



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA  
DE MÉXICO

---

---

FACULTAD DE CIENCIAS

MORFOLOGÍA Y DESARROLLO DE LAS ESTRUCTURAS REPRODUCTIVAS

MASCULINAS EN *Prockia krusei* (SALICACEAE): UN SISTEMA

ANDRODIOICO

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

BIÓLOGA

P R E S E N T A:

KARLA MAYORGA- LIZAOLA

DIRECTOR DE TESIS:

DRA. GUADALUPE JUDITH MÁRQUEZ- GUZMÁN

2013





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 del Jurado

1. Datos del alumno  
Mayorga  
Lizaola  
Karla  
50 12 48 71  
Universidad Nacional Autónoma de México  
Facultad de Ciencias  
Biología  
101001814
2. Datos del tutor  
Dra.  
Guadalupe  
Judith  
Márquez  
Guzmán
3. Datos del sinodal 1  
Dra.  
Sonia  
Vázquez  
Santana
4. Datos del sinodal 2  
M. en C.  
Karina  
Jiménez  
Durán
5. Datos del sinodal 3  
Dra.  
Martha Juana  
Martínez  
Gordillo
6. Datos del sinodal 4  
Dr.  
César Antonio  
Abarca  
García
7. Datos del trabajo escrito  
59 p  
2013

## ÍNDICE

Resumen .....	5
Introducción .....	7
Antecedentes	
Taxonomía de Salicaceae .....	12
Características embriológicas de Salicaceae .....	13
Taxonomía de <i>Prockia krusei</i> .....	14
Distribución de <i>Prockia krusei</i> .....	15
Mecanismos de selección .....	16
Sistema androdioico .....	17
Dioecia .....	21
Objetivo .....	26
Material y Método	
Sitio de estudio .....	27
Trabajo en campo .....	27
Trabajo en laboratorio .....	31
Resultados	
Fenología floral .....	36
Morfología floral y frutal .....	37
Descripción de la pared de las anteras del morfo masculino .....	38
Microsporogénesis y microgametogénesis del morfo masculino .....	39
Descripción de la pared de las anteras del morfo hermafrodita .....	39
Microsporogénesis y microgametogénesis del morfo hermafrodita .....	40
Morfología polínica del morfo masculino .....	41

Morfología polínica del morfo hermafrodita .....	41
Prueba de viabilidad del polen .....	41
Discusiones .....	51
Conclusiones .....	55
Bibliografía consultada .....	56
Apéndice .....	59

## RESUMEN

El androdioicismo funcional se refiere a un sistema reproductivo que comprende dos clases de individuos: uno en donde los recursos están dirigidos a la función masculina y otro en donde los recursos se asignan a ambas funciones reproductivas, la femenina y la masculina.

*Prockia krusei* (Salicaceae) es una angiosperma arbórea que presenta flores perfectas y dimórficas en sus gineceos, algunos individuos de la población, presentan gineceos cortos con respecto al androceo, denominado como el morfo masculino, y otros largos, donde el estigma sobresale del androceo, denominado morfo hermafrodita. En *P. krusei* se ha observado que los individuos que presentan gineceos cortos no fructifican, a diferencia de los que presentan gineceos largos que sí lo hacen. Por esta característica, se plantea la hipótesis de que la especie puede ser androdioica, debido a que los individuos con flores de morfo masculino funcionan sólo como donadores de polen, ya que el gineceo permanece pequeño, probablemente por atrofia durante del desarrollo, sin formar frutos. Los individuos donde se observan flores con morfo hermafrodita funcionan tanto como receptores de polen, (produciendo abundantes frutos) como donadores de polen.

En este trabajo se analizó el desarrollo del androceo en ambos morfos florales por medio de técnicas histológicas y de microscopía electrónica de barrido. Por otro lado se indagó la viabilidad del polen, en ambos morfos florales. Con estos métodos se determinó que el desarrollo y morfología de las estructuras masculinas en las flores masculinas y hermafroditas es normal, con respecto a las características reportadas para la familia Salicaceae, presentándose individuos con flores hermafroditas e

individuos con flores estériles femeninas, mientras que el androceo produce polen, por lo tanto se concluye que *P. krusei* presenta un sistema androdioico.

El desarrollo del androceo y de los granos de polen siguió un patrón sin anomalías en ambos morfos. El porcentaje de viabilidad de los granos de polen fue de 93.84% para el morfo masculino y de 90% para el morfo hermafrodita. Por lo tanto los resultados apoyan que *Prockia krusei* presenta un sistema de reproducción androdioico.

## INTRODUCCIÓN

Los sistemas sexuales en las angiospermas están definidos de acuerdo a la ausencia y/o presencia del androceo y gineceo, así como su posición espacial y temporal, tales características influyen directamente en la manera en cómo se aparean, incluyendo su morfología y función sexual (Orozco- Arroyo y Vázquez- Santana, *en prensa*).

Las flores son las estructuras reproductivas que presentan mayor variabilidad que cualquier otro órgano reproductivo de los seres vivos (Barrett, 2002).

Hasta ahora la sexualidad en las angiospermas se puede analizar a distintos niveles. En la tabla 1, se muestra la clasificación, sobre la sexualidad espacial en angiospermas (Orozco- Arroyo y Vázquez- Santana, *en prensa*). El término monoico se refiere a flores masculinas y femeninas en el mismo individuo y dioico a poblaciones cuyos individuos tienen flores masculinas o femeninas separadas en distintos individuos.

Tabla 1. Sexualidad espacial en angiospermas (Modificada de Orozco- Arroyo y Vázquez- Santana, *en prensa*)

<b>A nivel de flores</b>	<b>A nivel de Individuos</b>	<b>A nivel de Poblaciones</b>	<b>A nivel de especies</b>
<b>Bisexuales</b>	Hermafroditas	Hermafroditas	Hermafroditas
<b>Unisexuales pistiladas</b>	Femeninos	Monoicos	Monoicas
<b>Unisexuales estaminadas</b>	Masculinos	Dioicos	Dioicas
<b>Neutras (androceo y gineceo estériles)</b>	Monoicos	Ginodioicos	Ginodioicas
	Ginomonioicos	Androdioicos	Androdioicas
	Andromonioicos	Trioicos	Trioicas
	Trimonioicos		Pueden presentar más de un sistema reproductivo (cada uno en distintas poblaciones)

Dentro de la separación espacial de sexos, están por un lado las especies y poblaciones hermafroditas y por otro las dioicas (tabla 1); desde que Darwin publicó "The different forms of flowers of plants of the same species" (1877) se comenzaron a plantear hipótesis sobre la evolución de los sistemas reproductivos hacia la dioecia, indicando a la ginodioecia (poblaciones o especies con individuos que exhiben flores pistiladas e individuos con flores hermafroditas (Chater, 1995)), como el paso más común y aunque se sabía de la existencia al menos teórica del androdioicismo, la falta de datos empíricos, provocó que no se tomara en cuenta como una hipótesis en la explicación de la evolución al dioicismo (Pannell, 2002b).

Una de las hipótesis más generales que podría explicar la evolución desde distintos sistemas reproductivos es que la descendencia endogámica disminuye la adecuación, comparada con la exogámica (Barret, 2002), y tal depresión reproductiva es generalmente reconocida como una de las principales fuerzas selectivas que guían la evolución de las estrategias de apareamiento en las plantas (Barret, 2002). A pesar de los beneficios genéticos de la reproducción cruzada, el 20% de las angiospermas son autógamas (la mayoría de las herbáceas); (Barrett, 2002). Sistemas reproductivos como la heterostilia, - poblaciones compuestas por dos (distilia) o tres (tristilia) morfos florales, que difieren recíprocamente uno de otro en sus posiciones (Barrett, 2002)- es un ejemplo de que la endogamia no es la única fuerza selectiva, debido a que las especies heterostílicas presentan sistemas de incompatibilidad genética (Bawa, 1980).

La mayoría de las angiospermas presentan flores hermafroditas, es decir, sus gametos masculinos y femeninos se producen simultáneamente en la misma flor, y por tal razón las oportunidades de autopolinizarse son altas. En algunas especies se han establecido sistemas de incompatibilidad o sus estructuras reproductivas se

encuentran espacialmente separadas (hercogamia) ó funcionan en diferentes momentos (dicogamia), condiciones que evitan la autopolinización. Cuando la dehiscencia de la antera y dispersión del polen ocurre antes de que los estigmas estén receptivos, se nombra protandria, y protoginia cuando los estigmas están receptivos antes de la dehiscencia en la antera y dispersión del polen (Renner, 2001). Otros sistemas reproductivos son la enantiofilia y la flexistilia. La enantiofilia presenta un polimorfismo recíproco de sus verticilos femeninos, en donde se observa una asimetría direccional que forma imágenes en el espejo de las flores cercanas y la flexistilia que combina la hercogamia recíproca y la dicogamia en cada polimorfismo estilar, presenta poblaciones con las mismas frecuencias en los dos morfos estilares, uno con función femenina por la mañana y masculina en la tarde y otro morfo donde se revierten temporalmente las funciones. Los estilos de las flores que dispersan polen por la mañana están curvados hacia arriba, entonces los estigmas quedan espacialmente separados de las anteras; por la tarde después de que la función masculina se completa, los estilos se alargan hacia abajo y los estigmas quedan receptivos. Los patrones en el crecimiento de los estilos en el morfo recíproco es al revés, los estigmas reciben polen por la mañana y el estilo se curva hacia arriba durante la tarde, interfiriendo con la donación del polen y reduciendo así la probabilidad de autopolinización (Barrett, 2002).

Las poblaciones con dimorfismo en la altura de los estigmas, está compuesta por dos morfos florales. En el morfo L los estigmas están posicionados por arriba del androceo, mientras que el morfo S presenta sus estigmas por debajo del androceo, sin que varíe la altura del androceo (Barrett, 2009). Las proporciones en los morfos de las poblaciones con dimorfismo estilar como en *Narcissus* no siempre son 1:1; la

proporción del morfo L, en esta especie es más alta que la del morfo S e influye en la forma de apareamiento, volviéndose asimétrico con un sesgo hacia el morfo L.

Sólo un pequeño número de especies con polimorfismo o dimorfismo en sus gineceos se ha mantenido como estrategia de apareamiento (Barrett, 2002).

*Prockia krusei* (Salicaceae), presenta dimorfismo en sus gineceos, el morfo con estilo corto no produce frutos, probablemente por una atrofia en sus gineceos que no permite su desarrollo, en cambio el morfo con estilos largos produce abundantes frutos.

*Prockia krusei* exhibe un sistema androdioico, es decir que en su población hay individuos con flores que funcionan como hermafroditas y otros individuos con flores con función masculina. En esta investigación se describe el desarrollo de los androceos de *Prockia krusei* de las flores de ambos individuos, y se comparan sus características con las reportadas para Salicaceae, a la que pertenece *P. krusei* (APG, 2009). Debido al alto porcentaje de viabilidad del polen, se asume que la ausencia de frutos en los individuos con flores que funcionan como masculinas, no se debe al mal desarrollo o inviabilidad del polen.

No se encontraron estudios embriológicos en Salicaceae, familia a la que pertenece *P. krusei*, que abordaran el tema del dioicismo que presentan varios géneros de la familia (Judd *et al.*, 2002) y menos aún del androdioicismo del que no se han reportado casos. La demostración de una especie androdioica, debido a su baja frecuencia, abre la posibilidad del análisis sobre su estabilidad por varias vías tanto ecológicas como evolutivas sin embargo, con el estudio de solo una especie no se pueden hacer generalizaciones sobre el papel del androdioicismo en la evolución de

los sistemas reproductivos, es por esto que se necesita más trabajo de campo para reunir información que nos permitan hipótesis más robustas.

## ANTECEDENTES

### TAXONOMÍA DE SALICACEAE

Salicaceae presenta 58 géneros y 1210 especies, entre los géneros más grandes se encuentran, *Salix* con 450 especies, *Casearia* con 180, *Homalium* con 180, *Xylosma* con 85 (Judd *et al.*, 2002) y *Prockia* con seis especies: *P. costaricensis* (Costa Rica), *P. crucis* (Bolivia y México), *P. flava* (Venezuela), *P. krusei* (México), *P. oaxacana* (México) y *P. pentámera* (Ecuador y Perú); (Tropicos.org, 2013).

La familia Salicaceae presenta una distribución pantropical, es decir que se extiende por los países tropicales y subtropicales de todo el mundo, así como en lugares con temperaturas templadas y en el Ártico y solo en una parte de África (figura 1; Stevens, 2008).

