



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA  
DE MÉXICO

---

---

FACULTAD DE CIENCIAS

Estructura del gineceo en los morfos florales de *Prockia  
oaxacana* (Salicaceae)

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

BIÓLOGA

P R E S E N T A:

ENYA NICOLE QUIROZ PACHECO



DIRECTORA DE TESIS:

DRA. GUADALUPE JUDITH MÁRQUEZ GUZMÁN

2015



Universidad Nacional  
Autónoma de México



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

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

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

## **Datos del Jurado**

### 1. Datos del alumno

Quiroz  
Pacheco  
Enya Nicole  
5554662209  
Universidad nacional Autónoma de México  
Facultad de Ciencias  
308218525

### 2. Datos del tutor

Dra.  
Guadalupe Judith  
Márquez Guzmán

### 3. Datos del sinodal 1

Dr. Juan Servando  
Núñez Farfán

### 4. Datos del sinodal 2

Dra.  
Martha Juana  
Martínez Gordillo

### 5. Datos del sinodal 3

M. en C. Jaime  
Jiménez Ramírez

### 6. Datos del sinodal 4

M. en C. Mónica Karina  
Pérez Pacheco

### 7. Datos del trabajo escrito

Estructura del gineceo en los morfos florales de *Prockia oaxacana* (Salicaceae)  
71p  
2015

*A la memoria de mi Padre quien extraño todos los días*

*A mi Madre por su cariño y apoyo incondicional*

*A mi Amores in memoriam*

*A mi Abuelo, mis tíos Janin y Ricardo, Martín e Imelda y mi primo Manuel*

## **Agradecimientos**

A la Universidad Nacional Autónoma de México, máxima casa de estudios, por darme la maravillosa oportunidad de formar parte de la comunidad universitaria desde la preparatoria.

A la Dra. Judith Márquez Guzmán, por todo su apoyo y comprensión, por todas las enseñanzas transmitidas y por ser todo un ejemplo a seguir.

A la M. en C. Mónica Karina Pérez por su paciencia y comprensión, por todas sus enseñanzas en el laboratorio y en campo.

Al M. en C. Ricardo Wong por su enorme apoyo en campo, sin el cual no hubiera sido posible la realización de este trabajo.

A la Biol. Yolanda Hornelas por todo su apoyo brindado en el procesamiento, observación y toma de fotografías en el microscopio electrónico de barrido.

A la M. en F. P. Ana Isabel Bieler por su apoyo brindado en la toma de micrografías.

A la Dra. Rosalinda Tapia López por el apoyo técnico brindado.

A las profesoras del Taller de Biología de la reproducción, propagación y fisiología de angiospermas que viven en ambientes contrastantes: Dra. Judith Márquez Guzmán, Dra. Sonia Vázquez Santana, Dra. Margarita Collazo Ortega, Dra. Karina Jiménez Durán, Dra. Ana Laura López Escamilla y M. en C. Patricia Olguín Santos, por todas sus enseñanzas y consejos.

Al Laboratorio de Desarrollo en Plantas y a todos sus integrantes por su apoyo y hacer agradables todos los días de trabajo.

Al Jurado revisor: Dra. Guadalupe Judith Márquez Guzmán, Dr. Juan Servando Núñez Farfán, Dra. Martha Juana Martínez Gordillo, M. en C. Jaime Jiménez Ramírez y M. en C. Mónica Karina Pérez Pacheco, por sus correcciones y comentarios que enriquecieron este trabajo.

A mis amigos de la facultad que hicieron de esta etapa de mi vida inolvidable: Jessica, Nataly, Samantha, Erika, Vera, Claudio, Tolá y Mario.

A mi mejor amiga Violeta por apoyarme siempre, en las buenas y en las malas.

A mi familia por apoyarme ahora y siempre.

## ÍNDICE

|   | <b>Pág.</b> |
|---|-------------|
| <b>Resumen</b> .....  | 8           |
| <b>Introducción</b> .....                                   | 9           |
| <b>Antecedentes</b> .....                                   | 11          |
| <i>Taxonomía</i> .....                                      | 11          |
| Orden Malpighiales .....                                    | 11          |
| Familia Salicaceae .....                                    | 13          |
| Características taxonómicas .....                           | 13          |
| Características embriológicas .....                         | 13          |
| División en tribus .....                                    | 15          |
| Género <i>Prockia</i> .....                                 | 15          |
| <i>Prockia oaxacana</i> J. Jiménez Ram. et R. Cruz D. ....  | 17          |
| <i>Sistemas reproductivos</i> .....                         | 17          |
| Evolución de los sistemas dimórficos y su estabilidad ..... | 20          |
| Poligamodioicismo .....                                     | 23          |
| <i>La flor</i> .....  | 26          |
| Gineceo .....   | 29          |
| Estigma .....   | 29          |
| Estilo .....  | 30          |
| Ovario .....  | 31          |
| Óvulo .....   | 32          |
| Saco embrionario .....                                      | 33          |

|   |    |
|---|----|
| <b>Justificación</b> .....  | 34 |
| <b>Objetivos</b> .....  | 34 |
| General .....   | 34 |
| Particulares .....  | 34 |
| <b>Material y métodos</b> .....   | 35 |
| <i>Sitio de colecta y trabajo en campo</i> .....                              | 35 |
| <i>Observaciones al microscopio estereoscópico y pruebas estadísticas</i> ... | 37 |
| <i>Microtecnia</i> .....  | 39 |
| <i>Microscopía electrónica de barrido</i> .....                               | 40 |
| <b>Resultados</b> .....   | 42 |
| <i>Observaciones en campo</i> .....   | 42 |
| <i>Observaciones al microscopio estereoscópico y pruebas estadísticas</i> ... | 45 |
| <i>Estructura y morfología</i> .....  | 47 |
| Estigma .....   | 47 |
| Estilo .....  | 47 |
| Ovario .....  | 48 |
| Óvulos .....  | 49 |
| <b>Discusión</b> .....  | 56 |
| <b>Conclusiones</b> .....   | 64 |
| <b>Referencias</b> .....  | 65 |

## Resumen

En la naturaleza se encuentran gran cantidad de sistemas reproductivos, y las plantas en particular exhiben una cantidad impresionante de ellos. Dentro de los sistemas reproductivos se puede hacer una división en dos grandes grupos, monomórficos (un solo morfo) y dimórficos (dos morfos), estos últimos, evolucionaron a partir de sistemas monomórficos. Hay gran variación en el tipo de individuos que presenta cada sistema, por ejemplo el ginodioicismo, donde hay individuos femeninos e individuos hermafroditas, se piensa que es un estado intermedio entre el hermafroditismo y el dioicismo, así como el androdioicismo que consta de individuos masculinos e individuos hermafroditas. *Prokia oaxacana* es considerada una especie dimórfica, reportada con un sistema poligamodioico. Sistema rara vez encontrado en la naturaleza, por lo que éste trabajo es una contribución al esclarecimiento del sistema reproductivo de *P. oaxacana*.

Se estudió estructuralmente al gineceo de ambos morfos (hermafrodita y masculino) con el fin de comprender una parte del sistema sexual de *P. oaxacana*.

Se encontró que el gineceo del morfo hermafrodita presenta una gran variación en su longitud, formando un continuo, asimismo, se encontró que los gineceos (pequeños o grandes) presentan óvulos morfológica y estructuralmente viables, mientras que los gineceos del morfo masculino, pese a presentar una gran variación en tamaños, al igual que el otro morfo, son sumamente reducidos en comparación con el morfo hermafrodita y contienen óvulos atróficos o detenidos en la etapa de formación de tegumentos.

## **Introducción**

La sexualidad de las plantas ha sido objeto de estudio a lo largo de muchos años, dado que presentan una enorme diversidad, como ningún reino, en lo que a sistemas sexuales se refiere. Muchos de ellos están destinados a evitar la autocruza (Bawa y Beach, 1981; Barrett, 2002), aunque también han evolucionado sistemas que la favorecen, estos se suelen considerar caminos cerrados, sin embargo no es del todo cierto (Takebayashi y Morrell, 2001).

En los sistemas reproductivos que tienen la función de evitar la autocruza, en especies hermafroditas se presenta una diversidad impresionante (Bawa y Beach 1981; Barret, 2002), ya que al encontrarse órganos masculinos y femeninos en la misma flor, las probabilidades de autopolinización aumentan considerablemente (Barrett 2002).

Las flores hemafroditas poseen sistemas que evitan la autofecundación, en cuyo caso pueden presentar autoincompatibilidad, dicogamia y/o hercogamia entre otros (Barrett, 2002). La alogamia alcanza su máxima expresión en especies dioicas, donde los sexos femenino y masculino se encuentran en individuos diferentes. No obstante, es posible encontrar especies donde hay estados intermedios, como en el androdioicismo, ginodioicismo, subdioicismo, etc. Ahora bien, estas últimas variantes son un tema bastante complicado de abordar, ya que, aunque proporcionalmente son pocas las especies que presentan estos tipos de sistemas, son muy variados y no siempre es posible asignarlos a una sola

categoría. Este es el caso del poligamodioicismo, puesto que no hay definición que mencione con claridad los tipos florales que caracterizan a cada morfo. La determinación de estos sistemas, así como su evolución, es un tópico actualmente en desarrollo por los biólogos de la reproducción.

