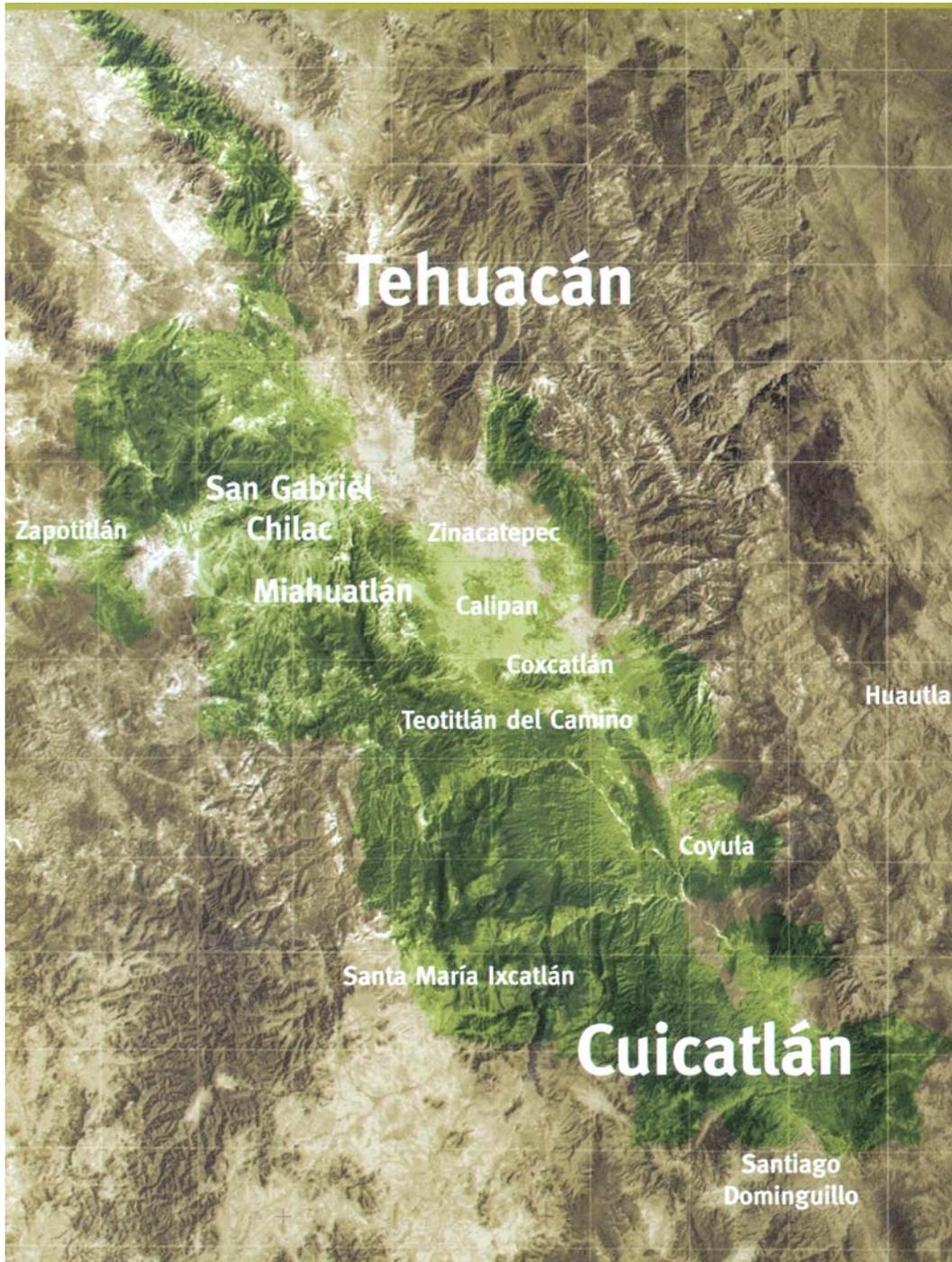


Fig. 2. Localización del Valle de Tehuacán-Cuicatlán (en verde) en los estados de Puebla y Oaxaca (Valiente-Banuet *et al.*, 2009).

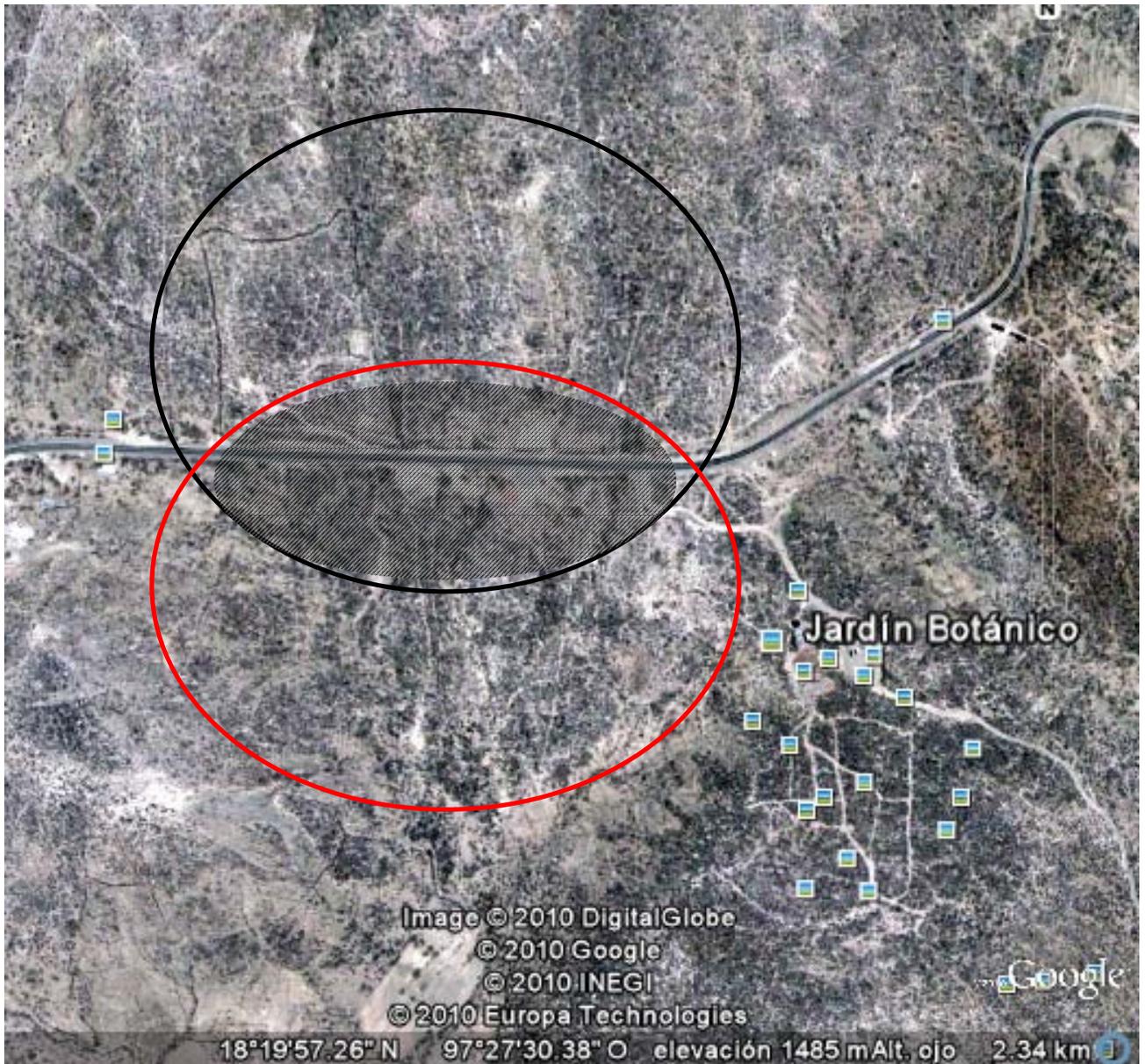


Fig. 3. Localización aproximada de la zona (sombreada) en que se sobrelapa la distribución de *Neobuxbaumia tetetzo* y *Cephalocereus columna-trajani*.

V. 2. Unidades de estudio y distribución

Neobuxbaumia tetetzo (F. A. C Weber et J. M. Coulter) Backeberg

Subfamilia Cactoideae, tribu Pachycereeae

Nombre común: “tetecho”

Plantas columnares, frecuentemente ramificadas hasta con 16 ramas, tiene una altura de hasta 15 m, troncos de hasta 70 cm de diámetro. Tallos verde-grisáceos, de 8 a 12 m de longitud y 18 a 30 cm en diámetro; con 15 a 20 costillas, obtusas, algunas redondeadas; usualmente una espina central, oscura de hasta 5 cm de longitud; espinas radiales en números de 8 a 13, oscuras, de 1 a 2 cm de longitud. Flores solitarias, terminales, acampanadas, color blancas, de 5 a 6 cm de longitud y con múltiples estambres. Frutos ovoides, de hasta 4 cm de longitud, verdes, con partes del perianto persistentes. Su distribución está restringida a los estados de Puebla y Oaxaca, en México (Bravo-Hollis, 1978).

Su período de floración es de mayo a julio. La polinización es realizada por murciélagos por lo cual las flores abren durante la noche (Arias *et al.*, 2001). Esta especie es endémica de México y su distribución abarca precisamente parte del valle de Tehuacán-Cuicatlán. Se localiza generalmente en los valles, en los cuales es una especie dominante.

Cephalocereus columna-trajani (Karwinsky ex Pfeiffer) K. Schuman

Subfamilia Cactoideae, tribu Pachycereeae

Nombre común: “Cardón Blanco” y “Viejito”

Plantas erectas, no ramificadas, de 6 a 10 m de altura. Tallos verdes de hasta 40 cm diámetro; de 16 a 26 costillas; aréolas blancas, muy juntas, con abundantes pelos blancos; espinas centrales de 5 a 8, duras y grisáceas, de hasta 8 cm de longitud; espinas radiales en números de 14 a 18, blancas de hasta 1 cm de longitud. Cefalio claramente lateral, usualmente dando la cara al norte; de 2 a 3 m de largo y se extiende a las areólas del tallo cubriéndolas con una lana amarillenta de 4 a 6 cm de longitud. Flores acampanadas, blancas a amarillas, aromáticas, de hasta 7.5 cm de longitud y de diámetro. Se distribuyen en forma de bosques en el estado de Puebla, México (Bravo-Hollis, 1978).

Su época de floración es entre marzo y junio al igual que en *N. tetetzo* y la apertura de las flores es nocturna. La polinización es por medio de murciélagos. Es una especie endémica del valle de Tehuacán-Cuicatlán, en la región de Zapotitlán de las Salinas, donde se convierte en especie dominante en las pendientes de algunos cerros (Arias *et al.*, 2001).

V. 3. Trabajo de campo

Se realizaron cinco visitas a la zona de estudio. Primeramente se localizó la zona de hibridación y se ubicó geográficamente con un sistema de geoposicionamiento global (GPS) en una posición N 18° 20' 00.4" y O 97° 27' 36". Además, se reconoció el terreno y se tomó nota de las condiciones climáticas y orográficas de la zona. Se localizaron los individuos híbridos entre *Cephalocereus columna-trajani* y *Neobuxbaumia tetetzo* y se tomaron fotografías de individuos de cada población así como del entorno. A partir de la segunda visita y hasta la última se llevó a cabo la colecta del material biológico necesario para el estudio (Tabla 4). La colecta se realizó en la zona intermedia entre el valle y la pendiente del cerro, pues es justo ahí donde se sobrelapa la distribución de estas dos especies. Se colectaron muestras de polen fresco y Botones florales en distintas etapas de desarrollo. El material se colectó de nueve individuos de cada una de las especies parentales y nueve individuos híbridos.

Tabla 4. Relación de material colectado considerando, la especie, la fecha de colecta y el tipo de material

Fecha de colecta	<i>Cephalocereus columna-trajani</i>	<i>Neobuxbaumia tetetzo</i>	Híbrido
19 al 22 de julio 2007			FA = 9 BF = 2
28 al 30 de marzo 2008	FA= 11 BF = 30		BF = 12
11 al 13 de abril 2008		FA = 4 BF = 34	BF = 10
22 de mayo 2008			FA = 4 BF = 3

FA= Flores en antesis, **BF** = Botones florales

Este material (excepto el polen fresco) fue seccionado en el campo y fijado inmediatamente en FAA (formol-ácido acético-alcohol) el cual es un fijador con buena acción endurecedora (Patiño, 1986), que no provoca deterioro de la estructura general de los tejidos de la planta, pudiendo ser almacenados durante años (Keating, 1996). La Figura 4 resume la metodología utilizada en el campo.