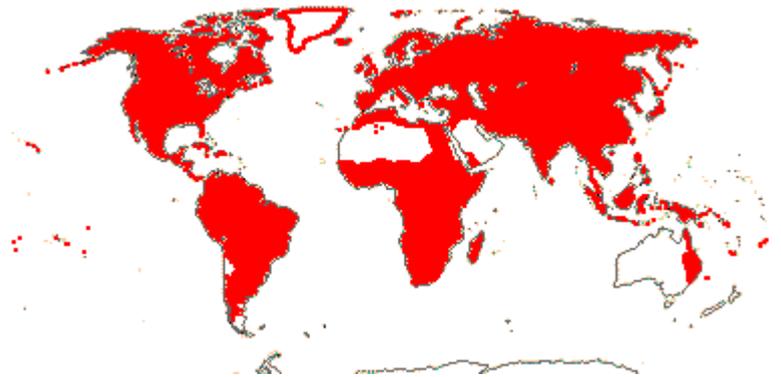


Figura 1. Distribución mundial de Salicaceae

(Tomado de Stevens, 2008)

Las plantas de la familia Salicaceae presentan hábito arbustivo ó arbóreo. Las Inflorescencias pueden ser indeterminadas o determinadas, a veces reducidas en flores solitarias. Las flores son unisexuales (especies dioicas), como en *Populus*, *Salix*, *Carex*, *Olmediella* y *Macrohasstia* (Richards, 1986; Judd *et al.*, 2002); ó bisexuales como en *Casearia* y *Homalium*, entre otras. Entre las especies del género *Prockia*, *P. krusei*, *P. crucis* y *P. oaxacana*, presenta flores morfológicamente hermafroditas radiales, a menudo reducidas, de tamaño mediano, trímeras o hexámeras, a veces con hipantio. Sépalos usualmente de 3- 8, a veces 15 o ausentes, de libres a ligeramente connados. Pétalos ausentes o en igual número que en el cáliz (connados en la base).

Estambres de uno a numerosos, opuestos a los pétalos. Carpelos usualmente de 2- 5, a veces 13, connados; estilos separados o fusionados; estigmas usualmente 2- 4, más o menos, de capitados a expandidos e irregularmente lobados. Nectarios en un disco o en glándulas separadas, a veces ausentes (Judd *et al.*, 2002; Stevens, 2008).

#### CARACTERÍSTICAS EMBRIOLÓGICAS DE SALICACEAE

La familia Salicaceae presenta flores con anteras extrorsas o lineares. La pared de la antera está compuesta de epidermis, endotecio fibroso, capas medias efímeras y tapete glandular o secretor, con células binucleadas. En *Salix* se observan de una a cuatro capas medias (Chamberlain, 1897; en Johri *et al.*, 1992) y dos en *Populus* (Nagaraj, 1952 en Johri *et al.*, 1992).

Los granos de polen en *Populus* son inaperturados, no tectados, de exina delgada y de apariencia granular. Este polen es considerado anemófilo. En *Salix* son trilobados, tricolpados o tricolporados con exina reticulada y lúmenes amplios en el ecuador y más pequeños en los polos, con una protuberancia central. Este polen es considerado entomófilo. Cuando ocurre la dispersión, del polen es bicelular (Johri *et al.*, 1992; Núñez y Ludlow- Wiechers, 1998; Judd *et al.*, 2002).

Los ovarios de la familia Salicaceae, son tricarpelares, con placentación parietal o axial, la placenta a veces profundamente intrusiva; los óvulos son ortótropos, crassinucelados uni- o bitégmicos, cuando presentan dos tegumentos, ambos con 2 a 5 células de grosor, (formación de tejido parietal de 5 a 7 células de grosor). Saco embrionario tipo *Polygonum*, entrada del tubo polínico porógama, micrópilo bistomal y en zig- zag, el funículo es corto. Óvulos de uno a numerosos en cada placenta, endospermo tipo nuclear. En *Salix*, se observa una cavidad central en el endospermo (Johri *et al.*, 1992).

Fruto como una cápsula loculicida, baya o drupa; semillas a menudo ariladas o con un penacho basal de tricomas; endospermo escaso o ausente, testa multiplicativa y más o menos carnosa o a veces indistinta, exotesta en empalizada. En *Salix* la pequeña semilla exalbuminosa está adaptada a la dispersión por viento (Johri *et al.*, 1992; Judd *et al.*, 2002).

TAXONOMÍA DE *Prockia krusei* J. Jiménez Ramírez & R. Cruz, sp.

El género *Prockia*, se caracteriza por la ausencia de corola, el cáliz (3)- 2 y ovario con 5 lóculos, la especie tipo es *P. crucis* (Linneo, 1759).

Cuando *P. krusei* fue descubierta por Jiménez- Ramírez y Cruz- Durán (2005) se ubicó taxonómicamente en la familia Salicaceae y el género *Prockia* por los sépalos alados; sin embargo, no presenta el carácter de un ovario tri o hexalocular, característico del género, sino un ovario con un solo lóculo. Tal característica concuerda con otros géneros de la familia, aunado a las placentas intrusivas (en lugar de axiales), como en *Banara*, *Neosprucea* y *Olmediella*, no obstante se decidió no incluir a *P. krusei* en ninguno de los tres, porque los primeros dos poseen sépalos en el botón floral no alados y pétalos bien desarrollados, y el último tiene flores unisexuales, con frutos capsulares, mientras que *P. krusei* presenta bayas y flores bisexuales. Estos últimos caracteres no coinciden con las características de *Hasseltiopsis*, *Macrohasseltia* o *Pleuranthodendron*, que presentan ovarios uniloculares y placentas ligeramente intrusivas, pero el primero tiene pétalos y flores unisexuales aunque coincide el tipo de fruto; mientras que *Macrohasseltia* al igual que *P. krusei* no tiene pétalos, pero sus flores son unisexuales y el fruto es capsular y *Pleuranthodendron* presenta pétalos y cápsulas en lugar de bayas (Jiménez- Ramírez y Cruz- Durán, 2005).

Jiménez- Ramírez y Cruz- Durán (2005) describieron a *P. krusei* como una especie arbustiva o arbórea, de hasta 4 m de alto, con inflorescencias cimosas (un dicasio terminal y una flor lateral; la antesis inicia en la flor terminal y la lateral basal). Las flores son terminales o axilares de, (3.3-) 4-4.5 cm de largo, con (1-) 3-4 (-5) flores, eje de la inflorescencia 1.2-1.6 cm de largo, pubescente, pedúnculos 1-3 mm de largo. Flores apétalas; cáliz con 3(-4) sépalos; estambres 94-112, de 3 mm de largo, nunca exsertos; anteras ablongo- elipsoides; pistilo de 7 mm de largo; ovario esférico de 4 mm de diámetro, unilocular, glabro; placentación parietal, 3 placentas lameliformes; un estilo de 3 mm de largo, recto, glabro, con estigma brevemente trilobado. El fruto es una baya globosa de 9 X 9 mm, con el cáliz persistente de 1.5- 1.8 X 1.2- 1.8 cm. Se desarrollan 3-4 frutos por inflorescencia, con aproximadamente 14 botones florales en cada una; semillas ovoides 3.5-4 X 2.5 mm (1-) 4-8 fértiles, generalmente 4 abortadas.

*Prockia. krusei* se ha encontrado en bosques tropicales caducifolios de 1400-1420 msnm, en rocas calizas, asociado a *Casearia corymbosa*, *Opuntia* sp., *Agave* sp., *Ipomoea* sp., *Bursera glabrifolia* y *Eysenhardtia* sp. De acuerdo con Jiménez- Ramírez y Cruz- Durán (2005), los meses en que esta especie florece son de julio a agosto, con frutos en septiembre. Las sinapomorfías de *P. krusei*: estípulas lanceoladas a subuladas, de 2- 2.5 mm de largo, flores con 3(-4) sépalos, apétalas y ovario unilocular, con tres placentas intrusiva. Distribución restringida a Guerrero, México (Jiménez- Ramírez y Cruz- Durán, 2005).

#### DISTRIBUCIÓN DE *Prockia krusei*

La localidad en donde se colectó por primera vez a *Prockia krusei* está ubicada en el Salto Valadez, Municipio de Chilpancingo, Guerrero, México, con las coordenadas 17° 27' 20" N, 099° 28' 10" O, 1400 msnm; el colector fue Hubert Kruse en 1985 y los

especímenes están en los herbarios HT, MEXU; IT, FCME, MEXU, MO (tropicos.org, 2012). *Prockia krusei* presenta otra población en Tixtla, Guerrero, con coordenadas N 17° 32' 05', W 99° 22' 27'', a una altitud de 1370 msnm, de la que se obtuvieron los datos y materias para esta investigación.

#### MECANISMOS DE SELECCIÓN DE SISTEMAS REPRODUCTIVOS

Pocas angiospermas presentan flores unisexuales (10%); (Barrett, 2002). Según Darwin (1877), la división del trabajo, por la asignación de recursos, es más eficiente en plantas unisexuales que en hermafroditas y puede ser un factor en la evolución de la dioecia. A los individuos unisexuales, donde el androceo y gineceo se encuentran en individuos separados se le conoce como diclina, asociada a varias estrategias que involucra combinaciones de flores femeninas, masculinas y hermafroditas. Las poblaciones diclinas se pueden organizar en monomórficas y dimórficas. En las primeras, los individuos de la población tienen flores semejantes en cuanto a la expresión del sexo (Orozco- Arroyo y Vázquez- Santana, *en prensa*); las plantas de este tipo pueden producir flores hermafroditas, masculinas o femeninas (monoico, andromonoico ó trimonoico) y en las dimórficas que muestran poblaciones bimodales, compuestas por dos morfos sexuales que pueden funcionar como femeninas o masculinas. Los morfos pueden ser estrictamente unisexuales (dioecia), ó si un morfo es hermafrodita y el otro femenino, ginodioecia, ó hermafrodita y masculino, androdioecia (Barrett, 2002).

Las poblaciones que presentan, individuos femeninos, están forzadas a mantener polinización cruzada. Las otras condiciones diclinas generalmente representan pasos evolutivos intermedios hacia la dioecia o son el resultado de la

expresión genética dadas las variaciones ambientales, controladas por especies dioicas o ginodioicas (Richards, 1986).

#### SISTEMA ANDRODIOICO

La androdioecia se refiere a la co-ocurrencia de individuos masculinos y hermafroditas en poblaciones con reproducción sexual. La baja frecuencia de este tipo de sistema reproductivo, comparado con la ginodioecia se debe a que la producción de granos de polen supera en alguna medida a la producción de óvulos, ya que las partes femeninas ocupan sus recursos en nutrir a la descendencia y producir semillas y frutos, lo que limita el número de gametos femeninos, a diferencia de los verticilos masculinos que no invierten energía en estos procesos y generalmente obtienen un número mayor de gametos masculinos (Pannell, 2002a). Esta condición es favorable para la población, ya que muchos granos de polen se pierden durante el transporte de la antera al estigma (Pannell, 2002a).

Las primeras investigaciones publicadas sobre especies androdioicas se basaron en caracteres morfológicos. En 1984, Charlesworth publicó modelos matemáticos acerca de la evolución y mantenimiento de la androdioecia, con ellos no pudo encontrar casos androdioicos funcionales y sugirió que los individuos morfológicamente hermafroditas son en realidad funcionalmente femeninos, con polen o anteras disfuncionales, lo cual fue replanteado por Pannell (2002a). Algunos autores han propuesto que si los factores que causan el androdioicismo funcional, son ambientales y no genéticos, no se deben considerar androdioicas (Pannell, 2002a).

Según Charlesworth (1984), las especies correctamente descritas como androdioicas deben tener tales características morfológicas. Sin embargo, Pannell, (2002a) considera especies con androdioicismo funcional, a las poblaciones que

comprenden dos clases de individuos: uno donde los recursos vayan dirigidos a la función masculina y otro cuyos recursos se reparten en la función femenina y masculina.

El entendimiento acerca del androdioicismo se incrementó con nuevas observaciones morfológicas y medidas de asignación sexual en poblaciones, que han confirmado su estado funcional, aunque no se han logrado formar generalizaciones por el bajo número de especies descritas como androdioicas (Pannell, 2002a).

Las poblaciones androdioicas, presentan una alta fragmentación natural; es por esto que recientemente se han estudiado con base en la estructura poblacional y las dinámicas metapoblacionales, durante su evolución y mantenimiento (Pannell, 2002b). Entiéndase como metapoblación a conjuntos o grupos de poblaciones de la misma especie, relacionadas por la migración de individuos entre ellas. Este concepto supone que las poblaciones dentro de las metapoblaciones, pueden extinguirse, así como colonizar nuevos “parches”, surgiendo así una dinámica de formación y extinción de poblaciones (Valverde- Valdéz, 1999).

En estos modelos metapoblaciones, cuando hay poco polen o pocas flores femeninas para aparearse, el tamaño y densidad de la población fluctúa por la continua colonización en nuevos sitios y el subsecuente crecimiento poblacional y su asignación sexual estable. Si la colonización en las metapoblaciones es frecuente, la asignación del sexo dirigida a la función femenina, es seleccionada por competencia intraespecífica entre parejas (Pannell, 2002b). Si la metapoblación crece en tamaño y densidad, aumentan las probabilidades de que haya reproducción cruzada. Si después de esto no se mantiene la población, puede ser invadida por los organismos masculinos, ya que la energía invertida en los gametos masculinos es menor con

respecto a la energía invertida en los gametos femeninos, quedando poblaciones androdioicas. Esta teoría aún no es tan sólida como para aceptarse en el ámbito del mantenimiento de la androdioecia; sin embargo, los procesos que se llevan a cabo para que la función femenina en los organismos hermafroditas sea seleccionada son importantes, porque puede ocurrir de la misma forma en los masculinos a nivel metapoblacional (Pannell, 2002b).

Estos modelos sugieren que el androdioicismo puede ser mantenido sólo con los parámetros de metapoblaciones y la rareza del androdioicismo se puede deber a la falta de estudios de poblaciones con dinámicas metapoblacionales (Pannell, 2002b).