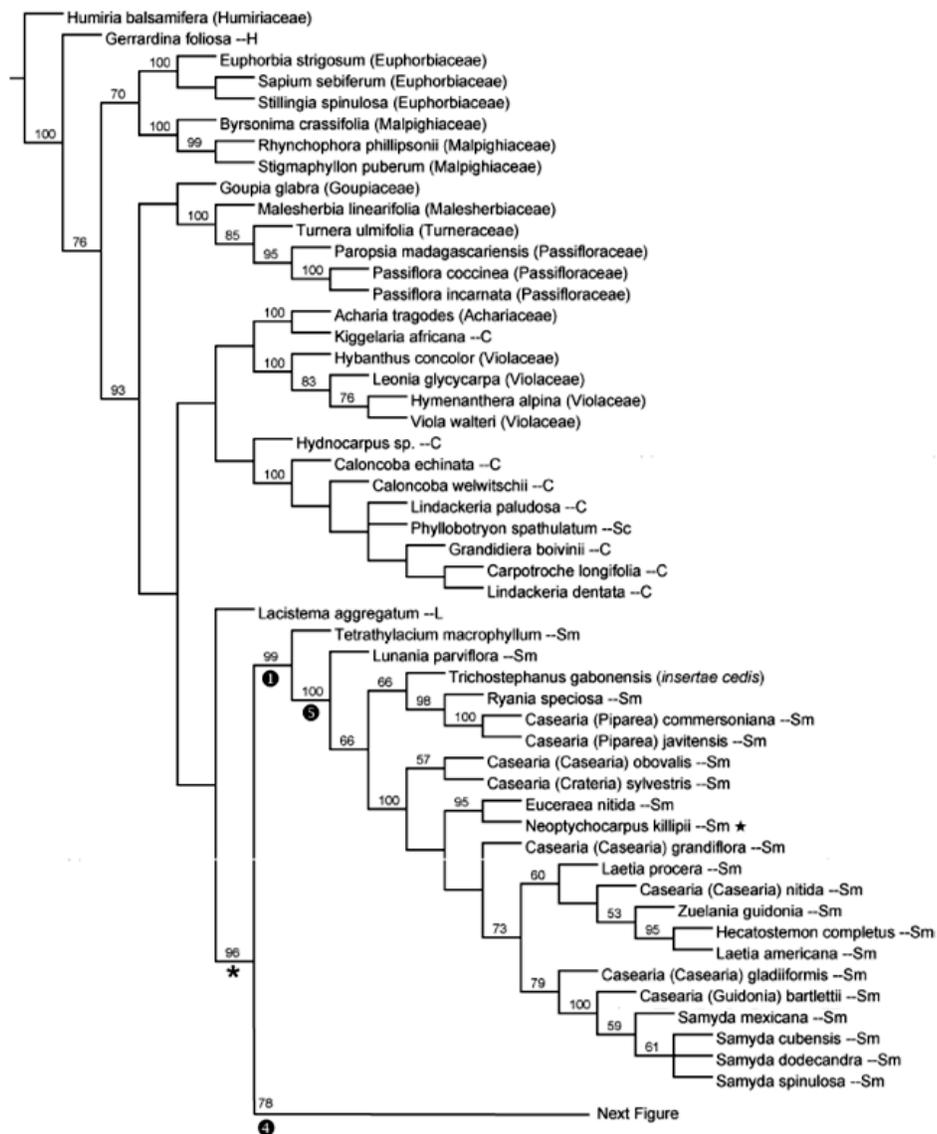
En *Prockia oaxacana*, el sistema reproductivo es particularmente interesante, puesto que se reportó como una especie poligamodioica (Jiménez *et al.*, 2008), sin embargo, aún no hay claridad sobre si es posible aplicarle tal definición o no, debido al tipo de flores y proporción de las mismas que presentan los individuos, por lo que este trabajo se propone caracterizar morfológicamente el órgano femenino de ambos morfos, mediante el uso de técnicas micromorfológicas y anatómicas.

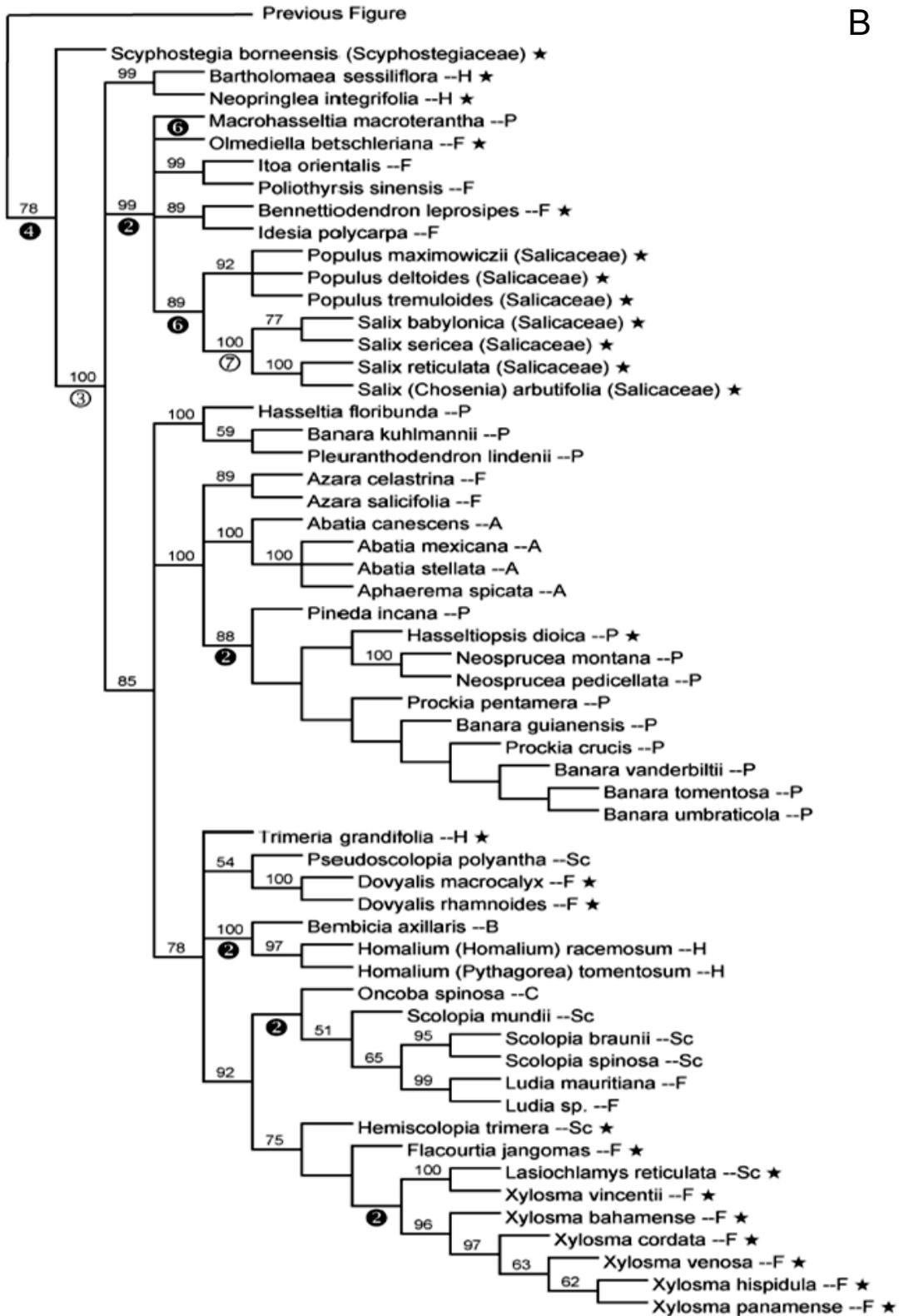
## Antecedentes

### Taxonomía

#### Orden Malpighiales

Es un orden monofilético que se originó a mediados del cretácico, cuenta con 42 familias y 16000, especies aproximadamente (Wurdack y Davis, 2009), dentro de este grupo se encuentra la familia Salicaceae (APGIII 2009); previamente fusionada en una familia parafilética Flacourtiaceae (Fig. 1; Alford, 2004); ampliamente distribuida (Fig. 2), con un aproximado de 350 especies (Simpson, 2006).





**Figura 1.** Cladograma Flacourtiaceae A) Grupos externos y parte basal del árbol filogenético. B) Continuación, grupos más derivados del árbol filogenético. (Basado en Caracteres morfológicos, *trnL-F* y final 3' de *ndhF*) Estrellas indican taxos dioicos. Tribus A= Abatieae, B= Bembicieae, F=Flacourtieae, H=Homalieae, P=Prockieae, Sm= Samideae y Sc=Sopieae; C=Flacourtiaceae cianogénicas. Tomado de Alford, 2005.