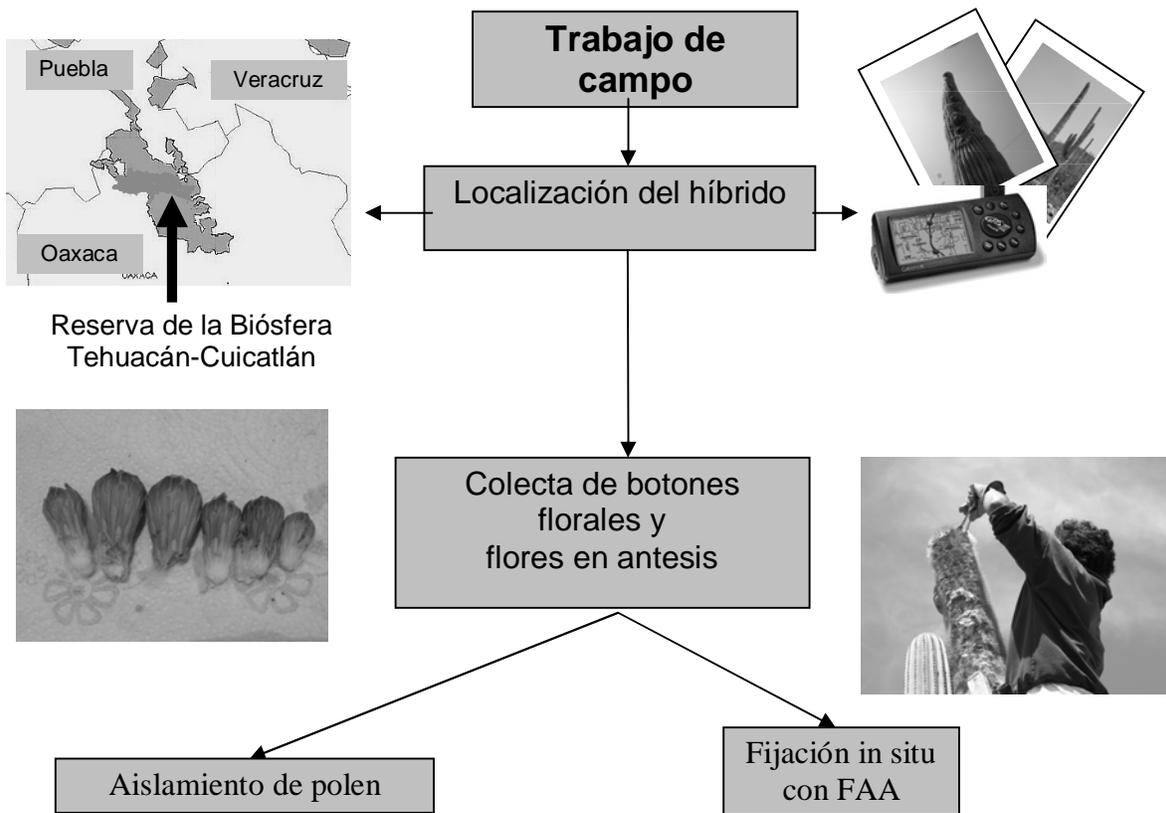


Fig. 4. Diagrama de flujo que muestra la metodología seguida en el campo.

V. 4. Trabajo de laboratorio

Prueba de viabilidad de polen. Se aplicó la prueba de Alexander en tres diferentes temporadas consecutivas de floración. Esta prueba estima la viabilidad de los granos de polen. Para esto se aisló el polen (de los padres y del híbrido) de flores en anthesis y se expuso directamente a la acción del reactivo de Alexander, que es un colorante que tiñe el citoplasma de las células vivas. El verde de malaquita del reactivo de Alexander tiñe las paredes de color verde, mientras que la fucsina ácida, cuando el polen es viable, tiñe de rosa intenso al citoplasma (López *et al.*, 2005). Las observaciones se realizaron al microscopio óptico a un aumento de 40X y se tomaron en cuenta para el conteo 10 campos por cada preparación. El conteo se realizó durante tres años consecutivos y con los datos obtenidos se estimó el porcentaje de granos de polen viables para cada especie y para el híbrido.

Acetólisis. Los granos de polen aislados también fueron sometidos a la técnica de acetólisis, en la cual se elimina el protoplasto, la intina, y las sustancias de recubrimiento, sobreviviendo solo la pared de exina. Las preparaciones obtenidas fueron utilizadas para realizar el estudio micropalinológico donde se obtuvo información acerca de la estructura, tamaño y forma del grano de polen, del tipo de aberturas que presenta y de la estructura de la pared de exina, haciendo énfasis en su ornamentación. Con estos resultados se hizo un análisis comparativo entre los tres grupos de plantas incluyendo un análisis estadístico (ANOVA + prueba de Tukey) para comparar el tamaño de los granos de polen. El

numero de datos muestreados para cada especie y para el híbrido en este análisis fue de veinticinco (n=25).

Observación al MEB (Microscopio Electrónico de Barrido). Una muestra de granos de polen se procesó para hacer observaciones al microscopio electrónico de barrido, con el fin de hacer un análisis micromorfológico. Los granos de polen se colocaron con ayuda de un pincel en un cilindro de aluminio cubierto con cinta adhesiva negra y se cubrieron con oro.

Microtecnica

Los botones florales fijados en FAA se disectaron hasta obtener secciones de tamaño pequeño que contenían anteras. El total de secciones de cada botón se subdividió en dos conjuntos, para diferentes tipos de inclusión y análisis microscópico: a) inclusión en Paraplast y b) inclusión en LR White.

Inclusión en Paraplast. El primer conjunto tuvo como destino la inclusión en el medio “Paraplast” que es un compuesto de parafinas puras y polímeros plásticos que ofrece una buena inclusión de los tejidos. Este medio es utilizado como herramienta importante para la obtención de cortes histológicos y es uno de los medios más comunes para ello. Los cortes se obtuvieron utilizando el microtomo de rotación con un grosor de 8 μm . Cada corte fue teñido utilizando el proceso de tinción conocido como Safranina-Verde rápido, el cual tiñe de rojo la cromatina, nucléolos, paredes lignificadas y taninos condensados, y de verde las paredes no

lignificadas y el citoplasma (López *et al.*, 2005). Una vez teñidos los cortes se observaron al microscopio fotónico y de fluorescencia (APOTOME).

Inclusión en LR White. El segundo conjunto se incluyó en el medio llamado LR-White, que es una resina sintética hidrofílica con una infiltración muy rápida (López *et al.*, 2005). Para la obtención de estos cortes se utilizaron tanto el ultramicrotomo como las navajas de vidrio necesarias como complemento del primero. Los cortes de entre 1 y 2 micras se tiñeron con azul de toluidina.

La Figura 5 resume la metodología utilizada en el laboratorio para el material fijado en FAA.

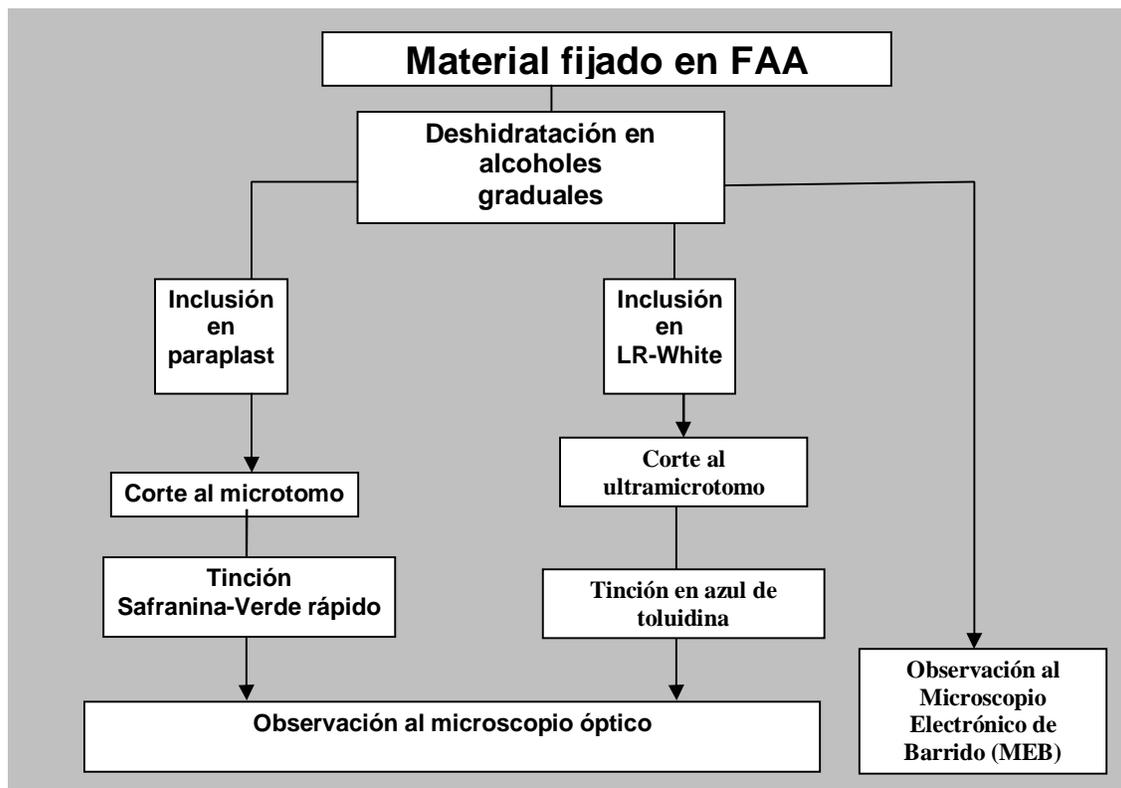


Fig. 5. Metodología utilizada en el laboratorio.

VI. RESULTADOS

VI. 1. Micromorfología polínica

Los resultados se presentan a modo de comparación. La forma de las aberturas y la estructura de la exina es la misma para los tres taxa por lo que sólo se presentan comparativamente las características correspondientes a la forma y tamaño del grano de polen, al tamaño del área polar y al contorno. Por otra parte, la descripción obtenida del grano de polen para cada taxón está basada en los apartados correspondientes, incluidos en el apéndice I sobre análisis palinológico.

VI. 1. 1. Análisis con microscopía óptica

Aberturas: Tricolpado (Figs. 6b, 7a y 8b). Colpo meridional largo (Figs. 6a, 7b y 8a).

Exina: El grosor de la exina varía de 2.49 a 3.33 μm (Fig. 8e). La relación sexina:nexina es de 3:1 a 2:1.

A. P. S.* Mónadas; isopolar, radiosimétrica.

*A. P. S. corresponde a: Asociación, Polaridad y Simetría respectivamente

Forma: los granos de polen de *Cephalocereus columna-trajani* tienen dos formas características, formas subprolato 96%, con un índice de (1.147-1.333), y prolato esferoidal (4%), con un índice de (1.1290). Los granos de polen de *Neobuxbaumia tetetzo* tienen por otra parte tres formas, subprolato 56%, con un índice de (1.25-1.33), prolato 40%, con índice de (1.36-1.55) y prolato esferoidal con un índice de (1). Por último los granos de polen del taxón híbrido, tienen dos formas particulares, subprolato 96%, con un índice de (1.161- 1.355) y prolato 4%, con un índice de (1.4).

Área polar (apocolpio): El área del apocolpio en *Cephalocereus columna-trajani* es mediana (100%), con un índice de (0.244-0.341). En *Neobuxbaumia tetetzo* es mediana (100%), con un índice de (0.276-0.4). El taxón híbrido entre tiene un área polar que varía de pequeña (4%), con un índice de 0.233, a mediana (96%), con un índice de (0.25-0.366).

Tamaño: *Cephalocereus columna-trajani* tiene un eje polar de 79.44 μm , con un índice de (70, 84), y un eje ecuatorial de 64.32 μm , con un índice de (60, 68). *Neobuxbaumia tetetzo* tiene un eje polar de 56.48 μm , con un índice de (48, 66), y un eje ecuatorial de 42.08 μm con un índice de (38, 48). Por último el taxón híbrido tiene un eje polar de 78.72 μm , con un índice de (72, 86), y un eje ecuatorial de 63.12 μm , con un índice de (58,68).

Contorno polar (C. P.): Circular (Figs. 6b, 7a y 8b) (*Cephalocereus columna-trajani*, *Neobuxbaumia tetetzo* y el híbrido entre ellos).

Contorno meridional (C. M.): elíptico (Figs. 6a, 7b y 8a) (*Cephalocereus columna-trajani*, *Neobuxbaumia tetetzo* y el híbrido entre ellos).

VI. 1. 2. Análisis con Microscopia Electrónica de Barrido (MEB)

Aberturas: Tricolpadas (Figs. 6e, 7d y 8c). Colpo meridional largo (Figs. 6c, 6d, 7c y 8d). Presentan terminación aguda.

Exina: tectada, miroequinada, perforada (Figs. 6f, 7f y 8g). Las perforaciones miden menos de 1 μm de diámetro y se encuentran bien distribuidas a lo largo y ancho del grano de polen e incluso alrededor de sus aberturas (Figs. 7e y 8f).