Algunos casos de androdioicismo funcional, han sido revisados y se han determinado, como funcionalmente dioicas, con proporción sexual 1:1 (Pannell, 2002a). En otros casos, el androdioicismo funcional ha sido confirmado en varias especies de plantas de diversos taxones, la mayoría de los cuales incluyen especies dioicas, tales como *Fraxinus lanuginosa* (Oleaceae); *Schizopepon bryoniaefolius* (Cucurbitaceae); *Datisca glomerata* (Datiscaceae); entre otros (Gleiser y Verdú, 2005).

Las flores hermafroditas que fructifican anualmente, con una alta producción, probablemente sean incapaces de producir frutos al año siguiente, y así el año que no fructifican pueden funcionar como masculinos por una sola temporada (Bawa, 1980). Es así como cada población que ha sido estudiada solo una vez, puede mal interpretarse como androdioica. El éxito reproductivo ganado a través de funciones masculinas o femeninas depende mucho de la producción relativa de semillas y polen así como del destino de esas semillas o granos de polen (Lloyd 1975; Pannell, 2002a).

Para la transformación de un sistema hermafrodita a uno androdioico estable es necesario que en caso de no haber depresión por endogamia, los mutantes que

provocan la esterilidad y/o reducen la fertilidad masculina o femenina se puedan propagar. La producción de óvulos o polen de los mutantes debe ser mayor que el doble de la que producen las hermafroditas. Los casos de poblaciones con depresión endogámica, la producción de gametos debe también ser mayor que en las hermafroditas, sin embargo los efectos de la autofecundación en los individuos de la población original hermafrodita vuelve más complicado este parámetro, ya que los óvulos no están disponibles para recibir polen, reduciendo así sus oportunidades de apareamiento, sin comprometer el apareamiento de las hermafroditas (Charlesworth, 1984; Lloyd, 1975; Pannell, 2002a).

Aunque la transición del androdioicismo hacia la dioecia no es común, la androdioecia también puede ser un estado derivado de la dioecia, con el reemplazamiento de flores femeninas por hermafroditas (Pannell 2002a). Pannell (2002b) consideró una hipótesis para la evolución del androdioicismo. Con base en metapoblaciones con estados ancestrales tanto hermafroditas como dioicos y agregó que los precursores dioicos son más probables, debido a que, si el hermafroditismo se mantiene a través de la selección, por garantía reproductiva, la migración de los individuos con esterilidad femenina, para las poblaciones con un pasado dioico se considera un paso evolutivo más fácil, en comparación con la adquisición de una mutación que se logre establecer. La evolución del androdioicismo en una metapoblación es un resultado de su dinámica. Se deduce que si se incrementa la migración y se reducen las proporciones de extinción puede ocurrir una alta variabilidad de proporciones sexuales entre poblaciones (Pannell, 2002a).

DIOECIA

Aunque la dioecia aparece en un 6% de las angiospermas, más de la mitad de las familias que las incluyen, han surgido de manera independiente y en frecuencias bajas y pocas familias son completamente dioicas (Richards, 1986). El patrón de distribución taxonómico de la dioecia, sugiere un origen secundario, a partir de otros sistemas reproductivos y en varias ocasiones (polifiléticamente), puede presentar reversiones o extinciones. La dioecia raramente dura lo suficiente en escala evolutiva, o llega a ser lo suficiente exitosa para establecer una dinastía. La familia Salicaceae a la que pertenecen los álamos y sauces es un ejemplo de las pocas familias con géneros totalmente dioicas (Richards, 1986).

Otros autores como Bawa (1980) han argumentado que la dioecia no es tan rara como en general se asume, ya que más de un cuarto de todas las angiospermas podrían ser dioicas morfológica ó funcionalmente. Dicha condición es más común en árboles, arbustos y plantas perennes, que en hierbas y anuales, teniendo en general una producción de semillas y frutos de tamaños mayores (Bawa, 1980). Sin embargo, este sistema no resulta tan exitoso, debido a que las especies dioicas tienen un mayor riesgo de extinción que las no dioicas (hermafroditas o monóicas), en caso de presentar bajas densidades poblacionales ó una escasez de polinizadores, resultando en una disminución en la fecundación (Domínguez, 1990 en Eguiarte *et al.*, 1992), aunado a que solo la mitad de los genetos en la población produce semillas (Richards, 1986).

Se han observado dos grandes transiciones en los sistemas de cruce y sistemas sexuales de las angiospermas: de la autofecundación a la fecundación cruzada y la presencia de dimorfismo en las flores perfectas. El hecho de que esta transición haya surgido independientemente en numerosos linajes de plantas, abre la posibilidad de

proponer principios generales que puedan explicar su origen. Una característica de las angiospermas es que sus sistemas sexuales son poco estables desde una perspectiva ecológica y evolutiva (Barrett, 2002).

Las principales vías evolutivas para la separación de sexos, a partir de un ancestro hermafrodita, se relaciona con mutaciones que provocan esterilidad de uno de los sexos en las flores bisexuales, debido a esto aumenta el número de flores unisexuales, pasando de un estado monomórfico (todas bisexuales) a uno polimórfico (Barrett, 2002). En algunas especies se han encontrado alelos recesivos que eliminan la función femenina o masculina; explicando así la existencia de sistemas ginodioicos y androdioicos (Bawa, 1980). Además existen muchos factores ambientales que influyen en la separación sexual de las plantas, como luz, área foliar, dispersión de semillas, polinización, depredación, selección sexual y tamaño poblacional, algunas correlaciones entre estos factores explican tendencias geográficas en la distribución de especies dioicas, siendo más frecuentes en floras tropicales que en floras templadas, donde en general su polinización es a través del viento (Bawa, 1980; Eguiarte *et al.*, 1992).

En el caso de la evolución del dioicismo a partir del hermafroditismo, vía androdioicismo, ocurre una mutación en flores hermafroditas, que provoca la esterilidad en el verticilo femenino. La esterilidad se propaga quedando individuos masculinos y hermafroditas. Sigue ahora una mutación que provoca la esterilidad en el verticilo masculino de las hermafroditas restantes, quedando la población dioica. Sin embargo, las ventajas de la exogamia, justifican el mantenimiento de flores femeninas en poblaciones ginodioicas, pero no la presencia de masculinas en poblaciones

androdioicas, porque las flores hermafroditas que se autofecundan no están disponibles para ser fecundadas por masculinas (Lloyd, 1975; Charlesworth, 1984).

El androdioicismo no es un sistema frecuente debido a que solo produce semillas en uno de sus morfos, así que no se considera un camino evolutivo ventajoso hacia la dioecia como lo es el ginodioicismo que produce semillas en ambos morfos (Charlesworth, 1984; Pannell, 2002b; Gleiser y Verdú, 2005).

Bawa, (1980), considera que la reasignación de recursos para una de las funciones sexuales en lugar de la otra, puede constituir ventajas selectivas para la extensión de la esterilidad femenina de flores hermafroditas (quedando masculinos y hermafroditas). Pannell (2002b) y Barrett (2002) sugieren que la mayor fuerza selectiva en el evolución de los sistemas reproductivos es el mantenimiento de la exogamia. Para el establecimiento de la ginodioecia o androdioecia es necesario evitar la endogamia en el morfo hermafrodita. Es poco probable que la androdioecia tenga ancestros que se autofecunden, ya que no se evitaría la depresión endogámica. Lloyd (1975) señaló que la situación más favorable para que se extienda la mutación que provoca la esterilidad femenina en flores bisexuales es la reproducción cruzada, sin autofecundación, o muy baja y alta depresión endogámica. Con tales condiciones los individuos masculinos tienen que generar suficientes granos de polen fértiles y/o lograr una fecundación exitosa y con descendencia que logre sobrevivir. Evitar la endogamia no es suficiente para permitir que se extiendan los organismos masculinos, aunque el aporte genético de la parte femenina sea alto. Las mutaciones responsables de la esterilidad masculina pueden establecerse incluso si ésta no incrementa la fecundación, siempre que haya suficiente velocidad en el establecimiento de dicha

mutación. Es decir que ningún incremento en la viabilidad o en la fecundidad hacen más fácil que tal mutación se extienda (Lloyd, 1975; Charlesworth, 1984).

El dimorfismo en la altura de los estigmas observada en los gineceos de *Prockia krusei*, así como la presencia de frutos en uno de los morfos y la ausencia en el otro, fue el parteaguas para establecer la hipótesis de un sistema reproductivo androdioico. Deduciendo que el gineceo del morfo corto que no fructifica tiene un desarrollo anormal, se determina que existan individuos hermafroditas y otros masculinos funcionales. Para discernir si el androceo es funcional en ambos morfos, en esta investigación, se describe la morfología del androceo y granos de polen de *Prockia krusei*, en ambos morfos, así como su viabilidad.

## OBJETIVO GENERAL

Analizar la morfología floral y determinar si el androceo produce granos de polen viables de acuerdo al desarrollo del androceo de *Prockia krusei* a partir de que los microsporangios ya están formados, para discernir si se trata de una especie androdioica.

### *Objetivos particulares:*

- ❖ Conocer la fenología de *Prockia krusei*, así como la morfología de flores y frutos.
- ❖ Describir el desarrollo de la antera y granos de polen en los morfos florales de *P. krusei* y luego compararla con la descripción de anteras de Salicaceae.
- ❖ Evaluar el porcentaje de viabilidad de los granos de polen de ambos morfos florales en *Prockia krusei*.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### SITIO DE ESTUDIO

La población de *Prockia krusei* bajo estudio y de la que se obtuvo el material para su análisis está ubicada en Tixtla, Guerrero (coordenadas N 17° 32' 05'', W 99° 22' 27'') (figura 2 A y B) a una altitud de 1370 msnm. Los individuos de *P. krusei* que se marcaron en 2010 y 2011 fueron árboles y arbustos que se encuentran a ambos lados en una vereda (figura 2 C) y presentan una altura de entre 2 y 5 metros. Al término de esta vereda (del lado contrario a la carretera) la vegetación cambia drásticamente, volviéndose árido. El clima donde habita *P. krusei* es húmedo, con vegetación del tipo bosque tropical caducifolio (Jiménez- Ramírez y Cruz- Durán, 2005).

### TRABAJO EN CAMPO

Se realizaron varias visitas a la población de *P. krusei*, entre 2010 y 2012. En el 2010 se tomaron notas de campo y datos, con visitas diarias desde mediados del julio y todo el mes de agosto y con algunas visitas en septiembre y octubre, que es la época de floración y fructificación. Se identificaron 14 individuos, y se sexaron de acuerdo al tamaño del gineceo, en relación al androceo. Se consideraron dos morfos para la población estudiada, en ambos el androceo es del mismo tamaño, uno masculino con gineceos cortos en relación al androceo, los gineceos de este morfo probablemente se encuentran colapsados debido a que no produjeron frutos, y otro hermafrodita para gineceos largos en relación al androceo, que producen frutos y semillas. A cada individuo se le asignó un número (tabla 2) y se tomaron notas sobre los cambios de



Figura 2. Ubicación del sitio de colecta de *Prockia krusei*. A) Mapa por satélite de Tixtla, Guerrero. B) Vereda con vista satelital, que indica el intervalo de muestreo. C) Bosque tropical caducifolio y vereda en donde se encuentran los individuos de *P. krusei*.

coloración de las flores desde botones florales hasta frutos maduros. Además se observaron visitantes florales, posibles polinizadores y se colectaron botones florales, flores en antesis y frutos en las diferentes etapas del desarrollo, de ambos morfos florales, se fijaron en FAA (formaldeído, ácido acético glacial, alcohol etílico 96% y agua destilada, 1: 5: 0.5: 3.5) y se llevaron al laboratorio para procesarlos. Debido a que *P. krusei* presenta numerosos tricomas en sus sépalos, fue importante removerlos para facilitar la difusión del fijador y en el laboratorio, del medio de inclusión.

Para el año 2011 se volvieron a visitar los individuos y se remarcaron siete de los individuos del año anterior. Además se marcaron 22 individuos más, haciendo un total de 29 (ver apéndice) y se registraron los individuos que fructificaron. Estos datos se compararon con los obtenidos en el 2010 (ver tabla 2).

En el 2012 se realizó una visita a principios de agosto para relacionar los morfos florales, durante la antesis, con la producción de frutos, sin embargo la floración se adelantó y solo pudimos observar frutos inmaduros que correspondían a los individuos marcados durante los dos años anteriores como hermafroditas. Cabe mencionar que varios individuos que se habían incluido en la muestra fueron cortados.

Tabla 2. *Sexado de los individuos*. Se señala el número y morfo de cada individuo de acuerdo con el tamaño del gineceo, en relación con el androceo (*M* se refiere al morfo masculino y *H* para el morfo hermafrodita) y su correlación con la producción de frutos comparando el año 2010 y 2011. Se asignó el morfo masculino a nueve individuos y diecisiete al morfo hermafrodita y tres no se sexaron por que se observaron diferencias entre uno y otro año.