## Familia Salicaceae

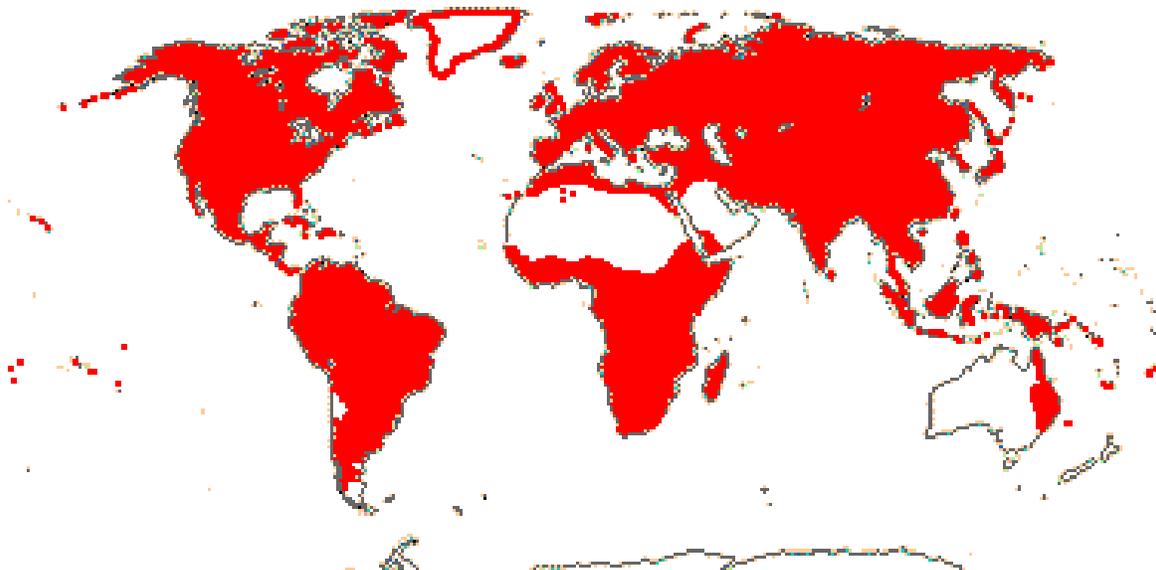
### Características taxonómicas

En esta familia se encuentran arbustos y árboles dioicos perennes (Leskinen y Alström-Rapaport, 1999; Glimn-Lacy y Kauffman, 2006; Spears, 2006) y pueden ser tanto anemófilas como entomófilas (Glimn-Lacy y Kauffman, 2006; Simpson 2006; Spears, 2006). De manera general, los elementos del vaso exhiben placas de perforación simples o escalariformes; pecíolos arqueados o anulares, con alas abultadas; filotaxia espiralada u opuesta; lámina de la hoja vernada curvada-supervoluta o involuta, venación palmada y estipulas presentes. Así mismo posee inflorescencias variables, flores inconspicuas, unisexuales y/o bisexuales, aclamídeas, trímeras o hexámeras, cuando se presentan sépalos y pétalos se encuentran en un arreglo alterno, acompañadas de brácteas y reunidas en amentos péndulos, racimos o cimas, nectarios extraestaminales, regularmente con glándulas o lóbulos; anteras extrorsas, lineares, en especies entomófilas de color amarillo intenso y de colores más apagados en la anemófilas o de color rojizo como en los amentos del género *Populus*; estilos separados o fusionados; frutos en cápsulas (Glimn-Lacy y Kauffman 2006; Spears 2006; Stevens, 2012; Ayala y Solano, 2011).

### Características embriológicas

Los estudios realizados en la familia Salicaceae pertenecen generalmente a los géneros *Populus* y *Salix*, por lo que de manera general, la familia posee gineceos uniloculares, 2 a 4 carpelos con placentación parietal o casi basal, a veces

profundamente intrusiva (Fonseca, 1997; Ayala y Solano, 2011); óvulos numerosos, ortótopos o anátropos crassinucelados, uni- o bitégmicos, en el último caso, los tegumentos externos e internos son de 2 a 5 células de grosor, el micrópilo es bistomal en zig-zag, con un funículo corto (Johri, Ambegaokar, y Srivastava, 1992; Stevens, 2012). El saco embrionario es de tipo Polygonum, y la célula madre de la megaspora del extremo calazal es la funcional, las sinérgidas y las antípodas persisten hasta la fecundación de tipo porógamo, así mismo posee un endospermo nuclear (Johri, Ambegaokar, y Srivastava, 1992). En el caso del androceo se ha reportado un tapete de tipo secretor, con las siguientes capas celulares: epidermis, endotecio fibroso, capas medias efímeras y un tapete glandular, de células binucleadas (Johri, Ambegaokar, y Srivastava, 1992). El polen es granuloso, de tipo inaperturado o tricolpado y liberado en estado bicelular (Johri, Ambegaokar, y Srivastava, 1992; Nuñez y Ludlow-Wieehers, 1998).



**Figura 2.** Distribución de Salicaceae. Tomado de Stevens, 2012.

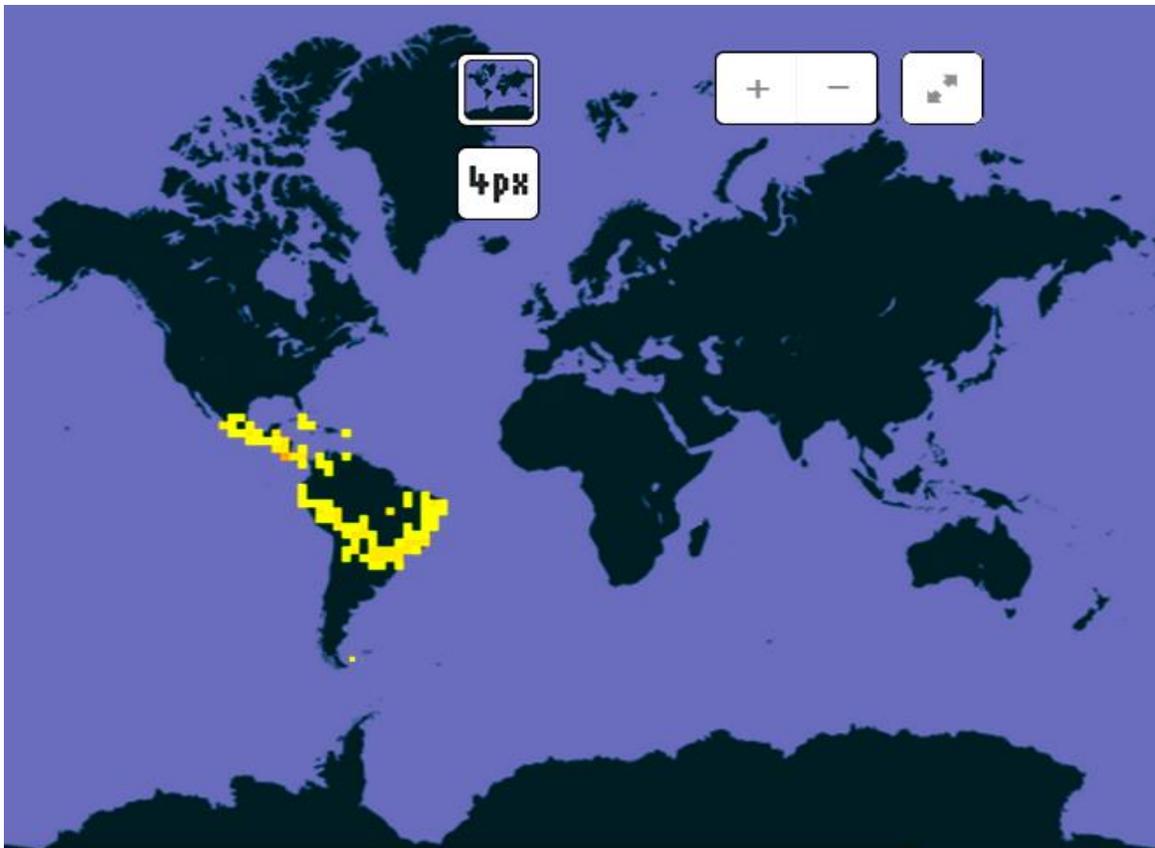
## División en tribus

En años más recientes se ha propuesto una división tribal de la familia Salicaceae (Chase *et al.*, 2002 en Stevens, 2012), en 8 tribus Abatieae, Bembicieae, Prockieae (inc. Banareae), Oncobeae (Oncoba unicamente), Homalieae, Saliceae, Samydeae (Caseariae), Scolopieae, y Scyphostegieae; donde la tribu Prockieae contendría al género *Prockia*, entre otros. No obstante, debido al origen artificial de la familia aún existen debates sobre el número de tribus y los géneros que las componen.

## Género Prockia

El género *Prockia* se integra por siete especies *P. crucis* P. Brown ex. L., *P. flava* H. Karst, *P. pentamera* A. H. Gentry, *P. costaricensis* Standl. (The Plant List, 2013), *P. oaxacana* J. Jiménez Ram. *et* R. Cruz D., *P. krusei* J. Jiménez Ram. *et* R. Cruz D. (Jiménez-Ramírez, Cruz-Durán, y Vega-Flores, 2008; Jiménez-Ramírez y Cruz-Durán, 2005) y *P. jaliscana* una nueva especie del estado de Jalisco (datos no publicados Jiménez-Ramírez y Cruz-Durán, 2015) distribuidas en México, Centroamérica y Sudamérica (Fig. 3; GBIF, 2015; Gilg, 1960; Jiménez-Ramírez y Cruz-Durán, 2005), se distingue por las siguientes características: inflorescencias racemosas, con flores morfológicamente hermafroditas; perianto no acrescente; pétalos ausentes o reducidos; sépalos generalmente persistentes; ovario con 3 a 6 lóculos, placentación axilar; hojas alternas, glabras o pubescentes, glándulas presentes en la base de las hojas o el peciolo, estípulas grandes y dentadas (Jiménez-Ramírez, Cruz-Durán, y Vega-Flores, 2008; Jiménez-Ramírez y Cruz-

Durán 2005; Thadeo *et al.*, 2008). En *P. krusei* hay dos morfos: el masculino y el hermafrodita. El gineceo del morfo masculino se encuentra poco desarrollado, con un estigma unilobulado y las papilas colapsadas, un estilo sólido, parenquimatoso, sin tejido de transmisión y óvulos detenidos en la etapa de formación de los tegumentos, sin saco embrionario. El morfo hermafrodita presenta un estigma trilobulado, un estilo sólido, bien formado con tejido de transmisión y óvulos grandes, bitégmicos, campilótopos con un saco embrionario tipo *Polygonum*. Ambos morfos poseen tres placentas basales de tipo intrusivo (Vázquez-Barrón, 2013).



**Figura 2.** Distribución del género *Prockia* en América. Tomado de Global Biodiversity Information Facility, 2015.

*Prockia oaxacana* J. Jiménez Ram. et R. Cruz D.

Se sugiere que *P. oaxacana* es poligamodioica (Jiménez-Ramírez , Cruz-Durán, y Vega-Flores, 2008), ya que algunos individuos tienen flores estaminadas y algunas pistiladas, en cambio otros individuos poseen solamente flores pistiladas (Fig. 3).