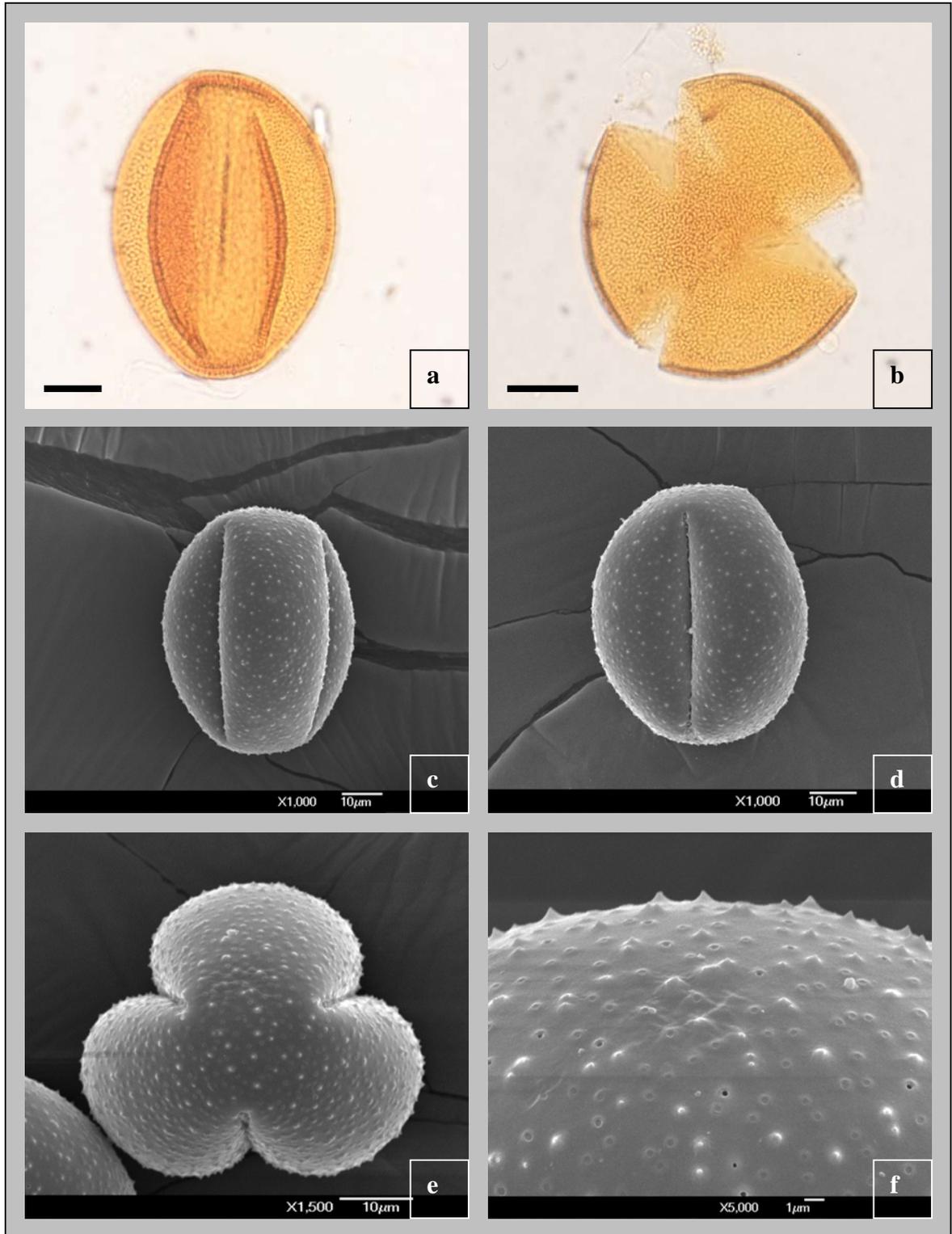


Fig. 6. Microestructura del grano de polen de *Cephalocereus columna-trajani*. **a)** Vista ecuatorial con tres colpos (acetólisis). 166X; **b)** Vista polar con tres colpos (acetólisis). 166X; **c)** Grano de polen en vista ecuatorial con dos colpos (MEB); **d)** Grano de polen en vista ecuatorial con un colpo (MEB); **e)** Grano de polen en vista polar (MEB) **f)** Ornamentación microequinada-porada de la exina (MEB). Barra escala: 15µm

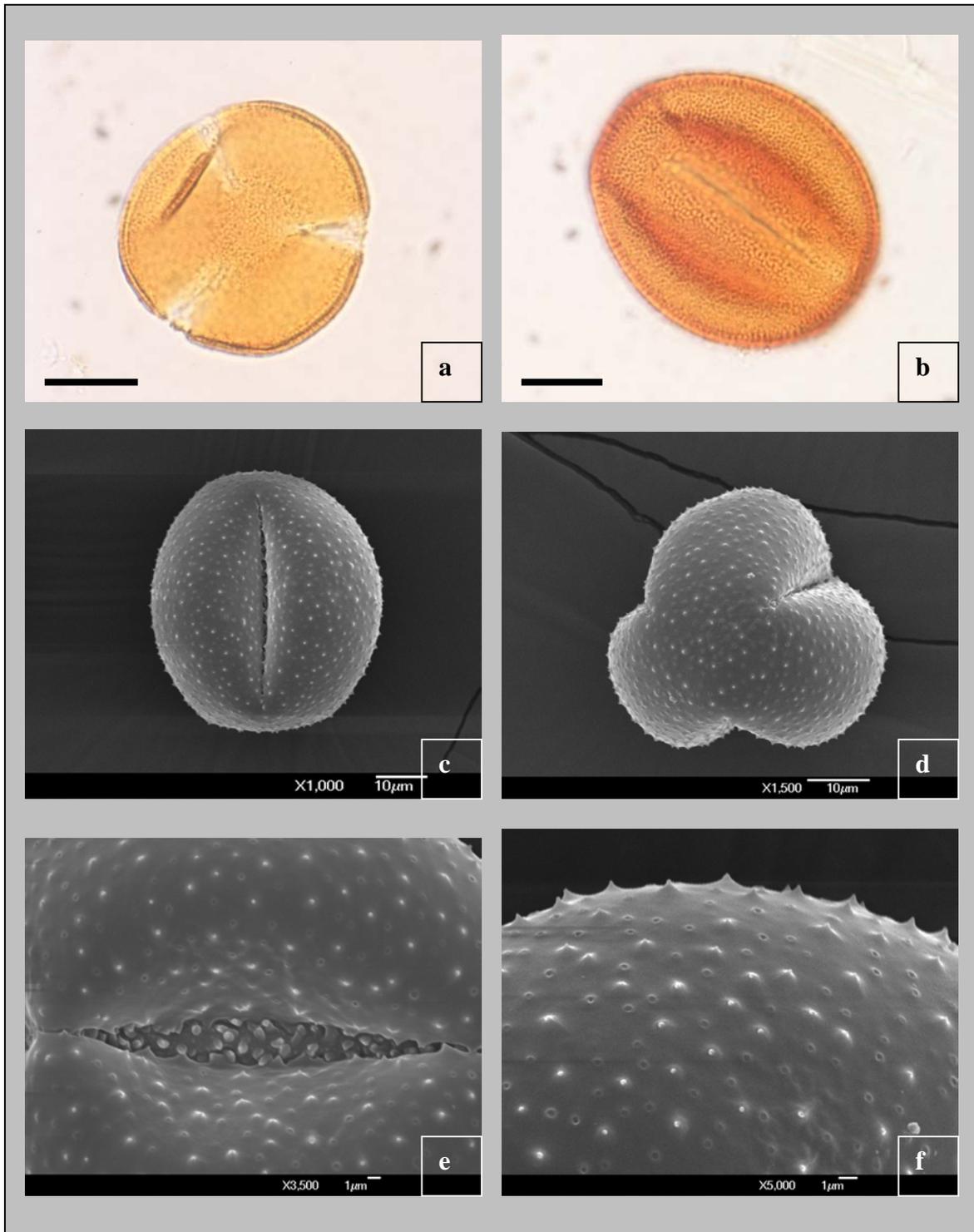


Fig. 7. Granos de polen de *Neobuxbaumia tetetzo*. **a)** Grano de polen acetolizado en vista polar con tres colpos. 166X; **b)** Grano de polen acetolizado en vista ecuatorial con tres colpos. 166X; **c)** Microestructura del grano de polen en vista ecuatorial con un colpo (MEB); **d)** Microestructura del grano de polen en vista polar con tres colpos (MEB); **e)** Abertura del grano de polen (MEB); **f)** Ornamentación microequinada-porada de la exina (MEB). Barra escala: 15 μ m

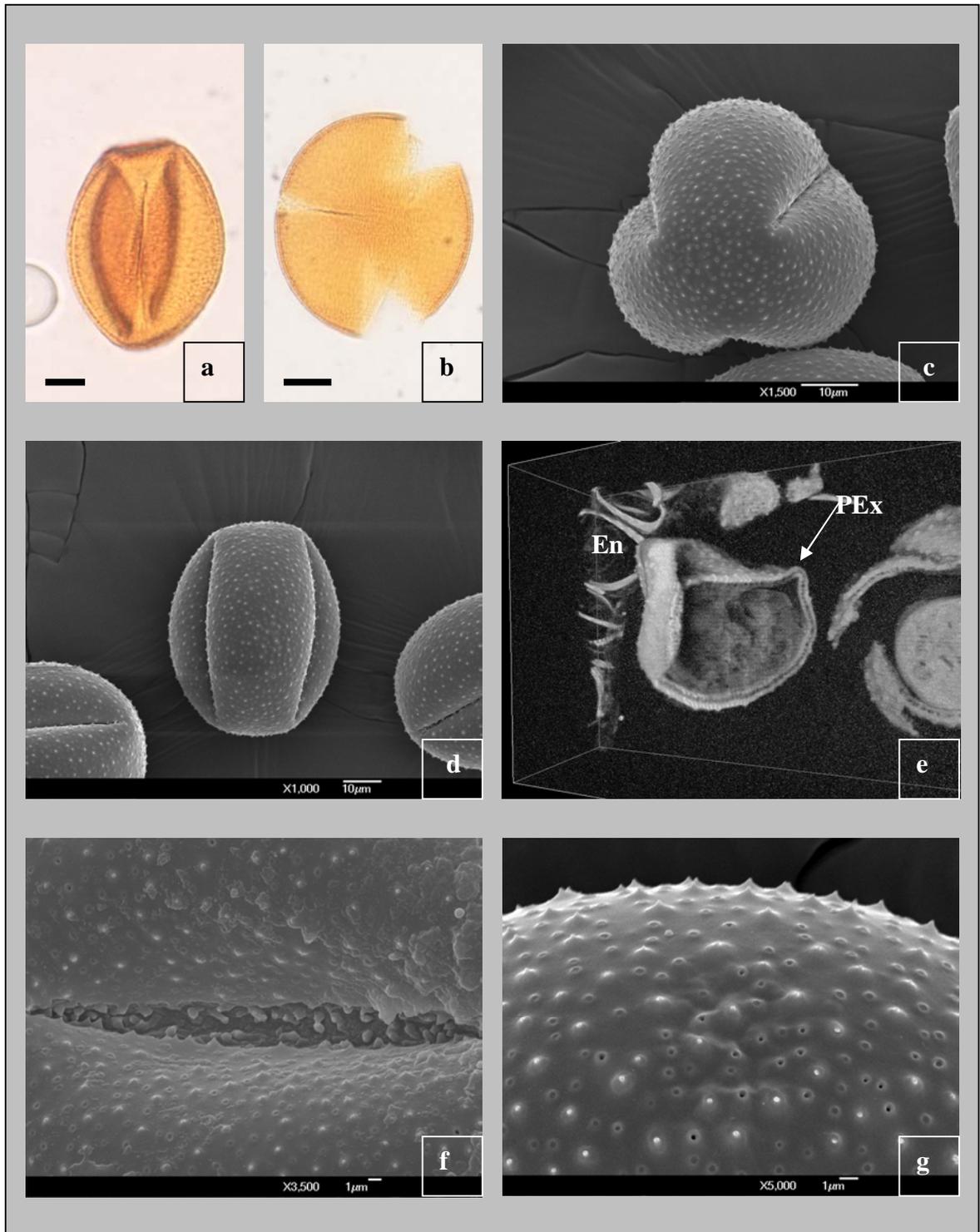


Fig. 8. Granos de polen del híbrido *Cephalocereus columna-trajani* x *Neobuxbaumia tetetzo*. **a)** Grano de polen acetolizado en vista ecuatorial con tres colpos. 166X; **b)** Grano de polen acetolizado en vista polar con tres colpos. 166X; **c)** Microestructura del grano de polen en vista polar (MEB); **d)** Microestructura del grano de polen en vista ecuatorial (MEB); **e)** Reconstrucción tridimensional de un grano de polen y engrosamientos del endotectio (microscopio de fluorescencia APOTOME); **f)** Abertura del grano de polen (MEB); **g)** Ornamentación microequinada-porada de la exina (MEB). (En) Endotectio. (PEx) Pared de exina. Barra escala (a) y (b): 15 μ m

VI. 2. Análisis comparativo (tamaño del grano de polen)

El análisis de Varianza, ANOVA de una sola vía (o factor), utilizada para comparar el tamaño de los granos de polen entre los tres taxa arrojó lo siguiente:

Teniendo en cuenta las hipótesis:

H_0 = El tamaño de los granos de polen de los diferentes grupos es igual

H_a = El tamaño de los granos de polen de de al menos un grupo es diferente

Para el eje polar se estimó un valor ($F=649$, $P<0.05$) y para el eje ecuatorial, un valor ($F=323$, $P<0.05$) por tanto H_0 se rechaza. Así el tamaño de los granos de polen de al menos un taxón es significativamente diferente a un nivel de confianza de 0.05 (5%).

Por otro lado al aplicar la prueba de Tukey, se determinó que solamente un taxón, *Neobuxbaumia tetetzo*, difiere significativamente de los otros en cuanto al tamaño de los granos de polen, siendo mas pequeños los de esta especie. *Cephalocereus columna-trajani* y el taxón híbrido, no presentan una diferencia significativa para este carácter.