Número de individuo	Año 2010. Morfo	Año 2010. Frutos	Año 2011. Morfo	Año 2011. Frutos	Género asignado
1	M	Sin frutos	M	Sin Frutos	M
2	H	Con frutos	M	Pocos frutos	?
3		Sin frutos	M	Sin frutos	M
4		Con frutos	H	Con frutos	H
29	H	Con frutos	M	Sin frutos	?
5		Con frutos	H	Con frutos	H
6		Con frutos	H	Con frutos	H
7	M	Sin frutos	M	Sin frutos	M
8	M	Sin frutos	M	Sin frutos	M
9		Sin frutos	M	Sin frutos	M
10		Con frutos	H	Con frutos	H
11		Con frutos	H	Con frutos	H
12		Con frutos	H	Con frutos	H
13	M	Sin frutos	M	Sin frutos	M
14		Con frutos	H	Con frutos	H
15	M	Pocos frutos	H	Sin frutos	?
16		Sin frutos	M	Sin frutos	M
17		Con frutos	H	Con frutos	H
18		Con frutos	H	Con frutos	H
19		Con frutos	H	Con frutos	H
20		Sin frutos	M	Sin frutos	M
21		Con frutos	H	Con frutos	H
22		Con frutos	H	Con frutos	H
23		Con frutos	H	Con frutos	H
24		Con frutos	H	Con frutos	H
25		Sin frutos	M	Sin frutos	M
26		Con frutos	H	Con frutos	H
27		Con frutos	H	Con frutos	H
28		Con frutos	M	Con frutos	H

## TRABAJO EN LABORATORIO

En el laboratorio se clasificaron los botones florales por tamaño, tomándolo como indicador de la etapa del desarrollo en que se encuentran hasta la primera etapa de fruto (tabla 3).

Tabla 3. Intervalos de las etapas.

Etapa. Intervalos (largo/ ancho mm) Morfo masculino	Etapa. Intervalos (largo/ ancho mm) Morfo hermafrodita
I 2/1.5- 2	I 2/ 2
II 2.5- 3/ 2.5- 3.5	II 2. 5- 3/ 3-4
III 4/ 3.6	III 3.5- 5/ 3- 4
IV 4.5- 5/ 3.7- 4 (Preantesis)	IV 6- 7.5/ 3 (Preantesis)
V 5.5- 6/ 2- 3 (Antesis)	V 7.6/ 4- 5 (Antesis)
	VI 9/ 5 (Fruto inmaduro)

### *Microtecnica*

*Inclusión en parafina.* Los botones florales se incluyeron paraplast. La técnica consiste en deshidratar los botones previamente fijados en un medio polar, con el fin de remover toda el agua del tejido y reemplazarla con un solvente orgánico (medio no polar), donde se disolvió el medio de inclusión. Se sumergieron los botones durante una hora en cada concentración de la siguiente serie de etanoles: al 30%, 50%, 70%, 85%, 96%, 100% y 100%; estos pasos se hicieron de manera gradual para evitar distorsiones del tejido (López- Curto, *et al.*, 2005). Debido a que se usó paraplast como medio de inclusión, las muestras se pasaron a una mezcla de alcohol absoluto- xilol

1:1, por una hora. Después, las muestras se pasaron a mezclas de xilol- paraplast 2:1, 1:1 y 1:2 y paraplast puro durante 12 horas, a una temperatura de 58 a 60 °C en cada una, para infiltrar el tejido con paraplast. Por último las muestras se incluyeron y se usaron moldes de metal etiquetados con el nombre y la orientación en la que se incluirá la muestra, para esto, se vertió parafina líquida en el molde y se colocó el botón en el fondo, orientándolo con una aguja de disección y una lámpara de alcohol. Es importante que no se formen burbujas para obtener cortes homogéneos.

Las muestras se cortaron a 7µm de grosor, en un micrótomo de rotación, marca American Optical Modelo 820, en este equipo se obtuvieron cortes en serie que se estiraron en un baño de flotación y se montaron en portaobjetos.

Los cortes obtenidos se tiñeron utilizando la técnica doble safranina-verde rápido en metilcelosolve. La safranina tiene carga positiva, siendo un colorante básico, el cual se debe usar primero, debido a que es un colorante no citoplasmático que tiñe núcleos, cromosomas, nucléolos, cromatina, taninos condensados y paredes celulares lignificadas. Luego se añadió el colorante con carga negativa, verde rápido, que tiñe sustancias básicas, como paredes celulares no lignificadas y citoplasma.

*Inclusión en LR White.* Se tomaron las etapas II, III y IV de los botones de ambos morfos, previamente fijados en FAA, de los que se disectaron las anteras para su procesamiento.

El material fijado (las anteras), se deshidrató gradualmente hasta etanol 96%, por 30 min en cada cambio y dos cambios de 15 min en etanol absoluto; las muestras se infiltraron en mezclas de LR White-Etanol absoluto, en diferentes proporciones (1:3, 1:1, 3:1) y se hicieron tres cambios de 1 h en LR White puro. Las anteras se incluyeron en cápsulas de gelatina y se polimerizaron a 56 °C durante 12 h. Los cortes se hicieron

en un ultramicrotomo con navajas de vidrio a 1  $\mu\text{m}$  de grosor. Los cortes se tiñeron con azul de toluidina al 0.5%, en agua.

*Microscopía electrónica de barrido.* Las muestras se deshidrataron en una serie gradual de alcoholes (30%, 50%, 70%, 85%, 96% y 100%), después se desecaron a punto crítico con  $\text{CO}_2$ . De esta manera se evita la tensión superficial y se deja escapar el vapor hacia la atmósfera (Vázquez- Nin y Echeverría, 2000).

Las muestras que se observan deben ser conductoras y esto se logra cubriéndolas con metales, de tal forma que los detalles de la superficie no se pierdan. Para esto se adhiere la muestra a un portaobjetos metálico por medio de un pegamento conductor que contiene plata o carbón. El recubrimiento de la superficie de la muestra se hizo con oro, con una ionizadora de alta energía en bajo vacío. Finalmente se hicieron observaciones de los botones, flores en anthesis, anteras y polen para la toma de electromicrografías.

#### *Viabilidad de polen*

*Prueba de Alexander.* Para realizar esta prueba las flores masculinas y hermafroditas de *P. krusei* se colectaron y guardaron en bolsas de plástico selladas con un poco de agua, después de aproximadamente 24 h se tomaron dos anteras por flor, de siete de los nueve individuos masculinos y tres de las hermafroditas. Las anteras se montaron directamente en los portaobjetos y se abrieron con una aguja de disección. Se adicionó una gota del reactivo de Alexander. Las muestras se montaron y calentaron por unos segundos (Alexander, 1969). Esta técnica consiste en sumergir en el colorante los granos de polen, los cuales se teñirán de verde si no son viables ó de violeta si son viables. Los granos de polen permanecen de uno a dos minutos colocados en el reactivo, para después ser observados al microscopio de luz, en campo claro.

Se identificaron y contaron los granos viables de 10 campos, observando con un objetivo de 20x cada preparación, con estos datos se sacó la media de medias para cada morfo floral. Los métodos y técnicas utilizados se resumen en el diagrama de flujo de la figura 3.

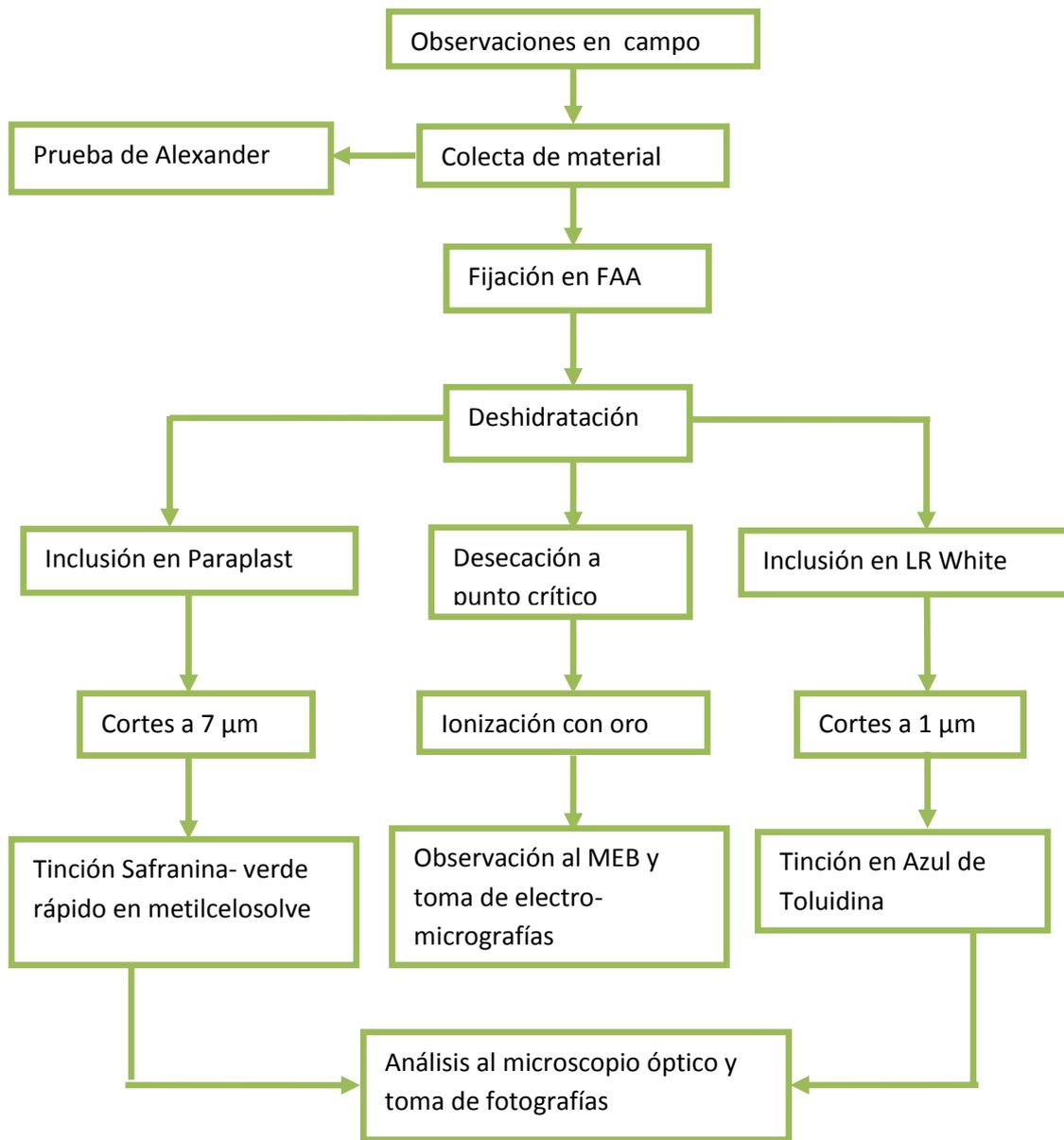
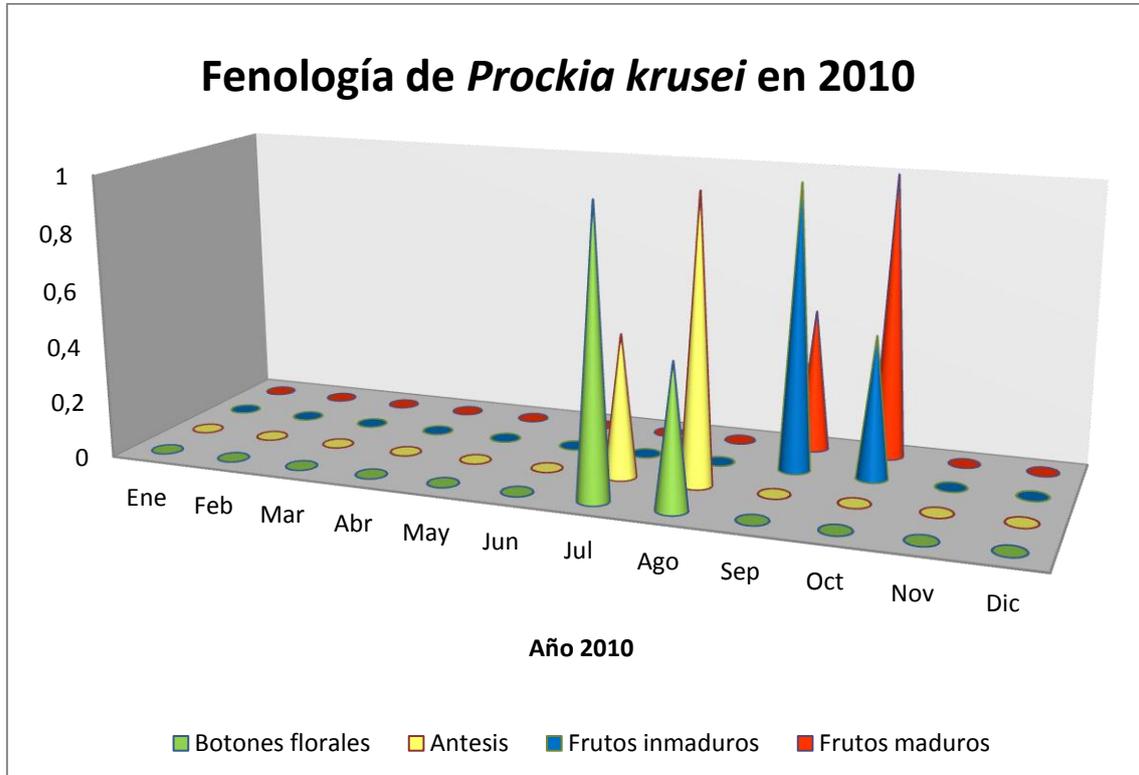


Figura 3. Diagrama de flujo que resume los métodos utilizados.