Las flores masculinas tienen sépalos verdes y pétalos verde-amarillentos, que a lo largo de su vida permanecen del mismo tamaño y color, así mismo, presentan un receptáculo piloso y un gran número de anteras redondeadas con dehiscencia longitudinal, cargadas de polen con contenido celular, en contraste, las flores femeninas cuentan con numerosas anteras redondeadas de dehiscencia lineal; sin embargo, el polen es deforme y estéril, puesto que no se observa contenido celular. Estas flores femeninas poseen receptáculo piloso, ovario unilocular con placentación parietal (que en el fruto es ligera e irregularmente intrusiva), los sépalos son verdes, los pétalos verde-amarillentos, cabe resaltar que ambos verticilos son acrescentes y envuelven al pistilo durante su transformación en fruto maduro; momento en el que se vuelven a abrir dejando expuesta a la baya de color oscuro, durante este lapso el perianto cambió gradualmente su color original hasta llegar a la madurez del fruto, con un rojo encendido. (Jiménez-Ramírez , Cruz-Durán, y Vega-Flores, 2008).

*Sistemas reproductivos*

Los sistemas sexuales (Tabla 1) se pueden clasificar en dos grandes grupos: primero poblaciones que presentan monomorfismo de género, donde muestran

una variación continua de las contribuciones genéticas relativas que las plantas hacen a la siguiente generación, como progenitores femeninos y masculinos; dentro de esta se pueden incluir a las poblaciones donde cada individuo incluye genéticamente ambos sexos (cosexuales), hermafroditas, monoicas, etc.; y segundo, poblaciones que presentan dimorfismo de género, que manifiestan, como el mismo nombre lo dice, bimodalidad en género, ya que se componen de dos diferentes morfos sexuales, que funcionan principalmente como progenitores femeninos o masculinos, cabe resaltar que en esta categoría se suelen incluir sistemas polimórficos (trisexuales). La bimodalidad en género, por ejemplo, en poblaciones ginodioicas y androdioicas surge porque el morfo hermafrodita funciona como progenitor femenino o masculino, según la población, puesto que en el dioicismo cada uno actúa según el sexo predeterminado (Geber, Dawson, y Delph, 1999; Barrett 2002).

Ahora bien, la evolución de los sistemas sexuales es un tema extenso y complejo, ya que las plantas poseen una enorme diversidad de sistemas reproductivos, siendo las angiospermas las que exhiben la mayor diversidad de estos (Bawa y Beach 1981; Barret, 2002), muchos de estos sistemas están moldeados por la tendencia a evitar la autocruza, la asignación de recursos y su ambiente ecológico (Bawa y Beach, 1981), ejemplo de estos son los mecanismos de autoincompatibilidad, la hercogamia (separación de los sexos en espacio), dicogamia (separación de los sexos en tiempo) y el dioicismo, por mencionar algunos (Geber, Dawson, y Delph, 1999; Barrett 2002;).

**Tabla 1.** Sistemas sexuales presentes en angiospermas (Modificado de Geber *et al*, 1999)

| Monomórficos          |  | Dimórficos y Polimórficos                |   |
|-----------------------|--|--|---|
| Nombre                | Descripción  | Nombre                                   | Descripción   |
| Hermafrodita (H)      | Población de plantas únicamente con flores perfectas.  | Dioico (F) (M)                           | Población de plantas con individuos de flores estaminadas e individuos de flores pistiladas.  |
| Monoico (M,F)         | Población de plantas con individuos de flores estaminadas y flores pistiladas.                   | Androdioico (M) (H)                      | Población de plantas con individuos de flores estaminadas e individuos de flores perfectas.   |
| Andromonoico (H,M)    | Población de plantas con individuos de flores perfectas y flores estaminadas.                    | Ginodioico (F) (H)                       | Población de plantas con individuos de flores pistiladas e individuos de flores perfectas.  |
| Ginomonoico (H,F)     | Población de plantas con individuos de flores perfectas y flores pistiladas.                     | Trioico (F) (M) (H)                      | Población de plantas con individuos de flores estaminadas, individuos de flores pistiladas e individuos de flores perfectas. Los tres sexos tienen la misma frecuencia.     |
| Poligamonoico (H,M,F) | Población de plantas con individuos de flores perfectas, flores estaminadas y flores pistiladas. | Dioicismo críptico (F) (M)               | Población de plantas con individuos de flores funcionalmente femeninas e individuos de flores funcionalmente masculinas, sin embargo morfológicamente son hermafroditas.    |
|                       |  | Poligamodioico (F,H) (M,H)               | Población de plantas con individuos de flores estaminadas y flores perfectas e individuos de flores pistiladas y flores perfectas.  |
|                       |  | Paradioico (F, algunas M) (M, algunas F) | Población de plantas con individuos de flores estaminadas con algunas pistiladas e individuos de flores pistiladas con algunas estaminadas.                                 |
|                       |  | Subdioico (F) (M) (H con F y/o M)        | Población de plantas con individuos de flores estaminadas, individuos de flores pistiladas y algunos individuos de flores perfectas, combinadas con flores de un solo sexo. |

Resulta de interés para el presente trabajo, la evolución de los sexos separados (dioicismo), para los cuales se han propuesto diversos orígenes, desde el hermafroditismo hasta el monoicismo (Barrett y Hough, 2013; Barrett, 1998, 2002; Dorken y Barrett, 2004; Geber, Dawson, y Delph, 1999).

#### Evolución de los sistemas dimórficos y su estabilidad

Se sugiere que entre los sistemas dimórficos se encuentran las especies dioicas y aquellas que se dirigen a un dioicismo estable, el sistema más común es el ginodioicismo (Barrett, 1998, 2002; Charlesworth, 1984, 2006; Geber, Dawson, y Delph, 1999; Lloyd, 1975). También se incluyen en esta categoría al androdioicismo, paradioicismo, poligamodioicismo y subdioicismo (Geber et al. 1999). No obstante, el androdioicismo (Lloyd, 1975; Charlesworth, 1984) y ginodioicismo (Charlesworth, 1984; Maurice *et al.*, 1993) pueden llegar a ser sistemas estables, que no necesariamente se dirigen al dioicismo; ahora bien, en el dioicismo críptico, si bien ya hay dos sexos funcionales se ha encontrado que tiende a ser inestable, de tal manera que eventualmente desemboca en un dioicismo, no solo funcional, sino también morfológico (Geber, Dawson, y Delph, 1999). Para el subdioicismo, paradioicismo y poligamodioicismo no se han reportado modelos donde se analice si son estrategias que se pueden mantener estables, tanto ecológica como evolutivamente hablando.

La evolución del dioicismo se propone a partir de un individuo hermafrodita, donde el ginodioicismo es el estado intermedio más común, ya que tuvo que ocurrir una

mutación de esterilidad masculina (generalmente citoplasmática), seguida de una mutación de esterilidad femenina (Barrett, 1998, 2002; Charlesworth, 1984, 2006; Delph y Wolf 2005; Dorken y Barrett, 2004; Maurice *et al.*, 1993), así mismo, se ha encontrado en años recientes que su evolución, a partir del monoicismo también es bastante común, mediante una selección disruptiva de las funciones sexuales, donde el paradioicismo es un estado intermedio entre ambos estadios (monoico-dioico; (Barrett, 2002; Dorken y Barrett, 2004; Geber, Dawson, y Delph, 1999 1999), incluso se ha encontrado que ha surgido a partir de especies distílicas por una especialización de los morfos de estilo corto y estilo largo; sin embargo, poco se sabe de los factores genéticos que originaron dicha condición (Barrett 2002; Geber, Dawson, y Delph, 1999).

Pese a la gran cantidad de trabajos que se han realizado sobre los sistemas sexuales de angiospermas, aún no se ha encontrado una razón concreta por la cual el dimorfismo sexual surja (más que nada dioicismo), aunque es una convergencia que se ha presentado en varios géneros de distintas familias, únicamente en el 6% de las angiospermas se encuentra tal separación de los sexos (Barrett y Hough, 2013; Barrett, 2002), si bien la idea que más ha permeado es que el dimorfismo sexual surgió, con el fin de evitar la autocruza, no es razón suficiente que explique tal diversidad o la existencia de más de un mecanismo (P.e. distilia) en una misma especie, por lo que también se ha manejado, que la asignación de recursos para actuar como progenitor masculino o femenino ha influido; asimismo se ha enfatizado la importancia de la historia de vida y el

entorno ecológico de los individuos (Barrett y Hough, 2013; Barrett, 1998; Bawa y Beach 1981; Charlesworth, 2006; Geber, Dawson, y Delph, 1999), ya que al haber dimorfismo sexual, independientemente del sistema particular, se ha encontrado que afecta muchos aspectos del individuo, de tipo fisiológico, de resistencia a estrés, resistencia a herbivoría y otras afecciones, etc. (Geber, 1995), por ejemplo, se vio que en lugares áridos los individuos femeninos se encuentran en sitios un poco más húmedos o bien poseen hojas más grandes, probablemente almacenando agua para la producción de frutos (Geber, 1995; Sakai, Sasa, y Sakai, 2006), incluso los individuos masculinos y femeninos varían en cuestiones como la fragancia. En algunas Salicaceae, más que nada las pertenecientes al género *Salix*, se ha encontrado que los compuestos químicos de la fragancia de los individuos femeninos son diferentes de aquellos de los individuos masculinos, con el fin de favorecer la visita de polinizadores entre ambos sexos (Tollsten y Knudsen, 1992). Los factores anteriormente mencionados no implican que la depresión por endogamia (disminuida al evitar la autocruza) no sea un factor importante que moldee la evolución sexual en las plantas, sobre todo se ha visto en especies con dioicismo críptico, ya que la diferencia de sexos reside principalmente en la funcionalidad de los gametos, como en el dimorfismo del tamaño y forma del polen (Penny y Steven 2009).