VI. 3. Desarrollo de la antera

Se describe a continuación el desarrollo de la antera y la formación de los granos de polen de las especies parentales (*Neobuxbaumia tetetzo* y *Cephalocereus columna-trajani*) y del híbrido entre ambas especies. Las etapas descritas terminan con la producción de granos de polen tricelulares aún dentro de lóculo de la antera, próximos a su liberación.

VI. 3. 1. *Cephalocereus columna-trajani*

La etapa más temprana estudiada corresponde al primordio de la antera con la protodermis y las células esporógenas diferenciadas (Fig. 9a). Posteriormente en el desarrollo se observan tres estratos en la pared de la antera: el adyacente al lóculo se diferenciará en el tapete, el adyacente a la protodermis se diferenciará en el endotecio y la capa entre ambos corresponde a la capa media, que es monoestratificada (Fig. 9b). La antera en esta etapa toma su forma bilobulada y corresponde a una antera tetrasporangiada como en la mayoría de las angiospermas (Fig. 9c).

Pronto, en el desarrollo la capa media se aplasta y desaparece y el tapete se vuelve bi o trinucleado (Fig. 9d). Las células esporógenas sufren mitosis repetidamente y se diferencian en las células madre de las microsporas con núcleos muy evidentes, en los cuales se puede observar la condensación de la

cromatina. Las células madre de las microsporas, al entrar en etapa de meiosis, se rodean cada una de una pared de calosa (Fig. 9e).

La condensación de la cromatina indica la iniciación de la profase meiótica, que al final del proceso da lugar a cuatro microsporas haploides que se mantienen unidas, formando una tétrada de microsporas rodeadas por una pared de calosa. La tétrada tiene forma tetraédrica. El tapete empieza a degenerar y sintetiza estructuras conocidas como Cuerpos de Ubish u orbículos, que son partículas que contienen precursores de esporopolenina y que son extruidos al lóculo de la antera (Fig. 9f). El tipo de tapete presente es glandular (secretor).

Cuando las microsporas se separan de la tétrada, yacen como estructuras individuales, conocidas como granos de polen jóvenes, rodeados por una pared de exina y con núcleos muy evidentes. En esta etapa del desarrollo ha desaparecido por completo la capa media -que se observa como una línea oscura adyacente al endotecio-. El tapete está en plena degeneración (Figs. 10a y 10b).

Los granos de polen, en una etapa más avanzada del desarrollo, engruesan su exina y se pone de manifiesto la intina. El citoplasma se muestra vacuolado y se presentan dos células, la célula vegetativa, más grande, con un núcleo conspicuo y un gran nucléolo y la célula generatriz, más pequeña, en el interior del citoplasma de la célula vegetativa. El tapete se ha degradado por completo y el endotecio ya muestra sus engrosamientos. En este momento, ya aparecen las tres aberturas del grano de polen (Fig. 10c).

Cuando los granos de polen han acabado su diferenciación, y aún dentro del lóculo de la antera, se pueden ver tres núcleos que corresponden a tres células en su interior. En el momento de la dehiscencia de la antera, los granos de polen poseen tres células (Fig. 10d).

La antera, en esta última etapa, ha degradado el septo que separa a los esporangios y el estomio comienza a abrirse. Es una antera muy próxima a la dehiscencia y corresponde a un botón floral también muy próximo a la antesis.

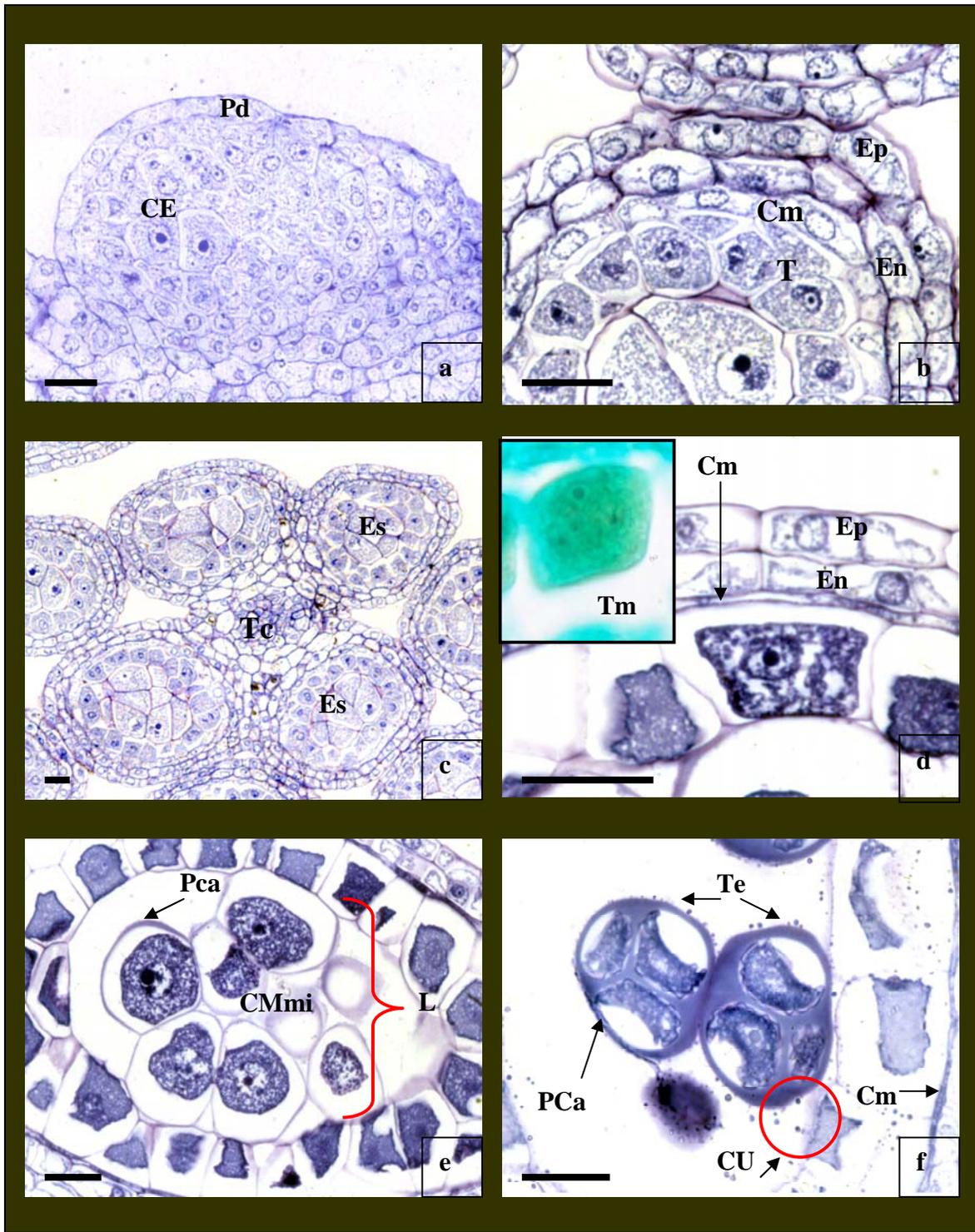


Fig. 9. Corte transversal de antera de *Cephalocereus columna-trajani*. **a)** Primordio de antera. 250X; **b)** Esporangio de antera joven. 375X; **c)** Antera tetrasporangiada. 100X; **d)** Pared con cuatro estratos, la capa media degenerando. 500X; **e)** Células madre de las microsporas rodeadas de calosa. 250X; **f)** Meiosis, etapa de tétrada. 375X. (CE) Células esporógenas. (Cm) Capa media. (CMMi) Células madre de las microsporas. (CU) Cuerpos de Ubisch. (En) Endotecio. (Ep) Epidermis. (Es) Esporangio. (Pca) Pared de calosa. (Pd) Protodermis. (T) Tapete. (Tc) Tejido conectivo. (Te) Tétrada. (Tm) Tapete multinucleado. Barra escala: 15 μ m.

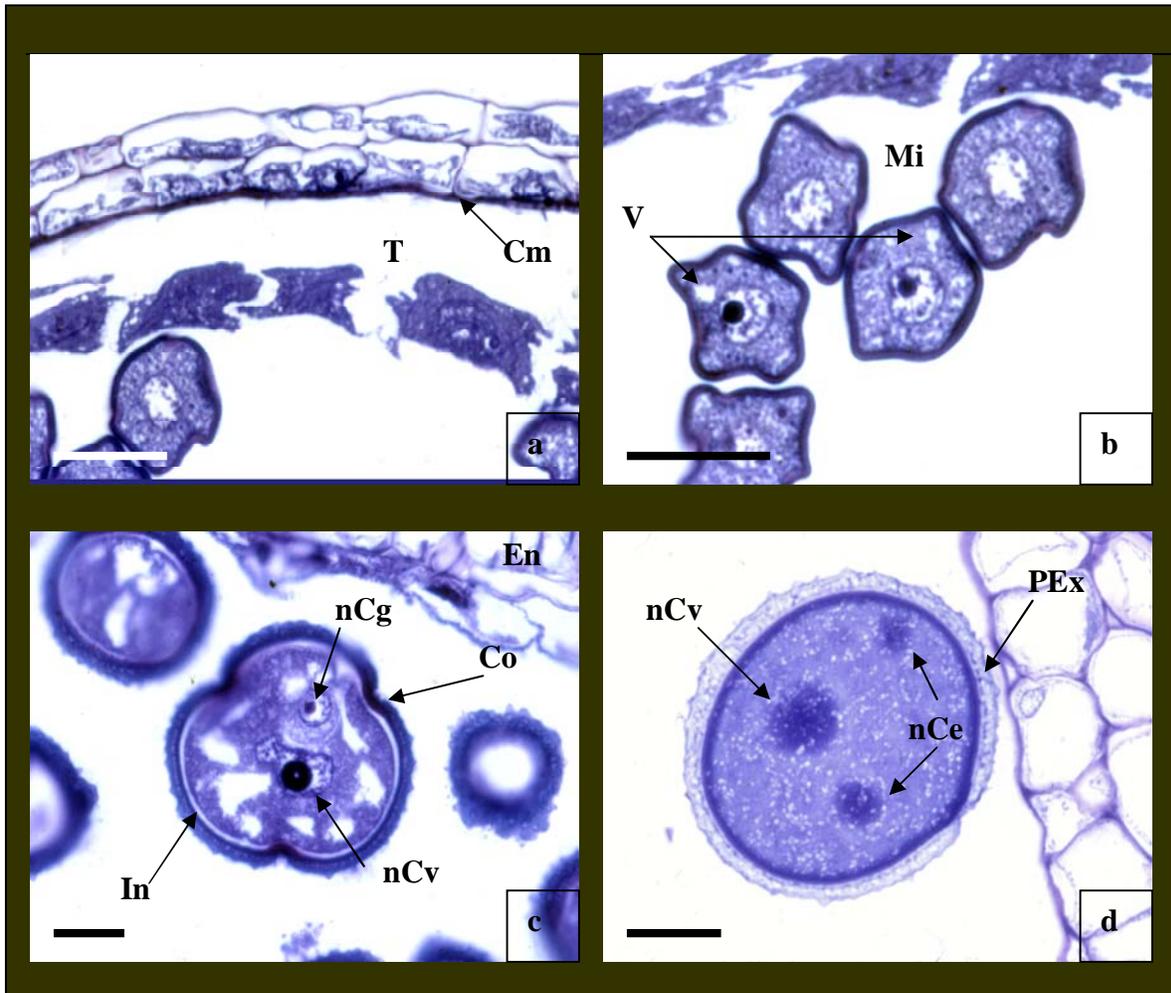


Fig. 10. Desarrollo de antera y estructura del grano de polen de *Cephalocereus columna-trajani*. **a)** Tapete en degeneración. 375X; **b)** Microsporas. 500X; **c)** Grano de polen bicelular. 250X; **d)** Grano de polen tricelular y con la pared de exina completamente formada. 312X. (Cm) Capa media. (Co) Colpo. (En) Endotecio (In) Intina (Mi) Microspora. (nCe) Núcleo de la célula espermática. (nCg) Núcleo de la célula generatriz. (nCv) Núcleo de la célula vegetativa. (PEX) Pared de exina. (T) Tapete. (V) Vacuola. Barra escala: 15 μ m

Neobuxbaumia tetetzo

La etapa más temprana que se pudo estudiar corresponde a un primordio de antera que ya posee cuatro lobulaciones que corresponden a los cuatro microsporangios (Fig. 11a). Cada microsporangio presenta una pared formada por la epidermis y dos estratos. El estrato adyacente al lóculo de la antera se está dividiendo periclinalmente, para formar una capa media y el tapete. En el centro del microsporangio están las células esporógenas con núcleos y nucleólos muy conspicuos (Fig. 11b).

Avanzado el desarrollo, la pared de la antera (por debajo de la epidermis) está constituida por dos capas celulares: el endotecio adyacente a la epidermis y el tapete adyacente al lóculo. En medio de ambas capas existen los restos de la capa media uniestratificada, que en esta etapa está degenerando. La capa media igual que en *C. columna- trajani*, es uniestratificada, muy efímera y producto de la división de la capa secundaria interna. El tapete es una capa de células grandes, con contenido citoplásmico denso, que limitan externamente al lóculo que contiene a las células madres de las microsporas diploides (Fig. 11c). Las células del tapete son evidentemente más grandes que el resto de la pared de la antera y en esta etapa presentan más de un núcleo (Fig.11d).