## RESULTADOS

### FENOLOGÍA FLORAL

Los botones florales de *Prockia krusei* en 2010, se observaron a partir del 16 de julio al 3 de agosto; el 19 de julio comenzó la antesis en algunos individuos y se extendió todo el mes de agosto. El 4 de septiembre se observaron los primeros frutos inmaduros y el 5 de octubre los primeros frutos ya maduros. Este año fue el único donde se pudo observar la fenología completa (gráfica 1). En 2011 se visitó el sitio el 10 de agosto, momento en que la floración ya estaba llegando a su término y el 12 de octubre ya había frutos maduros, casi en la totalidad de los individuos hermafroditas marcados. En 2012 se visitó el sitio el 3 de agosto y se encontraron frutos inmaduros. Cabe mencionar que se presentaron fuertes lluvias en julio y agosto, durante los tres años de floración que se observaron.



Gráfica 1. Fenología de *P. krusei*. Floración (julio- agosto) y fructificación (septiembre- octubre). El eje vertical representa una medida cualitativa, el uno simboliza el máximo de producción y sea de botones, flores en antesis ó frutos inmaduros y maduros, mientras que el cero figura su ausencia.

## MORFOLOGÍA FLORAL Y FRUTAL

*Prockia krusei* presentan inflorescencias tipo dicasio, éstas están constituidas por 4 ó 5 flores. Las flores están conformadas por tres ó cuatro sépalos que cambian de coloración de verde a blanco y a rojo, según la etapa de desarrollo en la que se encuentren. Es decir, en etapa de botones florales los sépalos son verdes, en etapa de flores en anthesis son blancos (figura 4 A y C), en etapa de frutos inmaduros son verdes y blancos y cuando son frutos maduros son rojos (figura 7). La anthesis dura entre 10 y 15 días en la población y es asincrónica en cada inflorescencia (figura 4 B). Se identificaron los morfos florales, hermafrodita y masculino. La característica que sirvió para separar o identificar a los individuos, es la formación de gineceos con diferente tamaño con respecto al androceo, (figura 5). En flores en anthesis el androceo está formado generalmente en el morfo masculino por 115- 125 estambres y de 53- 58 estambres del morfo hermafrodita (se contaron cinco flores de cada morfo, de individuos diferentes); el androceo es del mismo tamaño en ambos morfos. El ovario es súpero y frecuentemente con tres sépalos en el morfo masculino y cuatro en el morfo hermafrodita.

*Visitantes florales.* Durante la floración, la cual dura aproximadamente mes y medio, se observaron visitas a ambos morfos florales por parte de coleópteros de la familia Chrysomelidae, durante los tres años de muestreo. La anthesis dura un mes en la población y en cada flor aproximadamente tres días. Después de este período los estambres permanecen en las flores, marchitos tanto en las masculinas como en las hermafroditas. Las flores de los individuos hermafroditas, que son las que fructifican (figura 6), se vuelven a cerrar, volviéndose verdes nuevamente, pero con un tamaño mayor cubriendo por completo a los órganos sexuales, más tarde pierden esta

tonalidad hasta volverse blancos y finalmente rojos, es decir, posee sépalos acrescentes que cubren al fruto en desarrollo, el cual tarda en madurar un mes y medio. Posteriormente comienzan a separarse los sépalos, dejando ver un fruto café rojizo, que al madurar se vuelve negro, observándose aún restos del estigma oscurecido (figura 7).



Figura 4. A) Inflorescencia de *P. krusei* tipo dicasio, botones florales con los sépalos verdes. B) Botones florales y una flor en anthesis. La anthesis es asincrónica. C) Anthesis de la mayoría de las flores del dicasio con sépalos blancos.

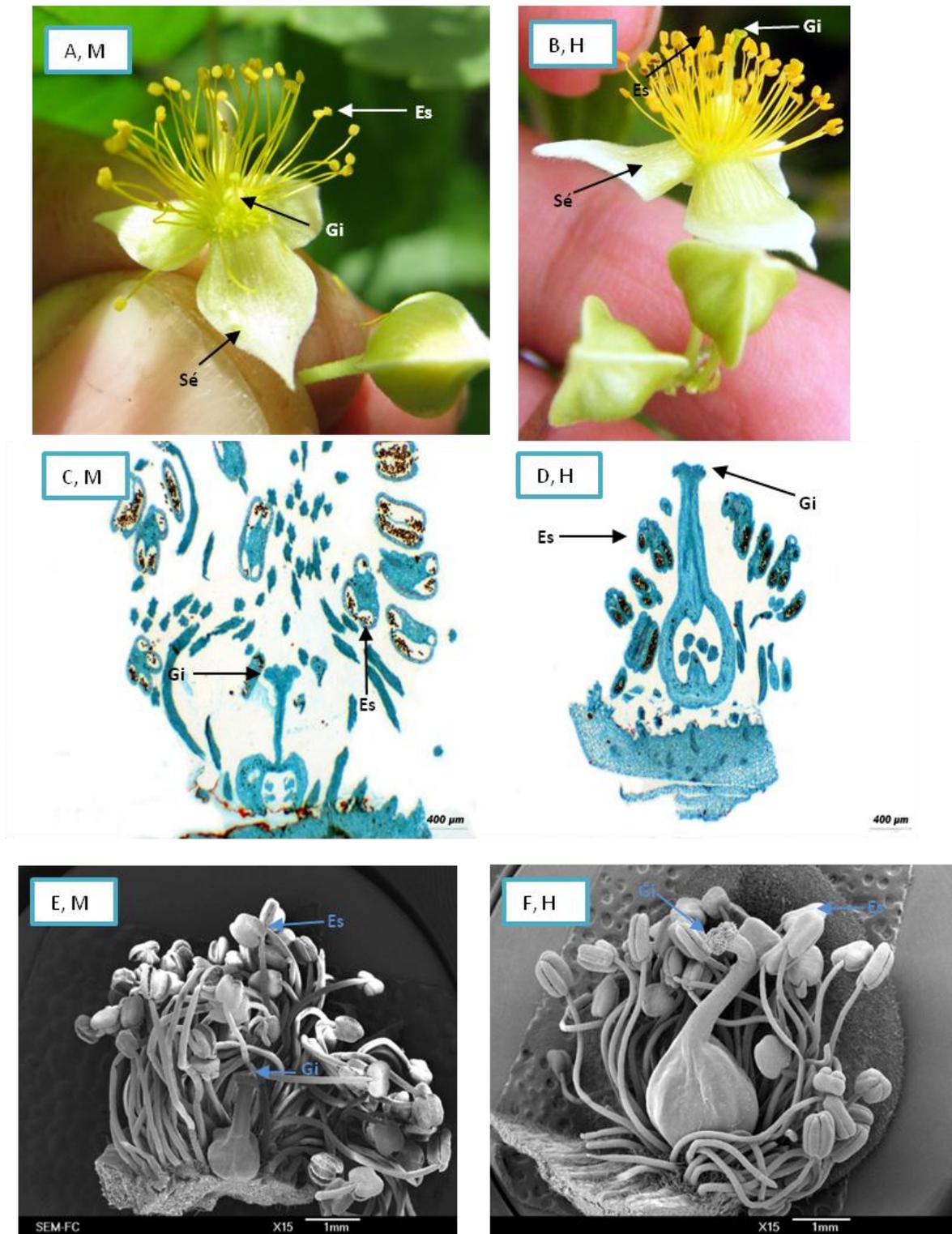


Figura 5. Morfología floral de *P. krusei* en antesis. A) Morfo floral masculino. La flor presenta tres sépalos, entre 115 y 125 estambres y un gineceo reducido por abajo del nivel de las anteras. B) Morfo floral hermafrodita. La flor presenta tres sépalos, entre 53 y 58 estambres, un gineceo, con el estigma por arriba del nivel de las anteras. C) Corte longitudinal de una flor masculina con anteras maduras y el gineceo reducido D) Corte longitudinal de una flor hermafrodita con anteras maduras y un gineceo con el estigma que sobresale del nivel de las anteras E) Se observa una flor masculina constituida por sépalos, estambres y un gineceo por debajo de la altura de los estambres. F) Flor hermafrodita con estambres y gineceo de igual tamaño a los estambres. (Es) estambre; (Gi) gineceo y (Sé) sépalo.

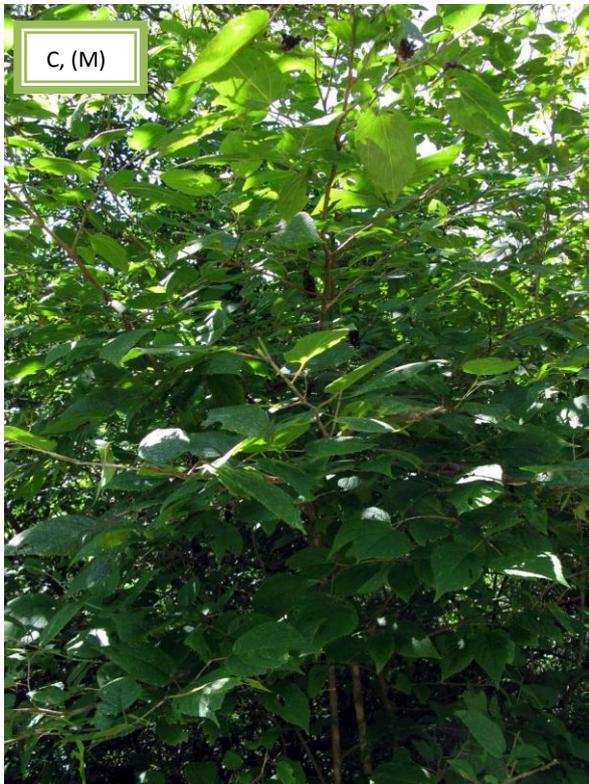


Figura 6. Árboles de *Prockia krusei* en la época de fructificación. A) y C) Árboles masculinos sin producción de frutos. B) y D) Árboles hermafroditas con abundantes frutos.

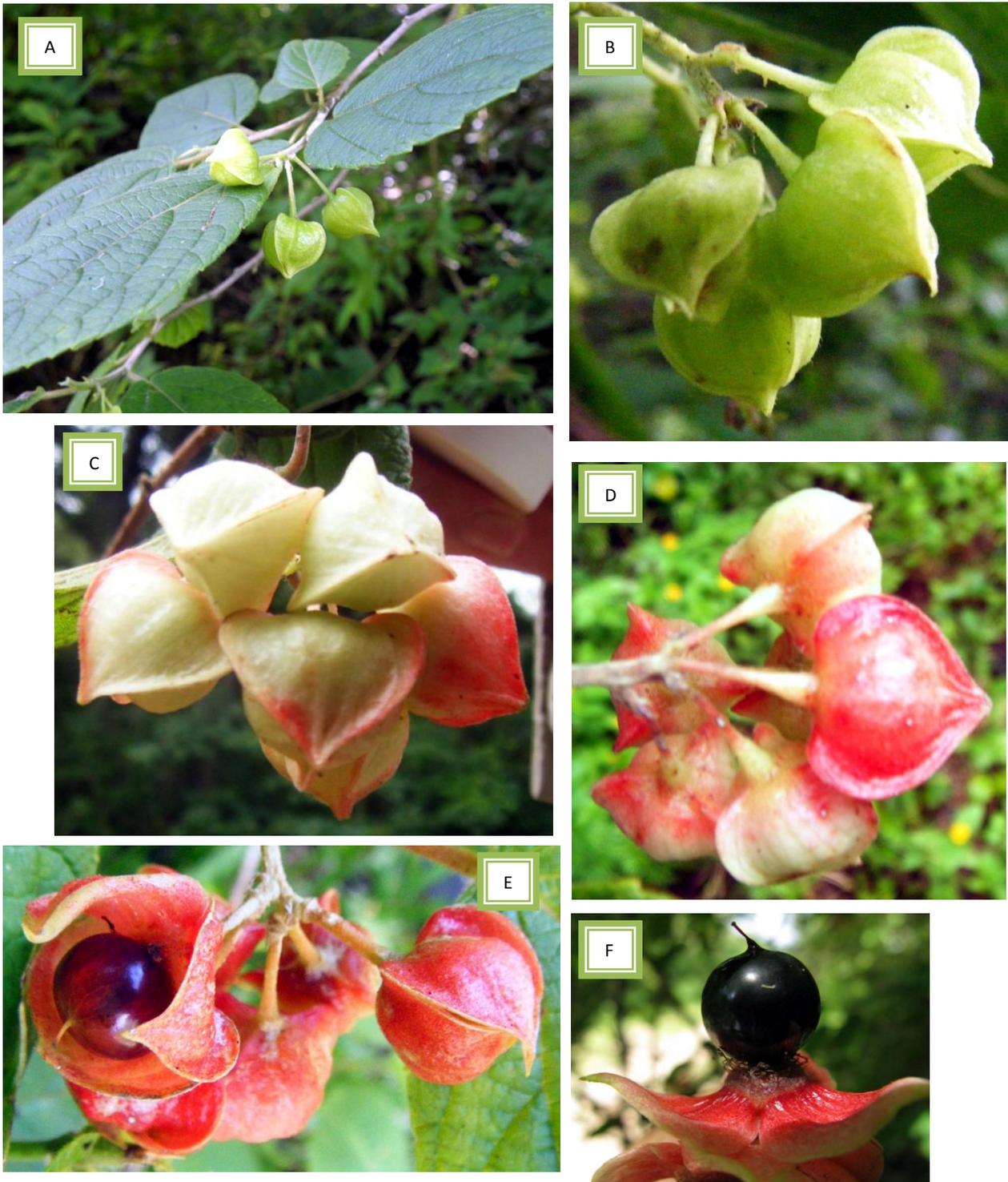


Figura 7. Distintas etapas de la maduración de los frutos del morfo hermafrodita. A)- D) Los sépalos acrescentes cubren al fruto en desarrollo, permaneciendo durante toda la fructificación y presentan cambio de coloración al madurar el fruto. E) Los sépalos empiezan a abrir descubriendo al fruto de color café rojizo, el cual es una baya. F) Sépalos completamente abiertos mostrando al fruto maduro de color negro ya sin estambres.