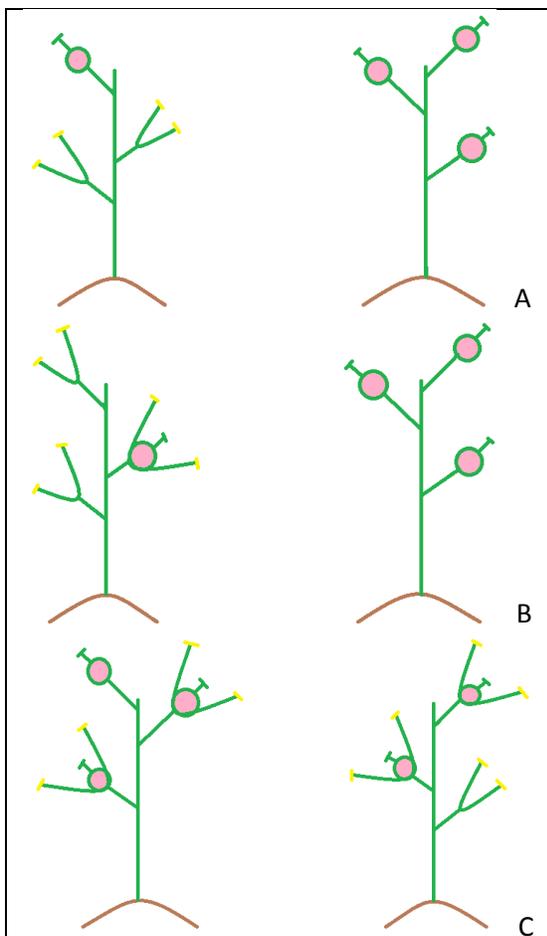
Otro aspecto importante es el genético, ya que se ha encontrado en sistemas dimórficos con determinación cromosómica del sexo, que evolucionaron a partir de un ancestro hermafrodita sin cromosomas sexuales (Yin *et al.*, 2008), por lo que

los cromosomas sexuales provienen de autosomas. En el caso de la familia Salicaceae se ha encontrado, en el género *Salix*, un modelo multilocus de determinación del sexo (Alström-Rapaport *et al.*, 1998), mientras en *Populus* presenta cromosomas sexuales incipientes del tipo ZW (Yin *et al.*, 2008), de modo que cualquier mutación que surja y aumente la adecuación de la especie se fijará (Charlesworth, 2006); por ejemplo, en una población sometida a depresión por endogamia, donde surge una mutación heredable de esterilidad para algún sexo, aumentará la adecuación de los individuos, así los genes que influyen a la reproducción, gobiernan su propia transmisión y la de todos los demás genes, por lo que, los cambios en el patrón de entrecruza tiene profundas implicaciones en los patrones de especiación y diversificación evolutiva (Barrett, 1998), si a esto se suma que los polinizadores son sensibles a estos cambios y son los encargados de mover el polen y por lo tanto dirigir parte del flujo génico de entrecruza, se tiene que los procesos microevolutivos influyen los procesos macroevolutivos, haciendo más compleja la forma en que los sistemas sexuales cambian (Barrett, 1998; Bawa y Beach, 1981; Charlesworth, 2006).

### Poligamodioicismo

El poligamodioicismo es un sistema complejo, que no es común ni muy estudiado, por lo mismo su definición no se encuentra estandarizada; no obstante, implica que hay flores de distinto sexo, pistiladas, estaminadas y hermafroditas (Machado *et al.*, 2006) distribuidas en diferentes individuos; la forma cómo se presentan en los individuos varía según la definición usada. Son tres las definiciones más

utilizadas: la primera propone que algunos individuos poseen flores estaminadas y algunas flores pistiladas, mientras que los otros individuos de la población cuentan sólo con sólo flores pistiladas (Fig. 4A) (Jiménez-Ramírez, Cruz-Durán y Vega-Flores, 2008); la segunda algunos individuos poseen flores estaminadas y flores hermafroditas, mientras que los otros individuos de la población cuentan sólo con flores pistiladas (Fig. 4B) (Hammel y Cornejo 2009); y la tercera dice que unos individuos son hermafroditas con flores pistiladas, mientras que los otros individuos son hermafroditas con flores estaminadas (Fig. 4C) (Geber, Dawson, y Delph, 1999; Valencia-Ávalos et al. 2011).



**Figura 4.** Esquemas de las diferentes definiciones de poligamodioicismo. A) Definición 1. B) Definición 2. C) Definición 3.

Si bien la definición es poco clara, es evidente que este sistema es un estado cercano al dioicismo, donde unos individuos actúan como progenitores masculinos y otros como progenitores femeninos (Barret, 2002), de acuerdo con las dos primeras definiciones los individuos de flores estaminadas y pistiladas o los hermafroditas con flores estaminadas les queda la función de progenitor masculino y a los segundos (de flores pistiladas) de progenitores femeninos, con la tercera definición sucede un caso muy similar, según el tipo de flores unisexuales que

contengan, van a cargar para un lado u otro la función de cada individuo, aquellos con flores hermafroditas y estaminadas fungirán como progenitores masculinos, mientras que los de flores hermafroditas y pistiladas ejercerán de progenitores femeninos, por lo que si se habla de género efectivo, vendría siendo un sistema prácticamente dioico (Lloyd, 1980). En algunos casos se ha reportado incluso que las flores se comportan de manera distinta, es decir morfológicamente son iguales; no obstante, el comportamiento inmediato posterior a la antesis varía, puesto que las anteras se pueden secar, aun habiendo completado su desarrollo, justo antes de abrir, por lo que son funcionalmente femeninas (Borchsenius, 1997), otras diferencias morfológicas más comunes, puede ser el producir un menor número de carpelos por lo que se vuelven funcionalmente masculinas, o bien una reducción del gineceo, volviéndose flores masculinas, por los comportamientos y variaciones morfológicas anteriormente mencionadas es posible encontrar frutos en inflorescencias masculinas (Geber, Dawson, y Delph, 1999).

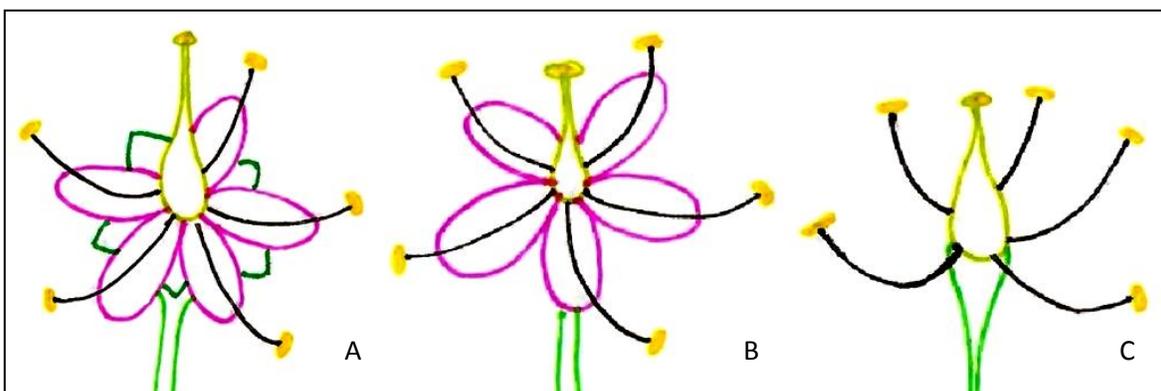
En cuanto a su evolución es poco lo que se puede decir, sin embargo se cree que este sistema y otros afines (como subdioicismo, dioicismo críptico, etc.), provienen del ginodioicismo, donde se propaga una mutación de esterilidad masculina (Delph y Wolf, 2005), o bien, dado que se dirige al dioicismo (Burke *et al.*, 2010) proviene directamente de un ancestro hermafrodita, de tal manera que los sexos de los individuos no se puede definir fácilmente solo por sus órganos florales, por lo que al igual que sucede en el dioicismo, se disemina una mutación de esterilidad de alguno de los sexos, como escape en una población sujeta a depresión por

endogamia (Manabe, 1996), así mismo se ha propuesto que en zonas de hibridación de plantas del mismo género, donde unas son dioicas y otras hermafroditas, pueden generar una subpoblación poligamodioica (Killeen y Ruologo, 1992), aunque en realidad no se sabe a ciencia cierta qué camino evolutivo han seguido.