Las células madre de las microsporas diploides se rodean de una pared de calosa e inician una división meiótica que produce una tétrada de microsporas haploides, rodeadas de calosa. Su forma es tetraédrica (Fig. 11e).

El tapete comienza a degenerar cuando las microsporas se liberan de la tétrada y en el lóculo se diferencian los granos de polen, engrosando su exina, formando su intina y dividiendo su núcleo (cariocinesis). Sus tres aberturas se hacen evidentes (Figs. 11f y 12a). El tapete es típicamente secretor.

El endotecio forma engrosamientos en barra en las paredes anticlinales (radiales) y en la pared periclinal interna. En esta etapa es la única capa de la pared de la antera que persiste (Fig. 12b).

El grano de polen joven es uninucleado, pero sufre una división mitótica (cariocinesis) para formar dos células. La más grande es la célula vegetativa y dentro de esta se forma otra célula más pequeña que es la célula generatriz (Fig. 12c). Las tres aberturas del grano de polen se hacen evidentes, así como la exina engrosada.

Al momento de su liberación de la antera, los granos de polen son tricelulares. El núcleo de la célula vegetativa que formará el tubo polínico es mucho más grande que los núcleos de las células espermáticas que irán en su interior (Fig. 12d).

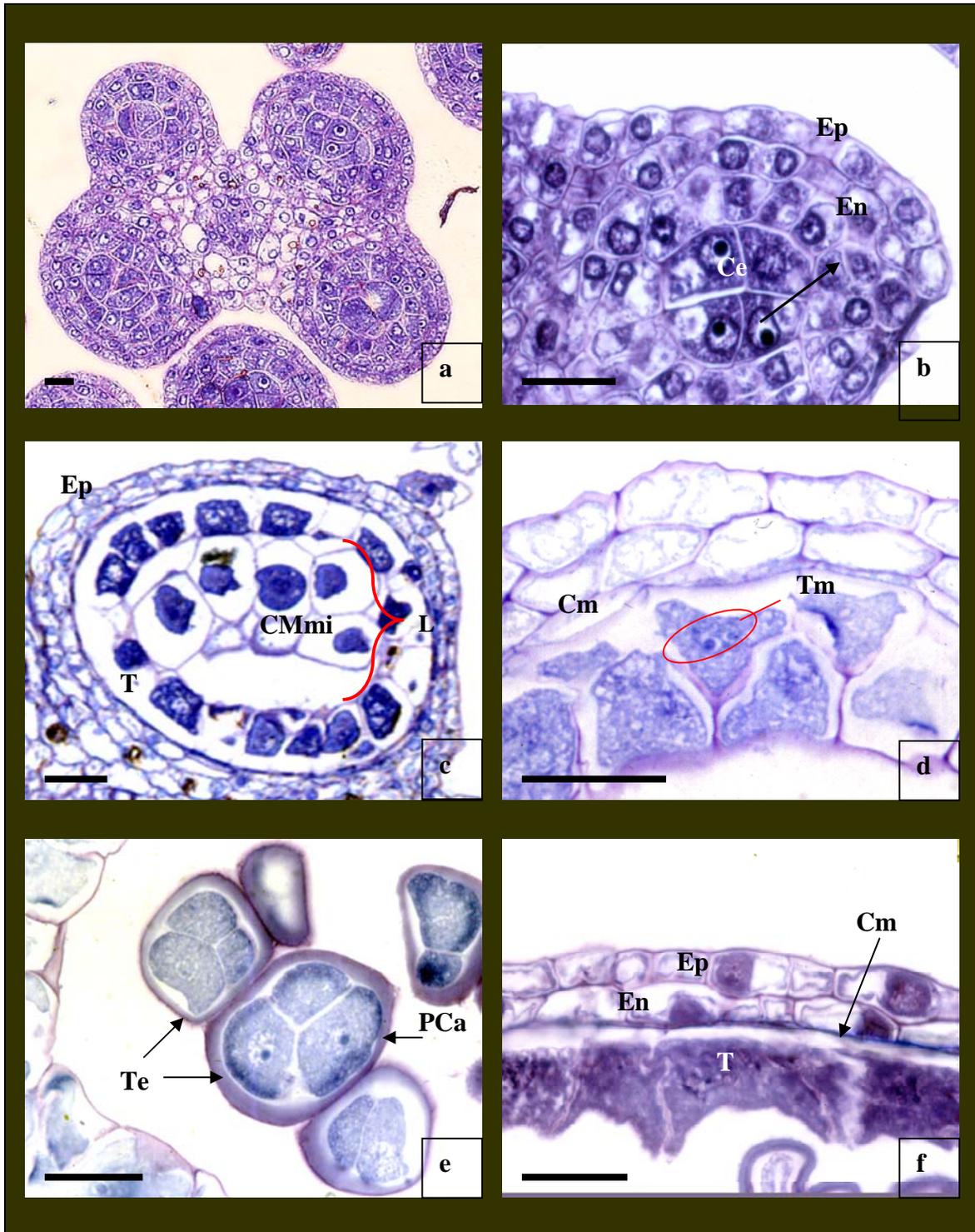


Fig. 11. Corte transversal de antera de *Neobuxbaumia tetetzo*; **a)** Antera tetrasporangiada. 75X; **b)** Esporangio de antera joven, la flecha señala una división periclinal. 375X; **c)** Células madre de las microsporas en el lóculo del esporangio. 100X; **d)** Pared de antera con cuatro estratos celulares, las células del tapete son multinucleadas y la capa media en proceso de degradación. 375X; **e)** Etapa de tétradas. 375X; **f)** Pared de antera con tres estratos celulares. El tapete en proceso de degradación. 375X. (Ce) Células esporógenas. (Cm) Capa media. (CMmi) Célula madre de las microspora. (En) Endotecio. (Ep) Epidermis. (PCa) Pared de calosa. (T) Tapete. (Te) Tétrada. (Tm) Tapete multinucleado. Barra escala: 15µm.

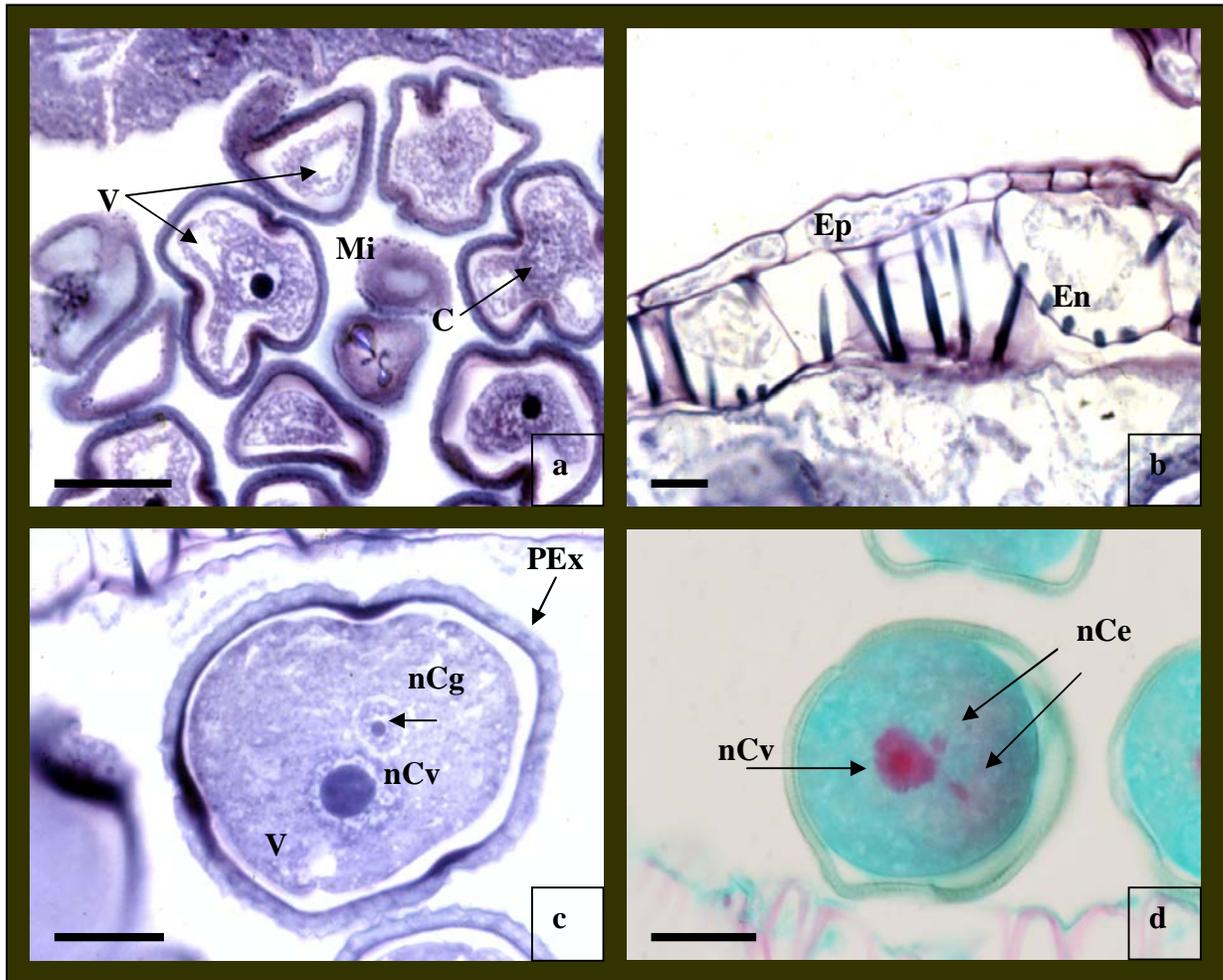


Fig. 12. Etapas tardías del desarrollo del grano de polen en *Neobuxbaumia tetetzo*; **a)** Microsporas. 375X; **b)** Engrosamientos del endotecio. 250X; **c)** Grano de polen bicelular. 375X; **d)** Grano de polen tricolular. 200X. (C) Cariocinesis. (En) Endotecio. (Ep) Epidermis. (Mi) Microspora. (nCe) Núcleo de la célula espermática. (nCg) Núcleo de la célula generatriz. (nCv) Núcleo de la célula vegetativa. (PEx) Pared de exina. (V) Vacuola. Barra escala: 15µm.

Taxón Híbrido

La antera es tetrasporangiada y su pared en etapas muy tempranas del desarrollo está formada por tres capas, todas monoestratificadas: Una capa adyacente a la protodermis que se diferenciará en el endotecio, otra capa adyacente al lóculo que se diferenciará en el tapete y entre ellas una sola capa media. En el lóculo se encuentran las células esporógenas, que se diferenciarán en las células madre de las microsporas (Figs. 13a y 13b).

Las células de la pared de la antera siguen dividiéndose y creciendo con excepción de la capa media, lo que provoca que muy pronto degeneren. El tapete sigue creciendo y acumulando sustancias en su citoplasma que se observa denso. Las células madres de las microsporas o microsporocitos se rodean de una pared de calosa y se preparan para la división meiótica (Fig. 13c). El tapete entra en mayor actividad, incrementando el número de núcleos por célula. En algunas células se aprecian hasta cuatro núcleos (Figs. 13d).

La capa media ahora se observa como una línea oscura entre el endotecio y el tapete, al mismo tiempo en que las células madres de las microsporas entran en meiosis (Fig. 13e). Se producen cuatro microsporas haploides, rodeadas por calosa y de tipo tetraédrico (Fig. 13f).

Posterior a la liberación de las microsporas haploides de la tétrada, el tapete degenera y desaparece, produciendo sustancias que libera al lóculo. El tapete es

del tipo secretor. Las microsporas (granos de polen jóvenes) se liberan al lóculo ya con la exina formada y las tres aberturas evidentes (Figs. 14a y 14b).

Mas tarde en el desarrollo, la única capa de la pared de la antera que permanece es el endotecio, con sus engrosamientos en barra (Figs. 14c y 14d).

El único núcleo de los granos de polen unicelulares presenta cariocinesis sin citocinesis y forma una célula dentro de la otra. La célula que contiene es la vegetativa y la célula que yace en el citoplasma es la generatriz. La célula generatriz presenta una forma de media luna con el núcleo muy conspicuo y muy poco citoplasma. La exina se ha engrosado y se hacen evidentes las tres aberturas, el citoplasma de la célula vegetativa es muy denso. (Fig. 14e).

Muy poco antes de la dehiscencia de la antera, la célula generatriz se divide para formar dos células espermáticas, de esta manera, el grano de polen en el momento de su liberación es tricelular (Fig. 14f). Este evento se presenta en botones florales muy próximos a la antesis.