#### DESARROLLO DE LA PARED DE LA ANTERA DEL MORFO MASCULINO

En los botones florales, de etapa II se puede observar la etapa meiótica de las células madres de las microsporas que darán origen a los granos de polen jóvenes (figura 8 C). Para este momento, la antera tetrasporangiada presenta tejido vascular al centro y tejido conectivo a su alrededor (figura 8 A). La pared de la antera está formada por cuatro capas celulares, del exterior hacia el interior se observa la epidermis, el endotecio, una capa media biestratificada y rodeando a los meiocitos el tapete de tipo secretor, binucleado (figura 8 B).

En etapa III, se encuentran las tétradas de microsporas rodeadas por un tapete denso y binucleado (figura 8 D).

Las microsporas quedan libres, después de la disolución de la pared de calosa (durante la etapa IV). Se observa el endotecio con poco contenido, remanentes de las capas medias y el tapete en degradación y vaciando su contenido hacia el interior del microsporangio.

El tapete, en una etapa de preantesis (IV) sintetiza los precursores de la pared de exina (esporopolenina y pollenkit), a través de la muerte celular del mismo y la secreción de moléculas citoplasmáticas para la formación de los cuerpos de Ubish que se adhieren a cada microspora, Durante este proceso la pared conserva la epidermis, el endotecio y capa media y el tapete degenerado (figura 8 E).

Una vez que los granos de polen maduraron, la pared de la antera consta de epidermis y un endotecio. El endotecio no presenta actividad sino hasta un poco antes de la dehiscencia, cuando el polen está ya maduro, y debido a la acumulación de depósitos se ven engrosamientos en las paredes radiales y transversales internas de las células del endotecio (figura 10 A). En una flor en antesis, la anteras han expulsado los granos de polen que salen por el estomio a través de una línea de dehiscencia

longitudinal, quedando con un microsporangio por teca después que el septo se ha roto (figura 10 A y C).

#### MICROSPOROGÉNESIS Y MICROGAMETOGÉNESIS DEL MORFO MASCULINO

Durante la microsporogénesis, el tejido esporógeno se convierte en meiocitos, en la etapa II, los meiocitos están envueltos por una pared gruesa de calosa. Ya en la meiosis I, de tipo simultánea, se distingue el uso acromático (figura 8 C). En la meiosis II, las tétradas tetrahédricas se encuentran envueltas por calosa (figura 8 D).

En la microgametogénesis, ocurre la mitosis en los granos de polen inmaduros, donde se forman dos células, una generatriz y otra vegetativa. Los granos de polen son liberados después de que se forman estas dos células (figura 8 E y F).

#### DESARROLLO DE LA PARED DE LA ANTERA DEL MORFO HERMAFRODITA

En un corte transversal en la etapa premeiótica (II) de la antera se observan cuatro microsporangios jóvenes con meiocitos en su interior (figura 9 A), con la pared conformada por epidermis, endotecio, capa media biestratificada y el tapete binucleado y con citoplasma denso (figura 9 B y C).

Cuando posteriormente las microsporas quedan libres, se observa que la pared de la antera está constituida por epidermis, endotecio, restos de capas medias y el tapete de tipo secretor degradándose (figura 9 D).

Cuando la antera está madura, durante la etapa IV, la pared de la antera consta de epidermis, endotecio con engrosamientos en la pared tangenciales internas y radiales. Se alcanzan a distinguir restos de las capas medias y el tapete ha vertido su

contenido citoplasmático al lóculo para cubrir a las microsporas libres (figura 9 B y 10 B).

Durante la antesis los granos de polen son liberados en etapa bicelular, a través de una abertura longitudinal o estomio, momento en que se pierde el septo entre cada par de microsporangios y se forma un solo lóculo (dos por antera; figura 10 B y D).

#### MICROSPOROGÉNESIS Y MICROGAMETOGÉNESIS EN EL MORFO HERMAFRODITA

Los meiocitos, después de la meiosis darán lugar a las microsporas (figura 9 C).

En la microgametogénesis, la microspora se divide para formar, dos células, una generatriz y otra vegetativa que son el resultado de una mitosis. Ésta se caracteriza por tener citocinesis asimétrica y cariocinesis normal, quedando la generatriz más pequeña que la vegetativa (figura 9 E). La célula generatriz está embebida en la célula vegetativa.

#### MORFOLOGÍA POLÍNICA DEL MORFO MASCULINO

Los granos de polen son triaberturados, microrreticulados y esféricos, con un eje ecuatorial de aproximadamente 12 micras. En una vista polar se observa que las terminaciones de las aberturas convergen hacia la zona del apocolpo, en una vista ecuatorial se observan los colpos con una protuberancia en la parte media de la abertura (figura 11 A).

## MORFOLOGÍA POLÍNICA DEL MORFO HERMAFRODITA

Los granos de polen en el morfo hermafrodita presentan una serie de características particulares que se observaron con microscopía electrónica de barrido. El polen de algunas anteras, es igual al morfo masculino, es decir son triaberturados, microrreticulados, esféricos y con un diámetro de aproximadamente 12 micras (figura 11 B); sin embargo, se observaron granos con varias aberturas distribuidas en toda su superficie; con exina microrreticulada y de mayor diámetro, de aproximadamente 16 y 18 micras (figura 11 F). Se encontraron ambos tipos de polen en una antera (figura 11 E), y después de examinar algunas otras no se volvieron a observar coexistiendo. Es decir, en el morfo hermafrodita, que contiene dos tipos de polen, se observa un solo tipo de polen por antera y no juntas (figura 11 F).

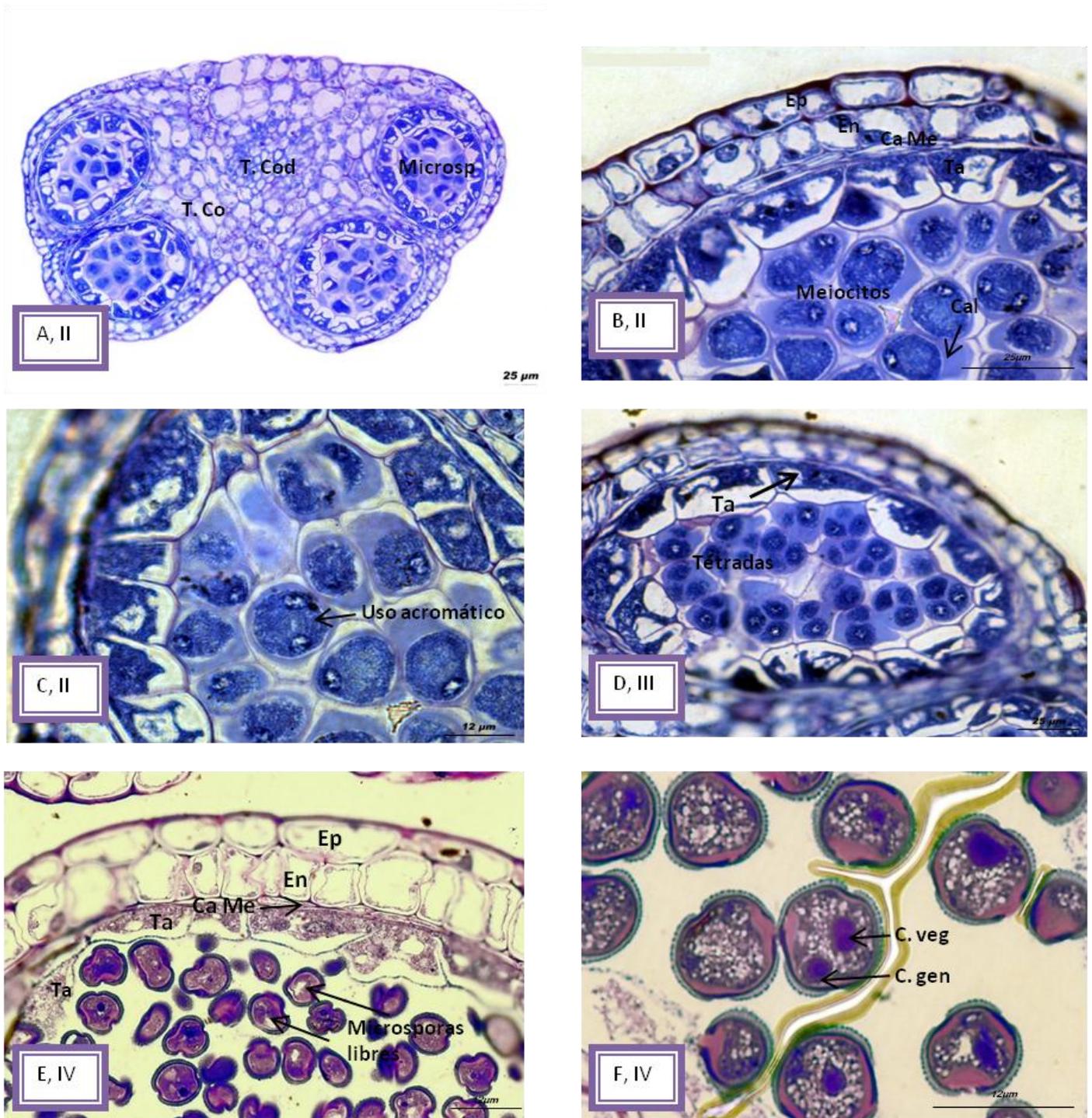


Figura 8. Desarrollo de la pared de la antera y de los granos de polen del morfo masculino de *P. krusei*. A) Corte transversal mostrando la antera tetrasporangiada en etapa de meiocitos. Se observa tejido conectivo y al centro tejido vascular. B) Pared de la antera con cuatro capas (epidermis, endotecio, capa media y tapete secretor) en etapa de díadas envueltos de calosa. C) Meiosis simultánea. D) Tétradas de microspora tetrahédricas envueltas en calosa y células de tapete bicelular. E) Pared de la antera con epidermis, endotecio, capa media y tapete degenerando. Microsporas libres. F) Granos de polen, binucleados, célula generatriz (pequeña) y célula vegetativa (grande). (C. gen) célula generatriz; (C. veg) célula vegetativa; (CaMe) capa media; (Cal) calosa; (En) endotecio; (Ep) epidermis; (Microsp) microsporangio; (T. Co.) tejido conectivo; (T. Cod) tejido de conducción; (Ta) tapete.