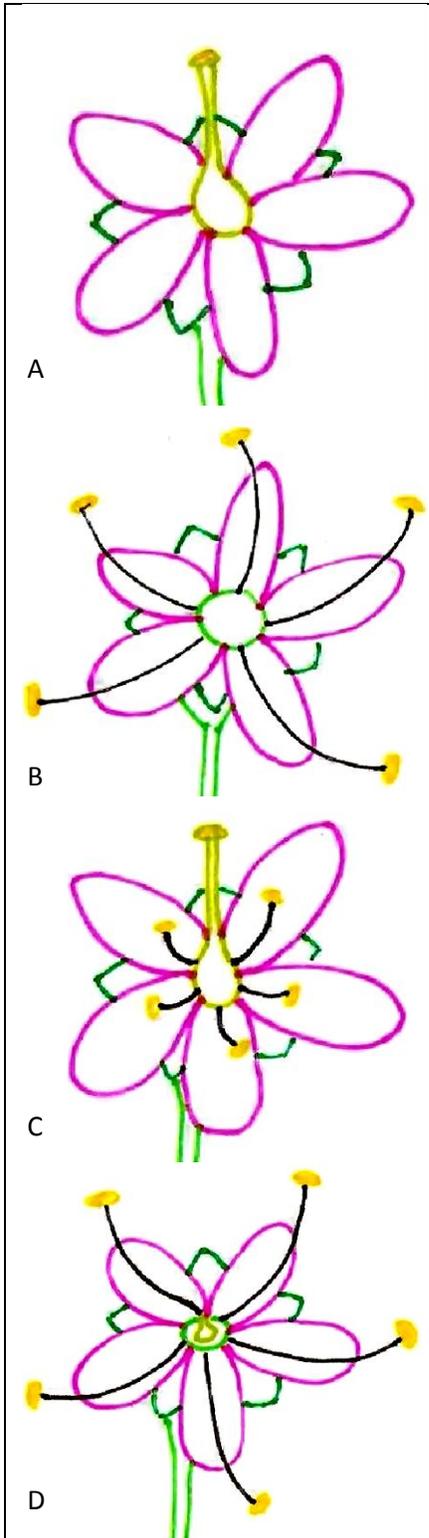
### *La flor*

La flor es la estructura reproductiva característica de las angiospermas, no obstante aún no hay una definición consensuada sobre esta estructura, la más aceptada actualmente es aquella que considera a la flor como un tallo con crecimiento limitado de entrenudos cortos, los nudos presentes en dicho tallo portan hojas modificadas, condensadas en el receptáculo de la flor, dando origen a los verticilos florales. Una flor típica se considera que posee cuatro verticilos (se presentan en el orden en que se mencionan), dos estériles: cáliz, conformado por los sépalos y corola, integrada por los pétalos, ambos conforman el perianto, y dos fértiles o reproductivos: androceo, conformado por los estambres y el central que es el gineceo, conformado por carpelos. El orden en que se presentan estos verticilos es un carácter sumamente conservado a lo largo del reino, no obstante hay excepciones como es el caso de algunas especies de la familia Triuridaceae, así mismo, los verticilos pueden variar, es decir pueden estar presentes o no, o bien encontrarse sinorganizados, dependiendo de cómo sea la siorganización es el nombre que recibe: cuando hay fusión entre los elementos de un mismo verticilo se dice que hay connación, y adnación cuando hay unión de verticilos distintos. En

el caso de la presencia o ausencia de los verticilos se dice que una flor completa es aquella que presenta los cuatro verticilos, flor incompleta es aquella que carece de algún verticilo sexual o vegetativo, en este caso se llama flor aclamídea o desnuda, aquella que no presenta perianto, flor perfecta la que presenta los dos verticilos sexuales, independientemente del estado del perianto (Fig. 5) y flor imperfecta es aquella que independientemente del estado del perianto presenta un solo verticilo sexual (Márquez *et al.*, 2013; Valencia-Ávalos *et al.*, 2011; Valencia-Ávalos, 2014). Este último caso puede resultar un poco confuso al hablar de flores unisexuales, ya que cuando éstas se mencionan se implica que solo poseen un solo sexo funcional; sin embargo, no toda flor unisexual es una flor imperfecta, pues este tipo específico de flor carece de alguno de los dos verticilos sexuales, mientras que las flores unisexuales que no caen en esta categoría pueden presentar ambos verticilos reproductivos pero sólo uno de ellos es realmente funcional (Fig. 6).



**Figura 5.** Estados de la flor. A) Flor completa y perfecta. B) Flor incompleta y perfecta. C) Flor aclamídea o desnuda y perfecta.



**Figura 6.** Flores unisexuales.

A-B) flores unisexuales imperfectas.

C-D) Flores unisexuales perfectas.

En flores unisexuales, cuando presentan ambos verticilos: androceo y gineceo, es común que el verticilo reproductivo no funcional se encuentre en un estado atrófico; en especies dimórficas este estado se le llama dioicismo críptico y la presencia de tales verticilos inconspicuos se ha utilizado para inferir un ancestro hermafrodita. Incluso este dimorfismo se llega a presentar en los verticilos vegetativos, se ha observado que hay dimorfismo de tamaño o forma del perianto en algunos taxa dioicos, por ejemplo las flores femeninas de *Jacaratia dolichaula* (Caricaceae) poseen corolas polipétalas y las masculinas poseen corolas tubulares.

Otro ejemplo son las flores femeninas y masculinas de *Catasetum* (Orchidaceae), donde la morfología del perianto es completamente diferente entre una y otra flor, así mismo se ha registrado variación en otros caracteres sexuales secundarios como el néctar, longevidad de la flor, etc. Cuestiones que se piensa están estrechamente relacionadas con aspectos de la evolución floral y selección sexual (Geber, Dawson, y Delph, 1999).

## El gineceo

El gineceo es el verticilo reproductivo femenino de la flor, generalmente localizado en la parte más elevada del receptáculo, básicamente se encuentra conformado por una megasporófila enrollada que contiene uno o más óvulos, estructura que recibe el nombre de carpelo, el número de éstos puede ser de uno o más, si los carpelos se encuentran separados es un gineceo apocárpico, mientras que si están fusionados es un gineceo sincárpico, el modo en que se fusionan determina el número de lóculos e influye en muchos casos en el tipo de placentación. Las partes constitutivas del gineceo son tres: estigma (superior), estilo (medio) y ovario (inferior); sin embargo, en algunas flores el estilo es prácticamente inexistente (Stern, 2006; Keseler y Harley, 2011; Mauseth, 2011; Evert y Eichhorn, 2013).

## Estigma

Es la zona apical del gineceo, receptora de los granos de polen, cuya morfología es muy variable entre especies, consiste de una superficie especializada de células conectadas con el tejido del estilo, tiene la función de recibir los granos de polen y permitir su germinación, así mismo puede proveer nutrientes y dirigir el crecimiento del tubo polínico; en el primer caso, cuando se presenta exudado estigmático la cantidad y composición química varía de especie a especie, pero generalmente consta de lípidos, compuestos fenólicos, carbohidratos, aminoácidos y proteínas, útiles en la recepción, reconocimiento y germinación del polen. La superficie estigmática, ya sea húmeda o seca, debe presentar condiciones fisiológicas correctas para que pueda ocurrir la germinación del polen,

de otro modo cualquier cambio sutil podría retrasar la germinación o inhibirla completamente; el estigma es tan importante, que incluso sin ser polinizado tiene funciones reguladoras en la flor (Guillaume, 2004; Johri, 1984; Márquez *et al.*, 2013; Mauseth, 2011; Raghavan, 1997).

### Estilo

El estilo es la zona comprendida entre el ovario y el estigma (Valencia-Ávalos, *et al.*, 2011), y coloca al estigma de tal manera que sea máxima la probabilidad de recibir polen, así mismo tiene la función de nutrir al tubo polínico y en muchos casos de reconocimiento (Sugden, s.f.), por lo que en sistemas dimórficos, la morfología de la flor es sumamente importante, puesto que tradicionalmente un estilo largo se asocia generalmente a los morfos hermafroditas, mientras que los estilos cortos a los morfos masculinos (Quesada-Aguilar, Kalisz, y Ashman, 2008), lo cual tiene sentido, ya que entre más largo sea un estilo, favorece la competencia entre los granos de polen (Ramesha *et al.*, 2011), así mismo evita la autocruza, y la saturación del estigma con polen cercano genéticamente (Barrett, Jesson, y Baker, 2000; Jia y Tan, 2012), incluso hay mecanismos perfectamente desarrollados para evitar la interferencia antera-estigma, distilia, tristila y enantiofilia (Barrett Jesson, y Baker, 2000). Ahora bien la hercogamia, también es un mecanismo que tiene el fin de evitar la interferencia antera-estigma (Barrett Jesson, y Baker, 2000; Jia y Tan 2012); no obstante, no posee mecanismos de incompatibilidad tan marcados como los mencionados anteriormente, otro punto es que no posee longitudes de estilo marcadas, es decir no tiene un número de

morfos perfectamente establecidos, como ocurre en la heterostilia (*pin* y *thrum*); sin embargo, es común encontrar un dimorfismo en la longitud del estilo, aunque también hay especies que llegan a presentar una variación continua o casi continua, y esto se ha observado que promueve de manera exitosa la entrecruza y evita la interferencia antera-estigma (Baker, 1964; Jia y Tan, 2012). Otro factor importante, que moldea el polimorfismo estilar, son los polinizadores, ya que la morfología floral moldea el tipo de polinizador que la visita, así como su eficiencia como vectores de polen, por lo que los cambios en los órganos primarios de la flor así como en los caracteres sexuales secundarios, alteran la relación planta-polinizador, de tal manera que hay una fuerte selección de los caracteres sexuales, lo que lleva a cambios morfológicos que pueden modificar las funciones de género de la flor (Quesada-Aguilar *et al.*, 2008).

### Ovario

Es una cavidad que contiene uno o más óvulos unidos a la placenta, el número de lóculos que posee generalmente está asociado al número de carpelos que lo conforman (Stern, 2006), así mismo el tipo de placentación (zona a la que se unen los óvulos) varía según el número de carpelos y el grupo de flores del que se hable, los tipos principales de placentación son: parietal, donde los óvulos están unidos en la pared del ovario o de extensiones del mismo; axilar, donde los óvulos se desarrollan en la parte central, donde los carpelos se unen; libre central donde los óvulos salen de una placenta central no conectada a las paredes del ovario; basal, donde como su nombre lo dice los óvulos se insertan en la parte basal del

ovario y finalmente apical, donde surgen de la parte superior del ovario (Guillaume, 2004; Evert y Eichhorn, 2013; Márquez *et al.*, 2013). Cabe resaltar que estos tipos de placentación pueden combinarse con otros criterios, como la posición de la placenta (Stevens, 2014).