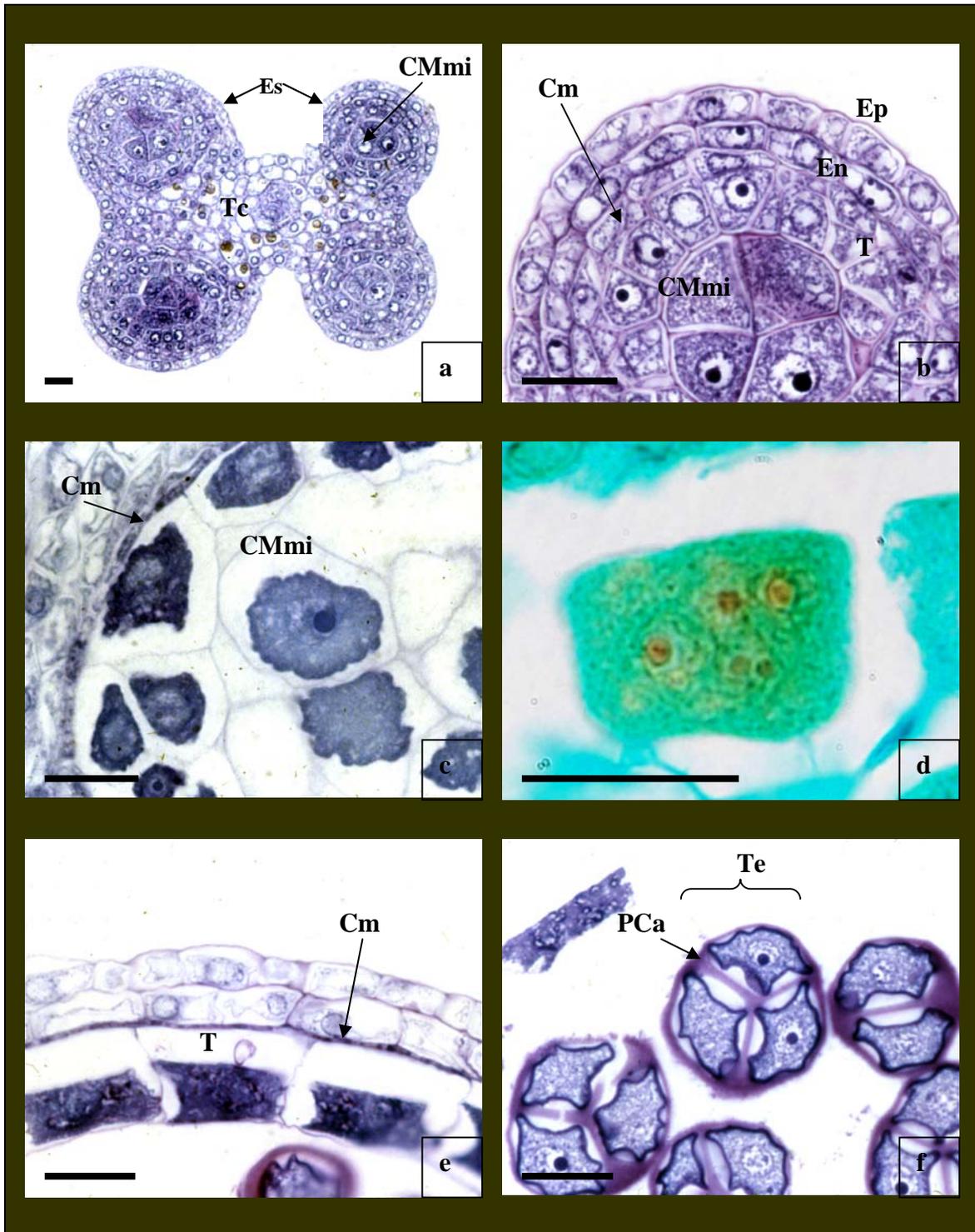


Fig. 13. Corte transversal de antera del híbrido entre *Cephalocereus columna-trajani* y *Neobuxbaumia tetetzo*; **a)** Antera tetrasporangiada. 100X; **b)** Pared de antera con cuatro estratos celulares y en el centro células madre de las microsporas. 375X; **c)** Capa media de la pared de antera en degradación y células madre de las microsporas rodeadas de calosa. 375X; **d)** Célula del tapete multinucleada. 500X; **e)** Tapete secretor y la capa media casi totalmente degradada. 375X; **f)** Tétradas de microsporas. 375X. (Cm) Capa media, (CMmi) Célula madre de las microspora. (En) Endotecio. (Ep) Epidermis. (Es) Esporangio. (PCa) Pared de calosa. (T) Tapete. (Tc) Tejido conectivo. (Te) Tétrada. Barra escala: 15µm

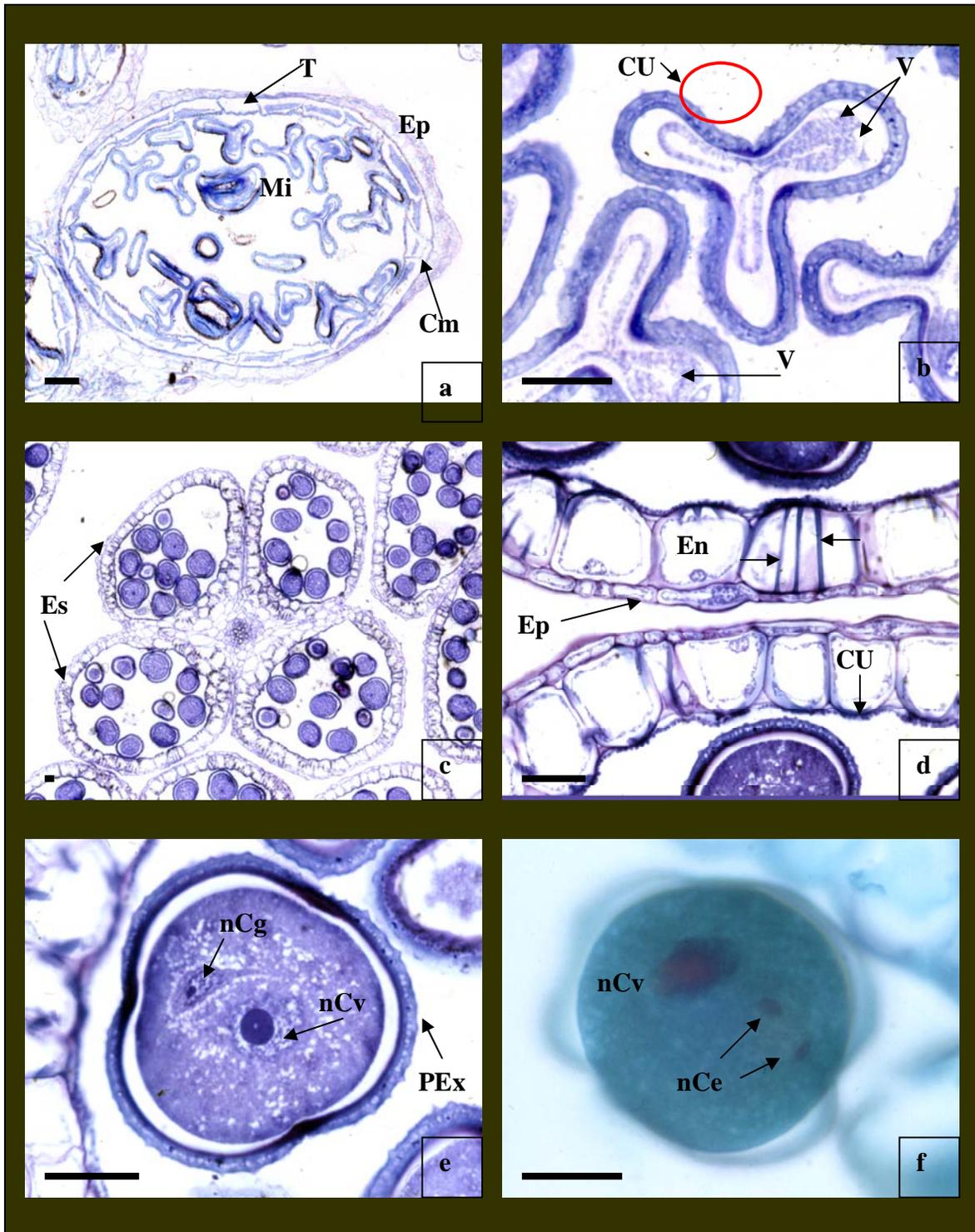


Fig. 14. Corte transversal de antera del híbrido entre *Cephalocereus columna-trajani* y *Neobuxbaumia tetetzo*; **a)** Tapete en degradación y microsporas en el lóculo. 75X; **b)** Microsporas jóvenes. 375X; **c)** Antera tetrasporangiada con granos de polen jóvenes. 37.5X; **d)** Pared de antera con dos estratos y con engrosamientos en el endotecio (Flechas). 250X; **e)** Grano de polen bicelular. 375X; **f)** Grano de polen tricelular. 250X. (CU) Cuerpos de Ubisch. (En) Endotecio. (Ep) Epidermis. (Es) Esporangio. (Mi) Microspora. (nCv) Núcleo de la célula vegetativa. (nCe) Núcleo de la célula espermatocítica. (nCg) Núcleo de la célula generatriz. (PEx) Pared de exina. (T) Tapete. (V) Vacuola. Barra escala: 15µm.

VI. 4 Prueba de Viabilidad

La prueba de Alexander estimó un porcentaje de granos de polen viables por arriba del 90% para las especies parentales y para el híbrido (Tabla 5).

Tabla 5. Porcentaje de viabilidad en polen obtenido a través de la prueba de Alexander

Especie	% de viabilidad y			% de viabilidad Promedio
	desviación estándar (s) por			
	temporada			
	Año 1	Año 2	Año 3	
<i>Cephalocereus columna-trajani</i>	97.82	98.48	98.79	98.36%
<i>Neobuxbaumia tetetzo</i>	97.86	96.55	98.73	97.71%
Híbrido	90.56	95.44	91.78	92.59%

VII. DISCUSIÓN

Con base en la hipótesis planteada por Vite *et al.* (1996) sobre la probable esterilidad del híbrido, ésta queda descartada con respecto a la parte masculina de la flor (androceo), por lo menos en lo referente al correcto desarrollo del androceo y de los granos de polen. La prueba de Alexander estimó valores de viabilidad muy altos para las especies parentales y para su híbrido, lo cual indica la gran capacidad de los granos de polen para mantenerse vivos y así poder germinar en el estigma.

El estudio micromorfológico de los granos de polen reveló diferencias y similitudes entre las especies parentales y entre ellas y su híbrido. La forma y el tipo de aberturas, la ornamentación, composición y grosor de la pared de exina, el tipo de asociación, la simetría y la polaridad resultaron ser exactamente iguales en las especies parentales y lógicamente heredaron características idénticas a su híbrido. El mismo caso se presenta al determinar el tamaño del área polar y la forma del contorno en los granos de polen. En algunas características, sin embargo, la diferencia entre las especies parentales es significativa. Evidencia de esto es la diferencia en la forma de los granos de polen, pues mientras en *Cephalocereus columna-trajani* la forma subprolato es dominante con un 96%, en *Neobuxbaumia tetetzo* esta forma, a pesar de ser también dominante sólo representa al 56% de la muestra, mientras el 44% restante está representado en su mayoría por la forma prolato (40%). La misma característica fue determinada para el híbrido con un resultado idéntico al obtenido para *C. columna-trajani*, lo

cual estableció cierta tendencia (por lo menos en esta característica) con respecto a sus especies parentales. Esta tendencia se hizo aún más evidente en otra característica: el tamaño del grano de polen.

El análisis comparativo entre los tres taxa de cactáceas columnares con relación al tamaño del grano de polen, estableció una diferencia significativa entre las dos especies parentales, siendo *C. columna-trajani* la especie con el grano de polen más grande (tamaño promedio). Por otra parte, al hacer el análisis comparativo entre el híbrido y sus parentales, se estimó una diferencia significativa solamente entre el híbrido y *N. tetetzo*, siendo el grano de polen de *N. tetetzo* significativamente más pequeño (tamaño promedio). Así, los granos de polen del híbrido y de *C. columna-trajani* son iguales en tamaño (en promedio) y significativamente más grandes que los de *N. tetetzo*.

En resumen las características de forma y tamaño del grano de polen fueron las únicas en las cuales hubo diferencias entre los taxa comparados. La especie parental *N. tetetzo* resultó ser diferente de *C. columna-trajani* y del híbrido entre ellas. *C. columna-trajani* no presentó diferencias con respecto al híbrido.

Las observaciones realizadas en el MEB confirmaron los resultados obtenidos en el microscopio fotónico en cuanto a la determinación de la ornamentación de la pared de exina y del tipo de aberturas. Las especies parentales y su híbrido presentan el mismo tipo de aberturas (colpos) y la misma ornamentación (tectada, microequinada y perforada).