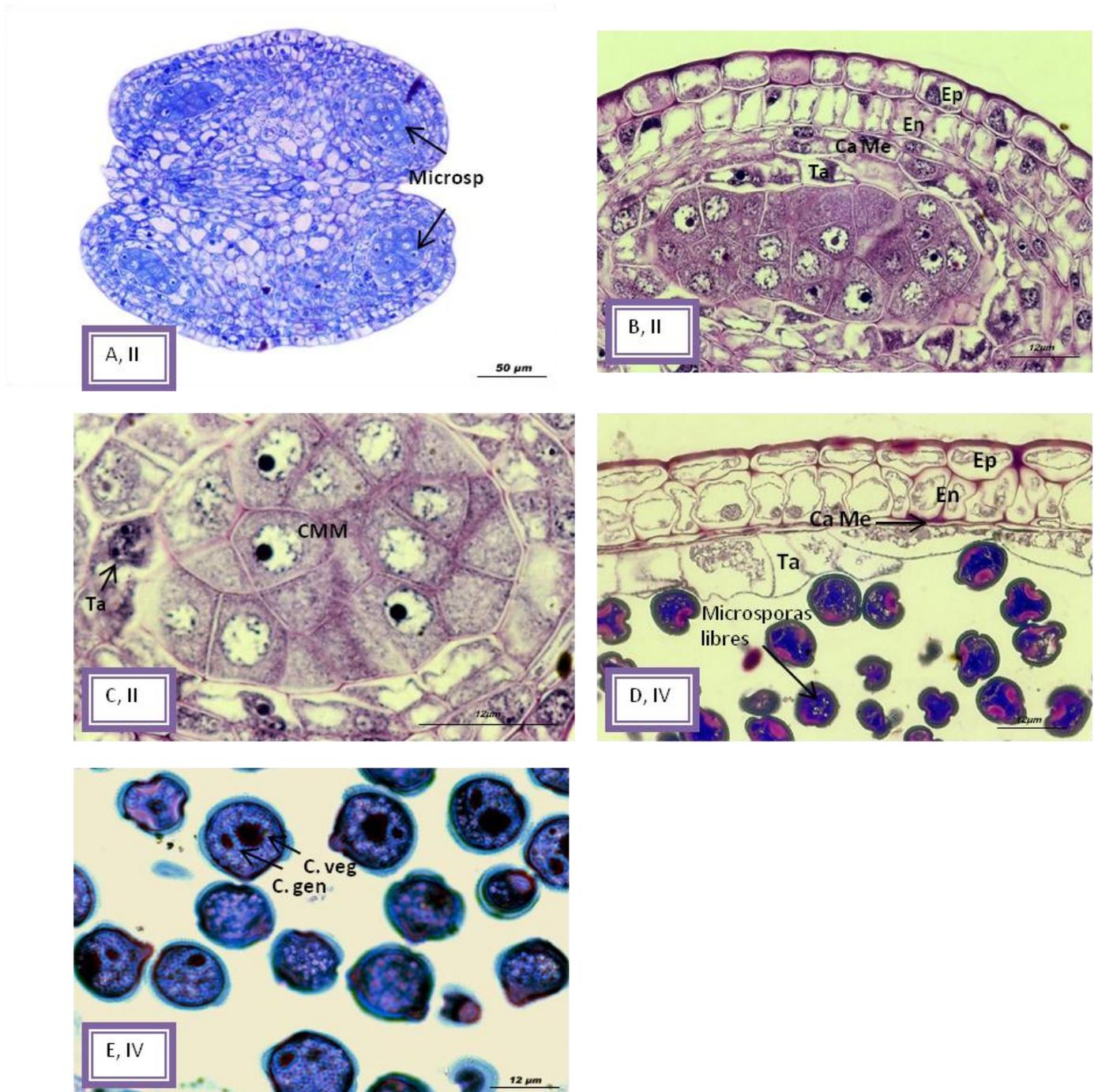


Figura 9. Desarrollo de la antera y los granos de polen en el morfo hermafrodita de *P. krusei*. A) Antera joven tetrasporangiada. B) Pared de la antera, constituida por epidermis, endotecio, capa media biestratificada y tapete. C) Células madres de las microsporas y tapete. D) Pared de la antera con epidermis, endotecio, capa media y tapete degenerando. Microsporas libres. E) Granos de polen bicelulares, célula generatriz (pequeña) y vegetativa (grande). (C. gen) célula generatriz; (C. veg) célula vegetativa; (CaMe) capa media; (CMM) células madre de la microspora; (En) endotecio; (Ep) epidermis; (Microsp) microsporangio; (Ta) tapete.

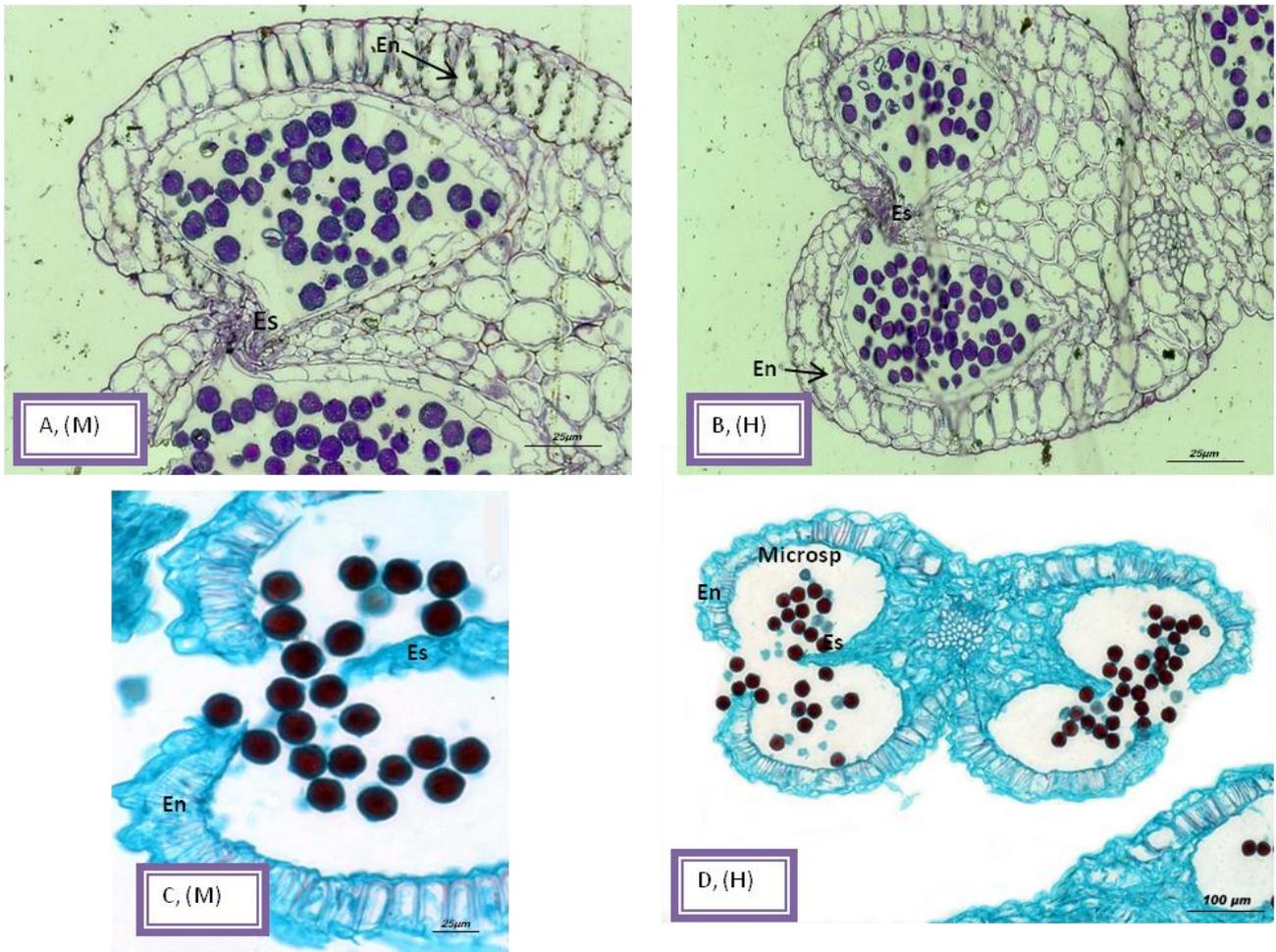


Figura 10. Antera madura. A) Pared de la antera madura formada por epidermis y endotecio con engrosamientos. Aún se observa septo entre los dos microsporangios en el morfo masculino. B) Pared de la antera madura formada por epidermis y endotecio con engrosamientos. Aún se observa septo entre los dos microsporangios en el morfo hermafrodita. C) Ruptura del estomio y septo, mostrando la dehiscencia de la antera, con los granos de polen liberándose en el morfo masculino. D) Ruptura del estomio y septo, mostrando la dehiscencia de la antera, con los granos de polen liberándose en el morfo hermafrodita. (En) endotecio; (Es) estomio; (Microsp) microsporangio.

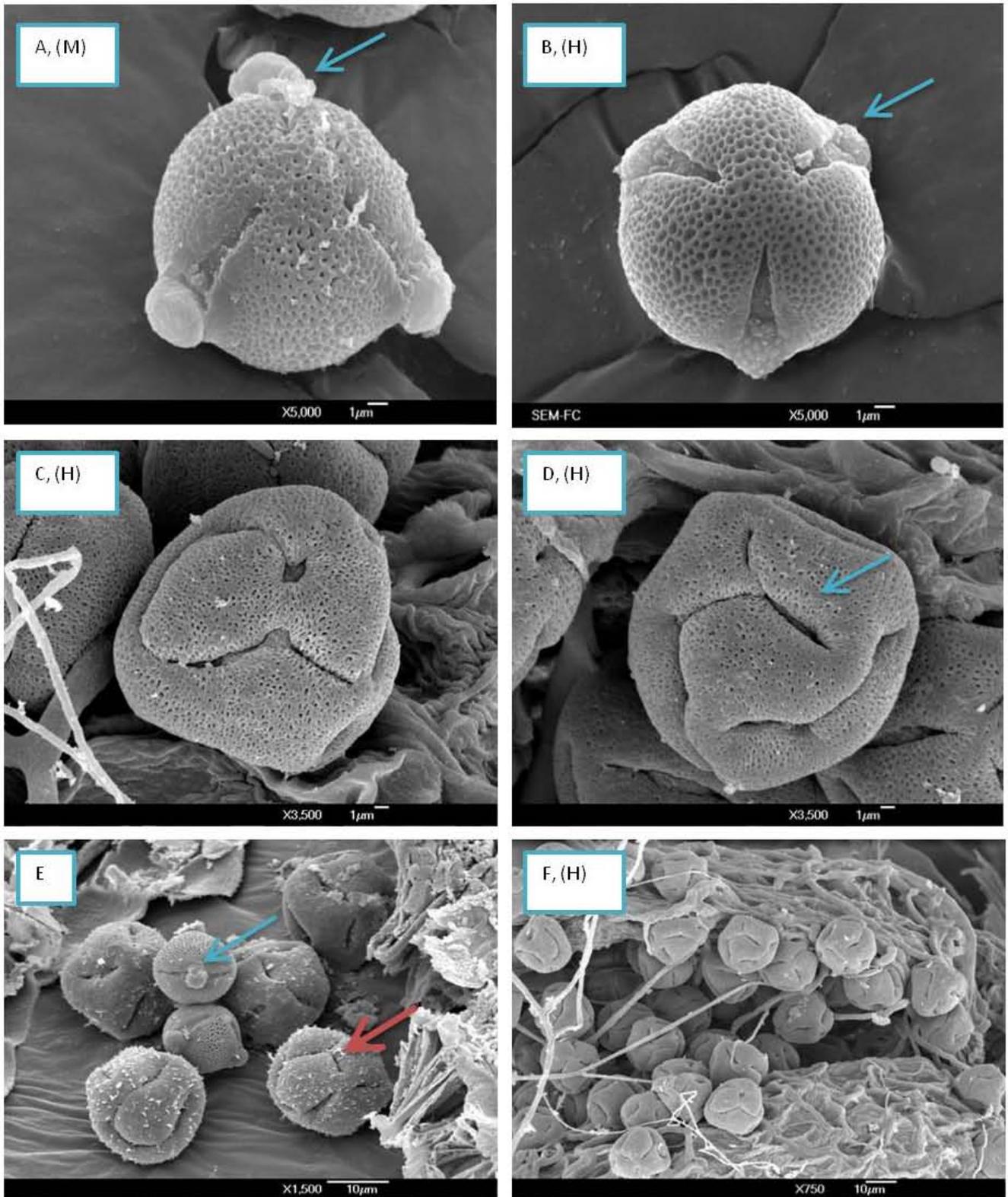


Figura 11. Micromorfología de los granos de polen de *P. krusei* en ambos morfos florales. A) Polen triaberturado y tricolpado en vista polar del morfo masculino. B) Polen triaberturado y tricolpado en vista polar del morfo hermafrodita. C) y D) Polen de mayor tamaño, más de tres aberturas y sin colpos. E) Contaminación de polen en una de las anteras, donde se observan ambos morfos polínicos. Polen triaberturado (flecha azul), polen con morfología diferente (flecha roja). F) Antera con granos de polen anormales.

## PRUEBA DE VIABILIDAD DE POLEN

El porcentaje de granos viables contados para siete individuos del morfo masculino fue de 93.84% de viabilidad (figura 12 A) y el porcentaje para los granos de polen viables en el morfo hermafrodita, tomado de tres individuos fue de aproximadamente 90% (figura 12 B). De tal manera que ambos morfos florales presentan granos de polen con un alto porcentaje de viabilidad (tabla 4).

Tabla 4. Porcentaje de viabilidad de granos de polen para el morfo masculino y hermafrodita

Número del Individuo (masculino)	Prueba de Alexander (% de granos viables)	Número del Individuo (hermafrodita)	Prueba de Alexander (% de granos viables)
1	91.51%	5	100%
3	92.75%	17	80%
8	93.98%	21	90%
9	97.75%		
13	95.63%		
16	91.33%		
20	93.93%		

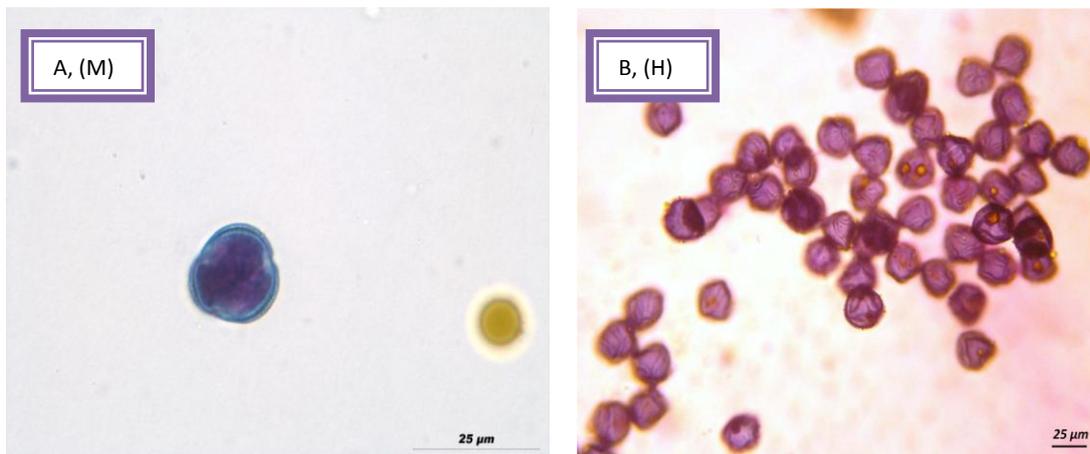


Figura 12. Prueba de Alexander A) Polen viable en el morfo masculino B) Polen viable en el morfo hermafrodita.