### Óvulo

Los óvulos presentan diversas formas, son estructuras especializadas insertas en la placenta, donde se produce el megasporocito que dará lugar a las megasporas, que a su vez originarán al saco embrionario, donde se lleva a cabo la fertilización (Reiser y Fischer, 1993); los óvulos pueden encontrarse unidos a la placenta mediante un funículo o bien ser sésiles, así mismo, los haces vasculares se extienden desde la placenta pasando por el funículo hasta la calaza (Endress, 2011), de modo que el embrión pueda tener una fuente de alimentación durante su desarrollo.

Los óvulos se encuentran conformados de tres estructuras básicas: funículo, nucela y uno o dos tegumentos (Reiser y Fischer, 1993; Endress, 2011); el funículo es el tejido que conecta al óvulo con la placenta, la nucela representa el megasporangio, donde un megasporocito entra en meiosis, formando cuatro megasporas, donde comúnmente sólo una se desarrolla en un saco embrionario (Reiser y Fischer 1993; Endress, 2011); ahora bien, la forma en que ocurre la formación del saco embrionario, así como la orientación de la calaza respecto del micrópilo, definen gran cantidad de tipos de óvulos, por lo que se ha planteado

como un carácter de valor taxonómico (Endress, 2011), no obstante los tipos de óvulo más comunes son anátropos, ortótropos y campilótropos (Valencia-Ávalos *et al.*, 2011).

### Saco embrionario

Actualmente se han descrito un gran número de sacos embrionarios, no obstante, se pueden agrupar en tres categorías principales, basadas en el número de núcleos de megasporas involucradas en la formación del mismo. Sacos embrionarios monospóricos, se forman a partir de una sola megaspora; sacos embrionarios bispóricos se forman de un sola díada de la meiosis I, la otra díada nunca entra en meiosis II, y sacos embrionarios tetraspóricos, la tétrada de megasporas es cenocítica y los cuatro núcleos participan en el proceso (Márquez *et al.*, 2013). Ahora bien, el saco embrionario más común es el tipo Polygonum (monospórico), este saco embrionario se encuentra formado por siete células y ocho núcleos, en la parte calazal se ubican tres antípodas, en el extremo micropilar la ovocélula entre dos sinérgidas y en el centro los núcleos polares. La ovocélula, en el momento de ser fecundada, es la que dará origen al embrión, mientras que los núcleos polares al unirse con la otra célula espermática darán origen al endospermo triploide que sirve de material de reserva (Raghavan, 1986; Reiser y Fischer 1993; Endress, 2011).

## **Justificación**

*Prockia oaxacana* es una especie recientemente descubierta, la cual se reporta con un sistema sexual poligamodioico, observado raras veces en la naturaleza, debido a la dificultad para mantener el equilibrio de la población. Dada la baja ocurrencia de este sistema sexual se conoce muy poco de él, por lo que una investigación sobre las estructuras reproductoras de *P. oaxacana*, arrojará mayor comprensión sobre el poligamodioicismo.

## **Objetivo general**

- ◆ Describir la micromorfología y anatomía del gineceo de flores en antesis de los morfos presentes en *Prockia oaxacana*.

## **Objetivos particulares**

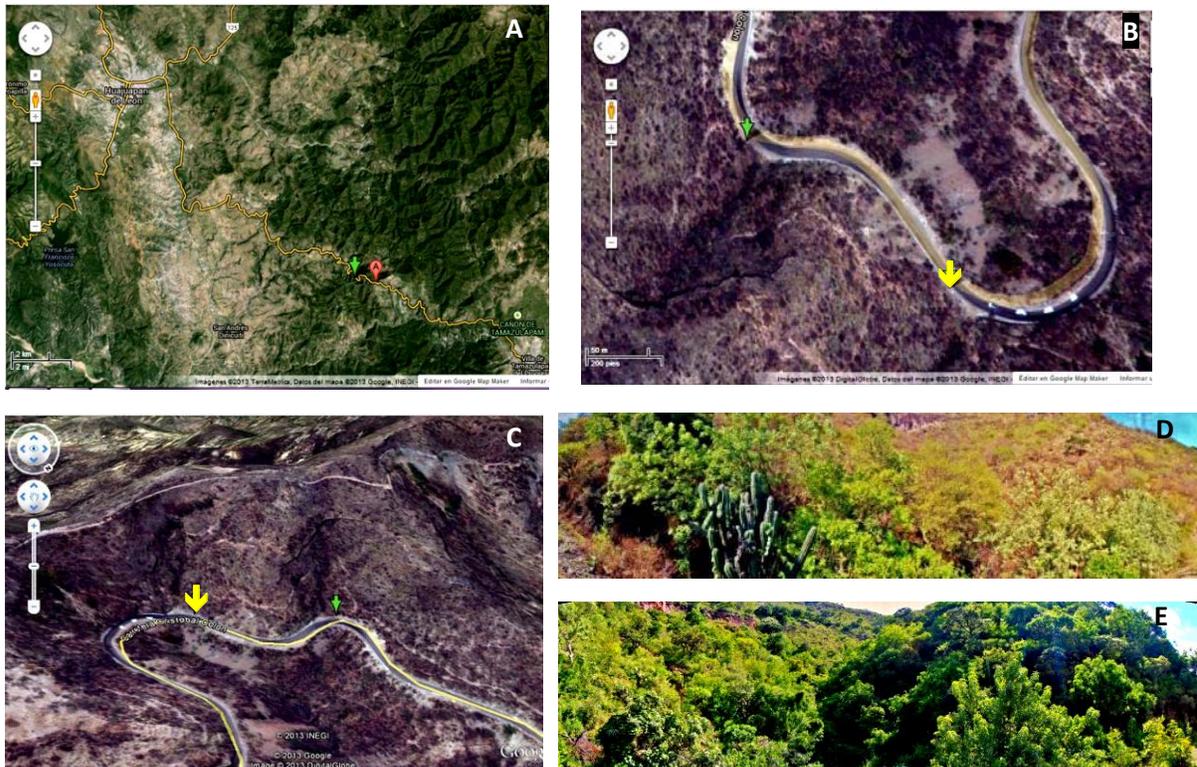
- ◆ Registrar la variación en longitud que presenta el gineceo en las flores de ambos morfos.
- ◆ Describir la micromorfología y anatomía del gineceo de las flores de ambos morfos.
- ◆ Determinar la micromorfología de los óvulos en ambos morfos.
- ◆ Determinar, mediante estudios anatómicos, la estructura de los óvulos en las flores de ambos morfos.

## **Material y métodos**

### *Sitio de colecta y trabajo en campo*

El sitio de colecta (Fig. 7A) se encuentra en el estado de Oaxaca, a pie de carretera, en el kilómetro 24.3 de la carretera Cristóbal Colón, en las coordenadas N17.71542 NW97.663448 (primera localidad; Figs. 7B, 7C y 7D) y en las coordenadas N 17.71434 NW97.66198 (segunda localidad; Figs. 7B, 7C y 7E), donde se realizaron varias visitas durante 2013 y 2014.

En 2013, fueron tres vistas, la primera a inicios de junio, la segunda a finales de junio y la tercera a inicios de agosto de 2013. En la primera visita sólo se encontró un individuo en floración, del cual se colectó material y se fijó en FAA (formaldehído, ácido acético glacial, alcohol etílico 96% y agua destilada, 1:5:0.5:3.5), Las flores de dicho individuo exhibían numerosas anteras y pistilos extremadamente cortos, por lo que se le consideró perteneciente al morfo masculino; en la segunda visita se encontró al mismo individuo en flor y a los demás individuos de ambas localidades con numerosos brotes de hojas pero sin flores; en la tercera visita se encontró a todos los individuos en flor (con una excepción, al cual no se pudo sexar), encontrándose al segundo morfo, al cual se le denominó hermafrodita dada la presencia de numerosas anteras y pistilos largos. Se realizó un marcaje sistemático de los individuos (Tablas 2 y 3) en ambas localidades, georeferenciando a cada uno, así mismo se colectó material de todos los individuos hermafroditas y de algunos masculinos, el cual se fijó en FAA para su posterior análisis en laboratorio. Además se observaron posibles polinizadores y aspectos como fragancia o néctar.



**Figura 7.** Localidades de estudio. A) Sitio de colecta a pie de carretera. B) Localidades de colecta, amarillo localidad 1, verde localidad 2. C) Localidades en relieve verde localidad 2, amarillo localidad 1. D) Localidad 1. E) Localidad 2

**Tabla 2.-** Sexado de individuos localidad 1.

| Localidad    | Número de individuo  | Morfos: Masculino (M)<br>Hermafrodita (H) | Flores (F), Frutos (Fr), Botones (B) |
|--------------|----------------------|---|--------------------------------------|
| 1            | 1                    | M   | F, B, Fr                             |
| 1            | 2                    | ?   | ?                                    |
| 1            | 3                    | H   | F,B,Fr                               |
| 1            | 4                    | M   | B, F                                 |
| 1            | 5                    | H   | F,B,Fr                               |
| 1            | 6                    | M   | F,B                                  |
| 1            | 7                    | H   | F,B,Fr                               |
| 1            | 8                    | M   | F,B                                  |
| 1            | 9                    | H   | F,B,Fr                               |
| 1            | 10                   | M   | F,B                                  |
| 1            | 11                   | H   | F,B,Fr                               |
| 1            | 12                   | H   | F,B,Fr                               |
| 1            | 13                   | H   | Fr                                   |
| 1            | 14                   | M   | F,B,Fr                               |
| 1            | 15                   | H   | Fr                                   |
| 1            | 16                   | H   | F,B,Fr                               |
| <b>Total</b> | <b>16 individuos</b> | <b>6M,9H</b>                              | <b>-</b>                             |