Con respecto al desarrollo de la antera, las primeras etapas de desarrollo, es decir, las etapas donde las células esporógenas aún no se forman y donde los tejidos presentes se reducen a una epidermis y una hipodermis (Shivanna, 2003), no se presentaron, debido a que no se contó con botones florales lo suficientemente pequeños en los cuales estas etapas estuvieran representadas. Particularmente en *C. columna-trajani* el cefalio dificultó en gran medida la colecta de los botones. La antera en los tres taxones es tetrasporangiada y presenta en el periodo premeiótico, un desarrollo completo de los tejidos de la pared y de los que participan en la producción de los granos de polen, siendo éstos: a) la epidermis, b) el endotecio, c) la capa media, d) el tapete y e) el tejido esporógeno. *Neobuxbaumia tetetzo* presenta un desarrollo de tipo monocotiledóneo con respecto al origen de la capa media, la cual se desarrolla del mismo tejido que da origen al tapete, y suponemos que, como en las cactáceas en general, *Cephalocereus columna-trajani* y el taxón híbrido también presentan el mismo tipo. El proceso de meiosis en las células madre de las microsporas (CMMi's) se muestra de mejor manera en *C. columna-trajani*, donde se observa la deposición de calosa y la compactación de cromatina en las primeras etapas de la meiosis. Cabe mencionar que aunque estos fenómenos no se observaron para los otros dos taxa, la presencia de tétradas bien formadas nos indica el paso forzoso de los granos de polen por la etapa de meiosis.

Durante la etapa de tétradas de microsporas, la capa media en los tres taxa se ha desintegrado antes que cualquier otro tejido (particularmente el tapete), lo cual

concuerta con lo descrito para anteras con una sola capa media en las familias Cactaceae, Dipsacaceae y Valerianaceae (Batygina, 2002).

Las tétradas se desarrollan normalmente en los tres taxa, con una pared de calosa completa y sin anormalidades. Las microsporas liberadas de estas tétradas, al inicio del periodo postmeiótico, ciertamente no presentan la forma turgente y casi circular (en corte transversal) observada en las últimas etapas del desarrollo; de hecho, las microsporas libres en la especie híbrida presentan formas aun más diferentes; sin embargo, de acuerdo con Greyson (1994) esto es normal, pues la forma y composición de las microsporas, al ser liberadas, es diferente de la que tienen los granos de polen maduros. Esta transición involucra cambios en la forma, en el tamaño, en el citoplasma y en la pared. En las imágenes se muestran formas plurianguladas, que en etapas posteriores (polen maduro) no vuelven a presentarse y ello puede deberse a la acumulación de sustancias provenientes del fluido locular y del tapete, que son esenciales para la maduración del polen (Greyson, 1994 y Pacini, 2000). Aunado a esto no se observaron anormalidades en la pared de la microspora, ni en su citoplasma, donde claramente se presentan el núcleo, el nucléolo y las grandes vacuolas.

La maduración de los granos de polen se presenta de manera normal en los tres taxa. En esta etapa se observa gran cantidad de vacuolas dentro de las microsporas, lo cual concuerda con lo descrito por Gotelli *et al.* (2009), en su trabajo dedicado al desarrollo de polen en especies del género *Pterocactus*.

Estas vacuolas tienen como función el almacenaje de almidón en la microspora (Pacini *et al.*, 2000).

La formación de granos de polen tricelulares está claramente ilustrada para los tres taxa. En el 70 % de las angiospermas estudiadas los granos de polen son liberados al ambiente en estado bicelular (Greyson, 1994), mientras que en el 30% restante se liberan en un estado tricelular, debido a una nueva división mitótica de la célula generatriz. La presencia de granos de polen tricelulares clasifica a las dos especies parentales y a su híbrido dentro del 30% de las angiospermas en las cuales el polen se libera de esta forma.

En resumen, el desarrollo de la antera y de los granos de polen en las especies parentales y en el híbrido concuerda perfectamente con el descrito para la familia Cactaceae (Johri *et al.* 1992; Davis, 1966; Walter y Doyle, 1975) y particularmente para la tribu Pachycereeae (Núñez-Mariel, 2005).

Dados estos resultados se afirma categóricamente que no existe evidencia de esterilidad en el androceo, en su desarrollo, ni en la estructura o viabilidad de los granos de polen del híbrido entre *N. tetetzo* y *C. columna-trajani*.

VIII. CONCLUSIONES

- La evidencia morfológica presentada en este trabajo demuestra que los granos de polen de *Cephalocereus columna-trajani*, de *Neobuxbaumia tetetzo* y del híbrido se desarrollan de manera normal, produciendo granos de polen morfológicamente bien desarrollados.
- De acuerdo con la evidencia, los granos de polen de *Cephalocereus columna-trajani*, de *Neobuxbaumia tetetzo* y del híbrido tienen alta viabilidad.
- En general los granos de polen de la especie híbrida son más parecidos a los presentes en *Cephalocereus columna-trajani* que a los presentes en *Neobuxbaumia tetetzo*.

Simetría

La simetría es la cualidad inherente que tiene un cuerpo, por la que es capaz de dividirse en mitades iguales o similares (Fernández y Díez, 1990). El plano ecuatorial divide al grano de polen en dos hemisferios, si estos son iguales el grano de polen es llamado isopolar, si son diferentes es llamado heteropolar (Shivanna, 2003). Por su parte el número de planos de simetría verticales depende del número y posición de las aberturas. Walker y Doyle (1975) establecen dos tipos de polen según su simetría basada en el número de planos verticales; radiosimétricos y bisimétricos.

Los granos de polen radiosimétricos según Walker y Doyle (1975) son aquellos que presentan tres o más planos de simetría verticales, que pasan por el eje polar. Por otra parte los granos de polen bisimétricos son aquellos que tienen solo dos planos de simetría verticales. Dentro de estos últimos, Fernández y Díez (1990), distinguen otros dos tipos; el isobisimétrico y el heterobisimétrico. Entre ellos la única diferencia es que en los primeros, los ejes ecuatoriales son de igual longitud, contrario a lo que ocurre en el polen heterobisimétrico. Las diferentes combinaciones han sido establecidas en la Tabla 6.

Tabla 6. Tipos de simetría en granos de polen (Tomado de Fernández y Díez, 1990).

Simetría			Asimétricos
Radiosimétricos	Bisimétricos		
	Isobisimétricos	Heterobisimétrico	

ISOPOLARES	Vista ecuatorial	Vista Polar		Vista ecuatorial	Vista Polar		Vista ecuatorial	Vista Polar				
HETEROPOLARES	Vista ecuatorial	Vista polar										
		Proximal	Distal									

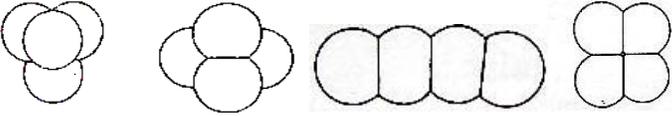
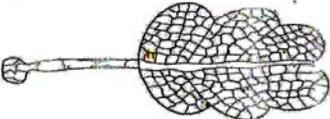
*El cuadro ha sido modificado del original de acuerdo a la recomendación de Nilsson y Muller

(1978) que no consideran el término "subisopolar" por lo que este ha sido suprimido de la tabla.

Asociación

Los granos de polen pueden presentarse en forma de unidades individuales, llamadas mónadas o asociados con otros granos de polen. Cuando se encuentran asociados, son llamados granos de polen compuestos (Pacini, 1997). El número de granos de polen en una asociación puede ser de dos (díada), cuatro (tétrada) o múltiples de cuatro (poliada), incluso se pueden asociar un gran número de granos de polen en una estructura conocida como másula (en miembros de la familia Orchidaceae) o en forma de polinia, estructura en la cual todas las microsporas de un esporangio permanecen juntas (Shivanna, 2003) (Tabla 7).

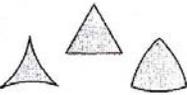
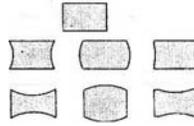
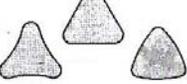
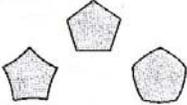
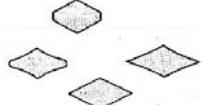
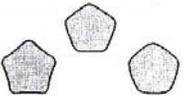
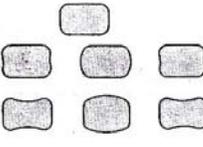
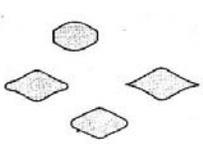
Tabla 7. Tipos de asociación de granos de polen.

Asociación	Diagrama de la asociación
Díada	
Tétrada	
Políada	
Másula	
Polinia	

Contorno meridional y polar

El contorno de un grano de polen puede ser utilizado para describir la forma general de un grano de polen de manera sencilla* (Moore *et al.*, 1991). La forma del contorno es observada desde un punto de vista meridional y desde un punto de vista polar, y de acuerdo a esas observaciones se ha establecido una clasificación (Tabla 8).

Tabla 8. Tipos de contorno para granos de polen (Tomado de Reitsma, 1970; en Moore *et al.*, 1991)

	CONTORNO POLAR		CONTORNO MERIDIONAL	
NO-ANGULAR	CIRCULAR 		CIRCULAR 	
	ELIPTICO 		ACUMINADO 	
			EMANADO 	
ANGULAR	TRIANGULAR	AGUDO 	RECTANGULAR 	
		OBTUSO 		
	QUINQUANGULAR	AGUDO 	ROMBICO 	
		OBTUSO 		
			OBTUSO 	
			OBTUSO 	

*Para los autores es el mejor método pues consideran difícil determinar la forma debido a variaciones provocadas por el método de extracción y el medio de inclusión, además de las dificultades que implica analizar un objeto tridimensional con un microscopio bidimensional normal. A pesar de esto existen métodos alternativos que establecen otras clasificaciones.

Tamaño

El tamaño de los granos de polen es altamente variable y el rango va de 5 hasta 200 μm . En la mayoría de las especies el tamaño del polen varía entre 15 y 50 μm pero existen especies en las cuales los granos de polen alcanzan tamaños muy grandes, como por ejemplo en *Crossandra* en la cual el tamaño es mayor a 500 μm o en las plantas de los géneros *Amphibolis* y *Zostera* donde el tamaño de los granos de polen alcanza los 5 mm (Shivanna, 2003).

Kremp (1965) describe el tamaño de los granos de polen por medio de dos cálculos. El primero es el promedio de la longitud del eje polar y el segundo es el promedio de la longitud del eje ecuatorial. En un estudio palinológico debe mencionarse además de los promedios el rango de los datos obtenidos para cada eje.

Forma

La forma de los granos de polen es importante para su análisis. Kremp (1965) desarrolló una clasificación basándose en un índice que relaciona al eje polar con el eje ecuatorial. Este índice representa el cociente entre los valores de longitud (E) obtenidos para el eje polar y los valores de longitud (P) obtenidos para el eje ecuatorial. Así la relación E/P de cada grano de polen determina su forma de acuerdo a esta clasificación (Tabla 4). El porcentaje que presente cada forma de acuerdo al total de los granos de polen en una especie debe ser mencionado, así como su rango de datos.

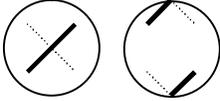
Tabla 9. Clasificación de los granos de polen según su forma. (Tomado de Kremp, en Pérez, 2007)

Forma	Índice P/E
Perprolato	>2
Prolato	2.0 – 1.33
Subprolato	1.33 - 1.14
Prolato-esferoidal	1.14 – 1.0
Oblato-esferoidal	1.0 – 0.88
Suboblato	0.88 – 0.75
Oblato	0.75 – 0.50
Peroblato	<0.50

Aberturas

Las aberturas son las áreas del grano de polen en las cuales el tubo polínico emerge durante la germinación del polen. En éstas, la pared de exina está ausente para facilitar la germinación. Existen diversos tipos de abertura y son clasificados con base en su forma, número y posición (Shivanna, 2003). La clasificación es simple y consistente. El número de aberturas es indicado con el prefijo *mono-*, *di-*, *tri-*, *tetra-*, *penta-*, *hexa-*, antes de indicar el tipo de abertura. Seguido de esto se escribe el tipo de abertura (Tabla 10). Granos de polen con poros, son llamados *porados*; con colpos, *colpados*, etc. Incluso pueden existir granos de polen con poros y colpos, los cuales son llamados *colporados* (Moore *et al.*, 1991).

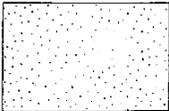
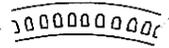
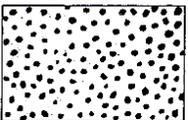
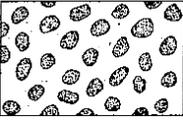
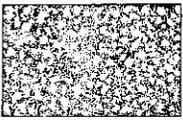
Tabla 10. Tipo de aberturas. (Tomado de Erdtman, 1965; en Fahn, 1990).

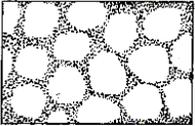
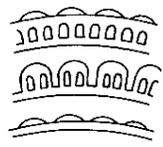
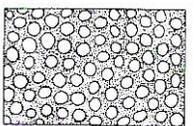
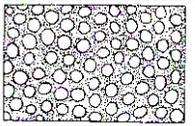
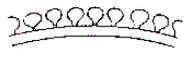
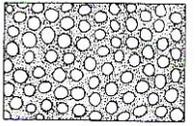
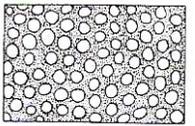
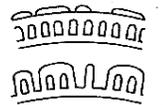
Tipo de abertura	
Sulco: Hendidura elongada perpendicular al eje polar	
Colpo: hendidura elongada perpendicular al eje ecuatorial. Sus terminaciones están dirigidas a los polos	
Ruga : Una hendidura elongada en la cual la dirección difiere del sulco y del colpo	
Poros: Una apertura circular.	