## DISCUSIÓN

En esta investigación se define a *Prockia krusei* con un sistema androdioico funcional, aunque las flores de la población observada son morfológicamente hermafroditas, se confirmó durante tres floraciones (2010, 2011 y 2012) que el morfo masculino solo actúa como donador de polen, mientras que sus gineceos permanecen pequeños sin desarrollar frutos y el morfo hermafrodita, lleva a cabo tanto la formación de polen como la producción de frutos.

Uno de los objetivos de la investigación fue determinar si el androceo presenta las características reportadas para la familia Salicaceae y determinar si es morfológicamente normal, de esta manera se confirmó que el androceo de ambos morfos desarrollan polen viable. Las características embriológicas reportadas para la familia (Johri, 1992) dicen, entre otros caracteres, que posee numerosos estambres lineares, que la pared de la antera está compuesta por epidermis, endotecio, capas media (que desaparecen tempranamente) y tapete secretor binucleado. La dispersión del grano de polen es en etapa bicelular y sus frutos son bayas. Estas mismas fueron observadas en *P. krusei*; al igual que granos de polen tricolporados, con ornamentación microreticulada (Núñez y Ludlow- Wiechers, 1998). La única diferencia observada en *P. krusei* es la morfología de algunos de los granos de polen de algunas anteras del morfo hermafrodita, que es completamente diferente que la morfología de los granos de polen observados para el morfo masculino. Sin embargo, hay que tener mucho cuidado con estos resultados, pues no se tiene la certeza de la etapa, durante el desarrollo del polen, en que se producen estas diferencias.

El desarrollo de las anteras de *Prockia krusei*, se lleva a cabo de manera exitosa en ambos morfos y no hay diferencias en los procesos que ocurren para la producción de los gametofitos masculinos entre los individuos masculinos y hermafroditas.

Al utilizar la técnica de microscopía electrónica de barrido, se determinó la heteromorfía de los granos de polen sin embargo, no se pudo dilucidar si los granos de polen con múltiples aberturas son o no viables. Estos granos de polen se distribuyen por antera, en el morfo hermafrodita es decir, en una antera hay un solo tipo de granos de polen: ya sea tricolpados o “multicolpados”, no se sabe si los granos de polen pueden germinar o no.

Las pruebas de Alexander indican que hay una alta viabilidad de los granos de polen, pero no se pudo diferenciar qué tipo de granos de polen son los que poseen esta alta viabilidad en el caso del morfo hermafrodita, si el morfo tricolpado o el multicolpado, ya que esta diferencia solo se pudo observar usando la técnica de microscopía electrónica de barrido y al hacer la prueba de Alexander no se puede distinguir las aberturas ni morfología.

En el caso del morfo masculino, se obtuvo una media de viabilidad del 93.84% de los granos de polen de siete individuos y del morfo hermafrodita, del 90% de tres individuos. Esta prueba no es concluyente debido a que se llevaron a cabo pocas repeticiones por falta de material fresco, así que estadísticamente no resulta significativo y es necesario repetirla en futuras investigaciones, así como también utilizar el índice de germinación de granos de polen (Lloyd, 1975; Charlesworth, 1984), para observar los porcentajes de viabilidad. Esto se debió a que solamente durante el primer año de floración se observó la fenología completa de *P. krusei* y en las pruebas hechas durante las siguientes temporadas de floración, no se encontraron suficientes

flores en antesis (por haber llegado fuera de temporada) para confirmar la viabilidad, en especial del morfo hermafrodita. El tiempo de floración fue diferente en los años que duraron las observaciones.

#### *Androdioicismo.*

Con esta investigación, se puede asegurar que la población estudiada de *Prockia krusei* es androdioica, el dimorfismo en el gineceo es determinante en su adecuación (Barrett, 2002), debido a que solo se producen semillas en el morfo hermafrodita (Charlesworth, 1984; Pannell, 2002b; Gleiser y Verdú, 2005).

Una característica de las angiospermas es que sus sistemas sexuales son poco estables desde una perspectiva ecológica y evolutiva (Barrett, 2002). Los sistemas dioicos son considerados generalmente polifiléticos, así es que no llegan a formar taxones porque presentan reversiones o extinciones (Richards, 1986). La familia Salicaceae, está compuesta por géneros totalmente dioicos, tales como *Salix* ó *Carex* (Judd *et al.*, 2002). Debido a que los sistemas dioicos son un carácter plesiomórfico en la familia Salicaceae, el sistema androdioico que presenta *P. krusei*, probablemente sea un sistema derivado del dioico. Las diferencias de las flores masculinas y hermafroditas, como son un mayor número de anteras en las flores de los individuos masculinos con respecto al hermafrodita y el polimorfismo de los granos de polen en el morfo hermafrodita, del que se desconoce si ambos son viables, pudieran ser reminiscencias de un pasado dioico.

Otra posible hipótesis es que la población observada de *P. krusei* sea parte de una metapoblación y que la dinámica reproductiva esté fluctuando. A causa de la inestabilidad de la población, es posible que las flores con esterilidad femenina se hayan conservado, quedando el sistema androdioico (Pannell, 2002b).

Se han propuesto varias hipótesis sobre la rareza del sistema androdioico, y aunque no se puede descartar la posibilidad de su existencia, su estabilidad está en duda (Pannell, 2002a). Es posible que el sistema androdioico de *P. krusei* sea un paso intermedio hacia la dioecia, ya que el dioicismo es un sistema que se ha conservado y aunque se tienen menos registros de especies dioicas que hermafroditas, en teoría debería haber más si es que la principal fuerza selectiva es la depresión endogámica, ya que esta dinámica asegura la reproducción cruzada (Bawa, 1980). Aunada a esta teoría, el dimorfismo del gineceo de *P. krusei*, podría indicar la vía por la que se llega al dioicismo, especializándose cada función, por la asignación específica de recursos para cada uno (Bawa, 1980;). Las mismas diferencias mencionadas antes, entre las flores de los individuos masculinos y hermafroditas, pueden interpretarse también como una reducción en el número de estambres en el morfo hermafrodita para convertirse en el morfo femenino de una población dioica. La morfología del polen en el morfo hermafrodita, que presenta estructuras que no parecen aberturas ordinarias, podría significar problemas en la germinación, ya que parecieran estar cerradas, quedando en proporción, mayor número de estambres fértiles en el morfo masculino, aunque esto no asegura que más granos de polen de este morfo puedan fecundar, eso más bien depende de su sistema de dispersión (Pannell, 2002a).

Sin embargo, sólo se han localizado dos poblaciones de *Prockia krusei*, ambas en Guerrero (Trópicos.org, 2012), en ambientes de transición (ecotonos) de una selva mediana a un ambiente árido. Estas poblaciones tan restringidas se pueden deber a que el sistema reproductivo, solo produce frutos en la mitad de la población, y que podría estar limitada la dispersión de semillas.

Sin embargo, si la tasa de germinación de *P. krusei* fuera muy alta, se podría considerar un sistema estable, ya que ahorraría recursos en la producción de frutos, sin arriesgar su descendencia y su apareamiento por la alta producción de granos de polen, obteniendo una alta densidad relativa (Lloyd, 1980 en Pannell, 2002b). Es necesaria una investigación acerca de la autocompatibilidad de *P. krusei*, ya que si presenta autoincompatibilidad, su sistema se mantiene en equilibrio, porque se aseguran más heterocigos (Charlesworth, 1984; Lloyd, 1975; Pannell, 2002b).

## CONCLUSIONES

Las flores de *Prockia krusei*, presentan un dimorfismo estilar. Dicho dimorfismo está asociado a la producción de frutos. Solo las flores con estilos largos producen frutos.

En ambos morfos ocurre un desarrollo normal de sus anteras.

Los gineceos de las flores con estilos cortos no se elongan en ningún momento durante la fenología de *P. krusei* y no llegan a producir frutos.

Las pruebas de viabilidad indican porcentajes muy altos, más del 90% de los granos de polen de las anteras a las que se les aplicó esta prueba son viables.

Por lo tanto, el sistema reproductivo que presenta *P. krusei* es androdioco.

## BIBLIOGRAFÍA CITADA

- Alexander, M. P. 1969. Differential staining of aborted and nonaborted pollen. *Stain Technology*. 44: 117- 122.
- Barrett, S. C. H. 2002. The evolution of plant sexual diversity. *Nature Publishing Group*. Department of Botany, University of Toronto, Canada. 3: 274- 284.
- Barrett, S. C. H. 2009. Darwin's legacy: the forms, function and sexual diversity of flowers. *Philosophical transactions of the Royal Society B*. Department of Ecology and Evolutionary Biology, University of Toronto, Canada. 365: 351- 368
- Bawa, K. S. 1980. Evolution of dioecy in flowering plants. *Ann. Rev. Ecol. Syst.* 11: 15- 39.
- Charlesworth, D. 1984. Androdioecy and the evolution of dioecy. *Biological Journal of the Linnean Society*. 23: 333- 348.
- Chater, F. 1995. *Flora Mesoamericana: Psilotaceae a Salviniaceae*. Volúmen 1. Universidad Nacional Autónoma de México. Instituto de Biología. Ciudad Universitaria, México, D.F.
- Darwin, C. 1877. *The different forms of flowers on plants of the same species*. Londres. Diccionarios. Oxford- Complutense. Biología. 2004. Oxford University Press. España.
- Eguiarte, L. E., Nuñez- Farfán, J., Domínguez, C. y Cordero, C. 1992 Biología evolutiva de la reproducción en plantas. *Ciencias*. (No. especial): 69-86.

- Gleiser, G. y Verdú M. 2005. Repeated evolution of dioecy from androdioecy in *Acer*. *New Phytologist*. 165: 633- 640.
- Harder, L. D. y Barrett, S. C. H. 2006. "1.6.2 The evolution of heterostyly" en *Ecology and evolution of flowers*. Oxford University Press. Canadá.
- Jiménez- Ramírez J. y Durán- Cruz, R. 2005. *Prockia krusei* (Salicaceae), una Especie Nueva del Estado de Guerrero, México. *Novon*. 15: 297- 300.
- Linneo, C. 1759. *Systema Naturae*. Tomo II.
- Johri, B. M., Ambegaokar, K. B. y Srivastava, P. S. 1992. *Comparative Embryology of Angiosperms. Vol. 1*. Springer- Verlag. New York
- Judd, W. S., Campbell C. S., Kellogg, E. A., Stevens P. F., Donoghue, M. J. 2002. *Plant Systematics: A Phylogenetic Approach*. Segunda edición. Sinauer Associates, Inc. Sunderland, Massachusetts.
- Lloyd, D. G. 1975. The maintenance of gynodioecy and androdioecy in angiosperms. *Genetic*. 45: 325- 339.
- López- Curto, M., Márquez- Guzmán, J. y Murguía- Sánchez, G. 2005. *Técnicas en el estudio del desarrollo en angiospermas*. Las prensas de ciencias. México.
- Núñez, P. y Ludlow- Wiechers, B. 1998. No. 6. Salicaceae. *Flora Palinológica de Guerrero*. Facultad de Ciencias. UNAM 6: 2- 7.
- Orozco- Arroyo G. y Vázquez- Santana S. Capítulo X. Sistemas de reproducción sexual. Pp. 158- 166 en Márquez- Guzmán, J., Collazo- Ortega, M., Martínez- Gordillo, M., Orozco- Segovia, A., Vázquez- Santana, S. (Eds). *Biología de angiospermas*.

Prensas de la Facultad de Ciencias. Universidad Nacional Autónoma de México.

*En prensa.*

Pannell, J. R. 2002a. What is functional androdioecy? *Functional Ecology*. 16: 858- 869

Pannell, J. R. 2002b. The Evolution and Maintenance of Androdioecy. *Annual Review Ecology, Evolution and Systematics*. 33: 397- 425.

Renner, S. S. 2001. How common is heterodichogamy?. *Trends in Ecology and Evolution*. 16: 595- 597.

Richards, A. J. 1986. "Dicliny" en *Plant Breeding Systems*. George Allen and Unwin. Londres.

Stevens, P. F. 2008. Angiosperm Phylogeny Website. Versión 9, Junio 2008 [y desde entonces continuamente actualizado]." Consultado en: <http://www.mobot.org/MOBOT/research/APweb/>.

Tropicos.org. Missouri Botanical Garden. 23 Ene 2013. Consultado en: <http://www.tropicos.org/Name/50292301>.

Valverde- Valdéz, M. T. 1999. Las metapoblaciones en la naturaleza ¿realidad o fantasía? *Ciencias*. 53: 56- 63

Vázquez- Nin, G., Echeverría, O. 2000. *Introducción a la Microscopía Electrónica Aplicada a las Ciencias Biológicas*. Fondo de cultura económica. México.

## APÉNDICE

Plano 1. Ubicación de los individuos marcados de *Prockia krusei* observados y de los cuales se tomaron muestras.