Exina

La pared de exina del grano de polen esta dividida en una capa externa y ornamentada llamada sexina y en una capa interna no ornamentada llamada nexina. La sexina tiene la forma de un grupo de varillas (columelas) radialmente dirigidas que sostienen un techo (*tectum*). El báculo es una “varilla” que no sostiene a ningún elemento. El tectum puede ser completo parcial o ausente. En el primer caso se dice que la exina es tectada, en el segundo que es semitectada y en el último caso que es intectada (Moore *et al.*, 1991). Teniendo en cuenta el tipo de ornamentación y la presencia o ausencia del tectum es posible clasificar a los granos de polen en diversas categorías (Tabla 11).

Tabla 11. Tipos de ornamentaciones. (Tomado de Moore, 1991).

Tipo	Descripción	Vista de superficie	Sección de la pared
Psilada	Superficie completamente lisa		
Perforada	Superficie como pequeñas perforaciones menores a 1µm de diámetro		
Faveolada	Con perforaciones o depresiones mayores a 1µm de diámetro		
Escabrada o Granulada	Con elementos variados en forma y menores a 1µm de diámetro		

Verrugada	Con elementos mayores a $1\mu\text{m}$ parecidos a verrugas mas anchos que altos y sin constricción en su base.		
Baculada	Con elementos en forma de varilla mas largos que anchos y mayores a $1\mu\text{m}$ de alto.		
Gemada	Con elementos mas anchos que largos y constreñidos en su base. mayores a $1\mu\text{m}$ de altura.		
Claveada	Elementos circulares mayores a $1\mu\text{m}$ de alto, parecidos a un báculo más grueso en la punta que en la base.		
Pilada	Con elementos en forma de varilla, pero con una cabeza en forma de botón o perilla, mayores a $1\mu\text{m}$.		
Equinada	Con elementos puntiagudos mayores a $1\mu\text{m}$.		
Rugulada	Con elementos elongados en cualquier dirección y arreglados en un patrón irregular. Mayores a $1\mu\text{m}$.		
Estriada	Con elementos elongados en cualquier dirección que corren mas o menos paralelos. La Longitud es al menos 2 veces la anchura		
Reticulada	Con báculos fusionadas formando estructuras elevadas como muros y con depresiones entre ellas. Los muros igual o menos anchos que las depresiones		

Área Polar

Las áreas de un grano de polen que no son ocupadas por las aberturas son llamadas de diferentes maneras y depende primero del tipo de aberturas adyacentes y segundo de la posición de esas aberturas. El área bordeada por dos colpos es llamada mesocolpio mientras que la bordeada por dos poros es llamada mesoporio. Las áreas de los polos que no están ocupadas por las aberturas se llaman apocolpio, si las aberturas que se encuentran arregladas en esa zona son colpos, y apoporio si las aberturas que se encuentran arregladas en esa zona son poros.

Kremp (1965) desarrolló una clasificación para determinar el tamaño del área polar, en función de un Índice (Tabla 12) que relaciona el diámetro del grano de polen (D) en vista polar, con la distancia entre aberturas (en esa misma vista) (d). Así el cociente d/D de acuerdo a esta clasificación determina la magnitud del área polar.

Tabla 12. Clases e índices clases del apocolpio. (Tomado de Kremp, en Pérez, 2007)

Área polar (índice del apocolpio)	
Índice	Tamaño
I. P. = (0)	Área polar ausente
I. P. = (0 – 0.25)	Área polar pequeña
I. P. = (0.25 – 0.50)	Área polar mediana
I. P. = (0.50 – 0.75)	Área polar grande
I. P. = (0.75)	Área polar muy grande

BIBLIOGRAFÍA

- Arias, A. A., M. T. Valverde, y J. Reyes.** 2001. Las plantas de la región de Zapotitlán Salinas, Puebla. Instituto Nacional de Ecología, UNAM, México.
- Arias, S., S. G. López y L. U. Guzmán.** 1997. Flora del Valle de Tehuacán-Cuicatlán. Fascículo 14. Cactaceae. Instituto de Biología, UNAM. México.
- Arias, S. y T. Terrazas.** 2008. *xPachebergia* (Cactaceae), un notogénero del occidente de México, *Revista Mexicana de Biodiversidad*, **79**: 23-28.
- Arnold, M. L. y S. A. Hodges.** 1995. Are natural hybrids fit or unfit relative to their parents?, *Trends in Ecology and Evolution*, **10**: 67-71.
- Arnold, M. L., E. K. Kentner, J. A. Johnston, S. Cornman, y A. C. Bouck.** 2001. Natural hybridization and fitness. *Taxon*, **50**: 93–104.
- Arnold, M. L., M. R. Bulger, y J. M. Burke.** 1999. Natural hybridization: how low can you go and still be important?. *Ecology*, **80**: 371–381.
- Batygina, T. B. (Ed).** 2002. Embryology of Flowering Plants. Terminology and concepts, Vol. 1: Generative organs of flower. Science Publishers, Inc. India.
- Becerra, R.** 2000. Las cactáceas, plantas amenazadas por su belleza. *Biodiversitas*, **32**: 2-5.
- Benega-García, R., B. Schneider, N. Tel-Zur.** 2009. Androgenesis in the vine cacti *Selenicereus* and *Hylocereus* (Cactaceae), *Plant Cell Tiss Organ Cult*, **96**: 191-199.
- Bravo-Hollis, H.** 1978. Las cactáceas de México, Vol. I. Universidad Nacional Autónoma de México. México.

- Burke, J.M. y Arnold, M.L.** 2001. Genetics and the fitness of hybrids. *Annual Review of Genetics*, **35**: 31–52.
- Casas, A.** 2002. Uso y manejo de cactáceas columnares mesoamericanas. *Biodiversitas*, **6**: 18-22.
- Charlesworth, D.** 1995. Hybrid speciation: evolution under the microscope, *Current Biology*, **5**:835-836.
- Cruz, G. Z. Y.** 2002. Caracterización morfológica y molecular de un posible híbrido entre *Escontria chiotilla* y *Polaskia chichipe* (Cactaceae). Tesis de Licenciatura, Facultad de Ciencias, UNAM.
- D'Arcy, W, G. y R. C. Keating (eds.)** The Anther, Form, Function and Phylogeny. Cambridge Univ. Press. New York.
- Dafni, A., M. Hesse y E. Pacini (Eds).** 2000. Pollen and pollination. Springer Wien New York, New York.
- Davis, G. L.** 1966. Systematic embryology of the angiosperms. John Wiley and sons. N. Y., London, Sydney.
- Esau, K.** 1976. Anatomía Vegetal. Omega. Barcelona.
- Fahn, A.** 1990. Plant Anatomy. Pergamon Press. Oxford.
- Fernández, I. y M. J. Díez.** 1990. Algunas consideraciones sobre terminología palinológica. I, Polaridad y Simetría, *Lagasalia*, **16**: 51-60.
- Fleming, T. H. y A. Valiente-Banuet.** 2002. Columnar cacti and their mutualist: Evolution, Ecology and Conservation. The University of Arizona Press.
- Friedrich, H.** 1974. Hybridization as a factor in evolution of the Cactaceae. *Cactus and Succulent Journal* (Los Ángeles) **46**: 213–214.

- Garcia de Almeida, O. J., A. A. Sartori-Paoli y L. A. De Souza.** 2010. Flower morpho-anatomy in *Epiphyllum phyllanthus* (Cactaceae), *Revista Mexicana de Biodiversidad*, **81** : 65-80.
- Glass, C.** 1963. Probable híbrido de *Myrtillocactus* y *Lemaireocereus*. *Cactáceas y Suculentas Mexicanas*, **8**: 36–37.
- Glass, C. y R. Foster.** 1970. Mexico logbook. *Cactus and Succulent Journal* (Los Angeles), **42**: 268.
- Grant, V. y K. A. Grant.** 1971. Natural hybridization between the cholla cactus species *Opuntia spinosior* and *Opuntia versicolor*. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, **68**:1993–1995.
- Grant, V. y K. A. Grant.** 1979. Hybridization and variation in the *Opuntia phaeacantha* Group in central Texas. *Botanical Gazette*, **140**: 208–215.
- Grant, V. y K. A. Grant.** 1980. Clonal microspecies of hybrid origin in the *Opuntia lindheimeri* group. *Botanical Gazette*, **141**: 101–106.
- Greyson, R.** 1994. The Development of flowers. Oxford University Press. USA.
- Gotelli, M. M., A. Scambato, B. Galati y R. Kiesling.** 2009. Pollen development and morphology in four species of *Pterocactus* (Cactaceae), *Annales Botanici Fenicci*, **46**: 409-415.
- Johri, B. M., K. B. Ambegaokar y P. S. Srivastava.** 1992. Comparative embryology of Angiosperms Vol. 1. Springer-Verlag. Germany.
- Keating, R. C.** 1996. Anther investigations: a review of methods, Pp. 255-271, in D'Arcy, W. G. y R. C. Keating (eds.) *The Anther, Form, Function and Phylogeny*. Cambridge Univ. Press. New York.

- Kirk, H., M. Mačel, P. Klinkhamer y K. Vrieling.** 2004. Natural hybridization between *Senecio jacobaea* and *Senecio aquaticus*: molecular and chemical evidence, *Molecular Ecology*, **13**, 2267-2274.
- Kremp, G. O. W.** 1965. Morphology encyclopedia of palinology. The University of Arizona press. Arizona.
- Lester, R. N. y J. H. Kang.** 1998. Embryo and endosperm function and failure in *Solanum* species and hybrids. *Annals of Botany*, **82**: 445-453.
- López, C. Ma. de L., J. Márquez y G. Murguía.** 2005. Técnicas para el estudio del desarrollo en angiospermas. *Las prensas de ciencias*, UNAM. México.
- Machado, M.** 2008. What is the role of hybridization in the evolution of the cactaceae?. *Bradleya*, **26**: 1-18.
- Moore, P. D., J. A. Webb y M. E. Collinson.** 1991. Pollen Analysis. Blackwell Scientific publication. GB.
- Moran, R.** 1963. Dos híbridos naturales de *Bergerocactus*. *Cactáceas y Suculentas Mexicanas* **8**: 59-61.
- Niklas, K. J.** 1997. *The evolutionary biology of plants*. The university of Chicago Press.
- Nilsson, S. y J. Muller.** 1978. Recommended palynological terms and definitions, *Grana*, **17**: 55-58.
- Núñez-Mariel, C. Y.** 2001. Embriología de *Pachycereus militaris* (Audot) Hunt (Cactaceae), *Boletín de la Sociedad Botánica de México*, **68**: 5-13.
- Núñez-Mariel, C. Y.** 2005. Cactáceas columnares de México: estudio embriológico comparativo de cinco especies de la tribu pachycereeae. Tesis de Doctorado, Facultad de Ciencias, UNAM.

- Pacini, E. 2000.** Anther opening and pollen presentation. Pp 19-35, in Dafni, A., M. Hesse y E. Pacini (Eds). 2000. Pollen and pollination. Springer Wien New York. New York.
- Patiño, J.** 1986. Microtecnia Vegetal. Trillas. México.
- Pérez-Pacheco, M. K.** 2007. Estudio embriológico de la familia Pterostemonaceae endémica de México. Tesis de Maestría, Facultad de Ciencias. UNAM.
- Raven, P. H. y G. B. Johnson.** 2002. Biology. McGraw Hill. New York, NY.
- Rieseberg, L. H. y N. C. Ellstrand.** 1993. What can molecular and morphological markers tell us about hybridization?. *Critical Reviews in Plant Sciences*, **12**: 213-241.
- Rieseberg, L. H.** 1997. Hybrid Origins of Plants Species. *Annual Review Ecological Systematics*, **28**: 359-89
- Rowley, G.** 2004. Intergeneric hybrid in Cactaceae-2004 uptade. *British Cactus and Succulent Journal*, **22**: 64-65
- Rzedowski, J.** 1988. Vegetación de México. Limusa. México.
- Shivanna, K. R.** 2003. Pollen Biology and Biotechnology. Science Publishers, inc. India.
- Stebbins, G. L.** 1959. The role of hybridization in evolution. *Proceedings of the American Philosophical*, **103**: 231-251.
- Templeton, A. R.** 1981. Mechanisms of speciation: a population genetic approach. *annual review ecology and systematics*, **12**: 23–48.
- Valiente-Banuet, A., L. Solís, P. Dávila, M. del Coro, C. Silva, J. Ortega, J. Treviño, S. Rangel y A. Casas.** 2009. Guía de la vegetación del Valle de Tehuacán-Cuicatlán. Universidad Nacional Autónoma de México. México.

Villaseñor, J. L., Dávila, P. y Chiang, F. 1990. Fitogeografía del Valle de Tehuacán-Cuicatlán. *Boletín de la Sociedad Botánica de México*, **50**: 135–149.

Vite, F., E. Portilla, J. A. Zavala-Hurtado, P. L. Valverde y A. Díaz. 1996. A natural hybrid population between *Neobuxbaumia tetetzo* and *Cephalocereus columna-trajani* (Cactaceae). *Journal of Arid Environments* **32**: 395-405.

Walker, J. W. Y J. Doyle. 1975. The bases of Angiosperm phylogeny: *Palynology*. *Annals of the Missouri Botanical Garden*, **62**: 664-723

<http://www.conanp.gob.mx/tehuacan-cuicatlan/>