**Tabla 3.** Sexado de individuos localidad 2.

| Localidad      | Número de individuo | Morfos: Masculino (M)<br>Hermafrodita (H) | Flores (F), Frutos<br>(Fr), Botones (B) |
|----------------|---------------------|---|---|
| 2              | 1                   | M   | F,B                                     |
| 2              | 2                   | M   | F,B                                     |
| 2              | 3                   | M   | F,B                                     |
| 2              | 4                   | M   | F,B,Fr                                  |
| 2              | 5                   | H   | F,B,Fr                                  |
| 2              | 6                   | H   | F,B,Fr                                  |
| 2              | 7                   | H   | Fr                                      |
| 2              | 8                   | M   | F,B                                     |
| 2              | 9                   | H   | Fr                                      |
| 2              | 10                  | M   | F,B                                     |
| 2              | 11                  | H   | Fr                                      |
| 2              | 12                  | H   | Fr                                      |
| 2              | 13                  | H   | Fr                                      |
| <b>Total 2</b> | 13 individuos       | 6M,7H                                     | -                                       |

En el año 2014 se realizaron tres visitas, una a mediados de junio, la segunda a principios de julio y la última a inicios de agosto, en las dos primeras visitas no se encontraron individuos en flor, únicamente con brotes de hojas, en la tercera ocasión se encontraron individuos en fruto y muy pocas flores, así mismo se identificaron nuevos individuos, en ambas localidades, encontrándose 16 nuevos registros en la primera localidad y 3 registros nuevos en la segunda, no obstante no se pudo hacer un sexado sistemático de los individuos, pues no todos exhibían flores y/o frutos.

#### *Observaciones al microscopio estereoscópico y pruebas estadísticas*

En la colecta se observó que los gineceos de algunas flores de individuos hermafroditas no sobrepasaban las anteras, mientras que en otras la longitud del estilo evidentemente sobrepasaba la longitud de las anteras. Para descartar algún

tipo de heterostilia o hercogamia se midieron 94 gineceos de las flores hermafroditas de *P. oaxacana* en anthesis con un vernier digital (resolución 0.01 mm). Dado que en varios casos el estilo se encontraba doblado se tomó la media desde la base del ovario hasta el estigma tratando de estirar lo más posible el estilo. Así mismo se midió el diámetro de cada gineceo.

El conjunto de medidas obtenidas se procesó con el paquete estadístico SPSS Statistics 17.0, donde se realizó un histograma mediante la fórmula de Vellman para tener un estimado de las categorías presentes, con una longitud de 0.3 mm cada intervalo, obteniéndose 19 grupos, y se realizó la prueba de Kolmogorov-Smirnoff para comprobar la normalidad de los datos.

Posteriormente se corrió la prueba estadística de análisis de varianzas (ANOVA) y su análogo no paramétrico Kruskal-Wallis, utilizando las categorías obtenidas con la fórmula de Vellman para verificar si había variación entre una y otra, estadísticamente significativa. Del mismo modo se aplicó la prueba de Levene para comprobar el supuesto de homocedasticidad, y la prueba de Durbin Watson para probar el principio de independencia.

Así mismo se realizó la prueba de Tukey para determinar el número de grupos distintos que se forman estadísticamente. Posteriormente, las 12 categorías obtenidas se agruparon arbitrariamente en tres grupos: L=pistilos grandes, M=pistilos medianos y S=pistilos pequeños (Tabla 4).

Finalmente se realizó una regresión lineal para ver si existe una relación entre el diámetro del ovario y la longitud del gineceo, además de aplicar la prueba de

correlación de Pearson y la prueba Tau-b de Kendall para probar si hay correlación estadística significativa o no.

**Tabla 4.** Número de grupos conformados por 2 o 3 categorías estadísticas, utilizados para análisis estructural.

|                           | Grupo S | Grupo M | Grupo L |
|---------------------------|---------|---------|---------|
| Longitud del gineceo (mm) | 3.7-4.5 | 4.6-5.1 | 5.3-6.2 |

En el caso del morfo masculino también se observó variación en la longitud del ovario, sin embargo, debido a que su tamaño es de unos pocos milímetros (Son pistilos que miden menos de dos terceras partes de la longitud de los estambres) no fue posible medirlos con un vernier, ni obtener el número suficiente de medidas con escala en el fotomicroscopio que permitieran realizar un procedimiento estadístico similar al anteriormente descrito.

#### *Microtecnica*

Se seleccionaron 19 gineceos (flores en antesis) del morfo masculino y 24 del morfo hermafrodita (flores en antesis), este último con sus respectivos grupos: 8 para el L, 8 para el M y 8 para el S (Tabla 4) y se deshidrataron gradualmente en una serie alcohólica 30%, 50%, 70%, 85%, 96%, 100% y 100%, pasando una hora en cada alcohol.

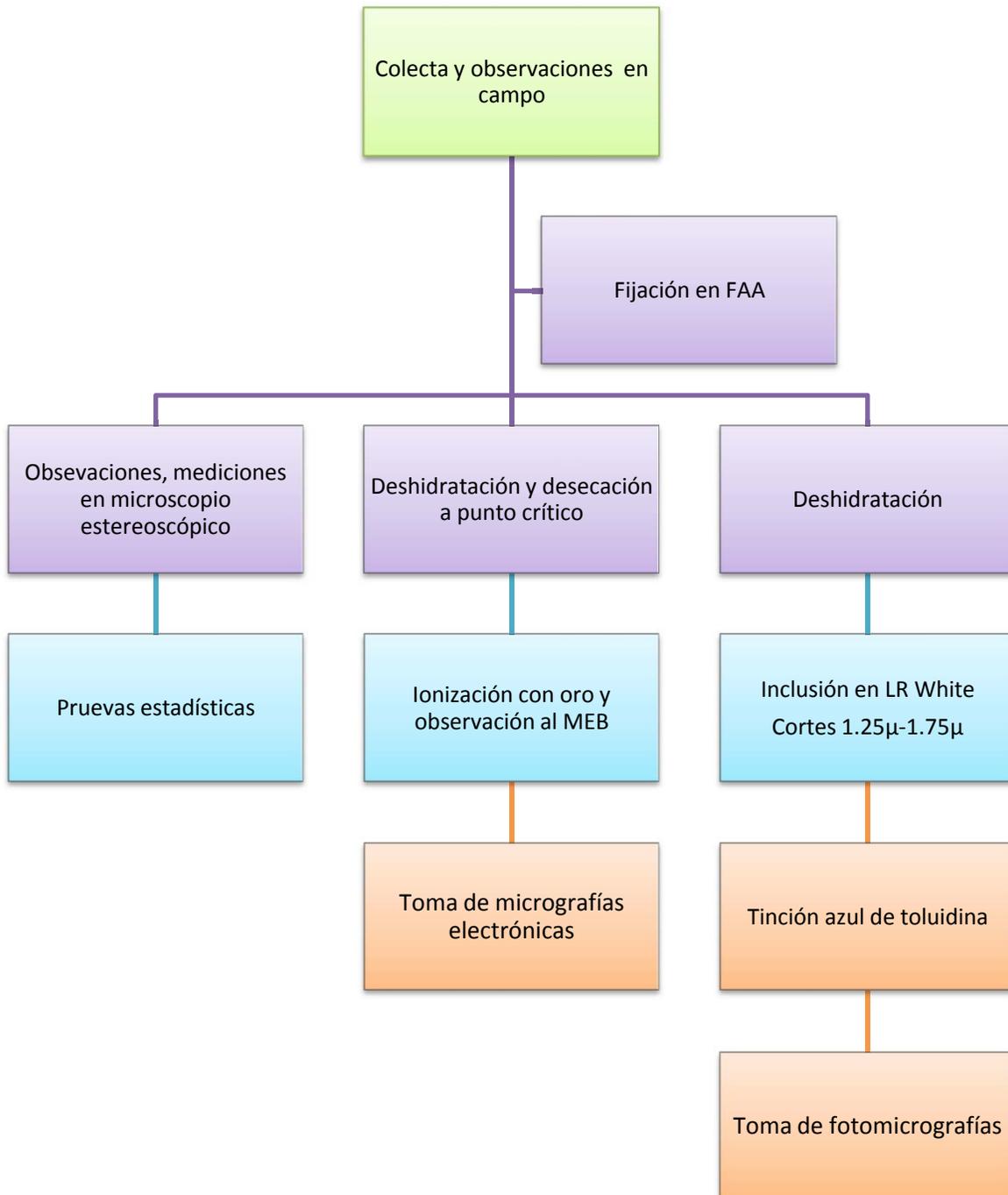
Posteriormente se infiltraron en una serie de LR-White-etanol absoluto 1:3, 1:1 y 3:1, una hora por cada proporción y 24 horas en LR-White puro. Una vez pasado este tiempo se seccionó en dos partes: ovario y el estilo-estigma incluyéndose por separado, en el caso del morfo hermafrodita, y en el caso del morfo masculino se incluyó completo el gineceo dejándose polimerizar en una incubadora a 56°C por 12 horas.

Se realizaron cortes longitudinales y transversales (de ovario y estilo-estigma) en el ultramicrotomo con navaja de vidrio a  $1.75\mu$  de grosor para el morfo hermafrodita y a  $1.25\mu$  para el morfo masculino. Finalmente se tomaron fotomicrografías en un fotomicroscopio de campo claro Olympus Provis AX70.

#### *Microscopia electrónica de barrido*

Se seleccionaron 17 gineceos del morfo masculino (flores en antesis) y 21 gineceos para el morfo hermafrodita (flores en antesis), 7 gineceos del grupo S, 7 del grupo M y 7 del grupo L. A 3 gineceos del morfo masculino y a 3 de cada categoría del morfo hermafrodita se les realizó un corte longitudinal, del mismo modo a otros 3 un corte transversal y los restantes se conservaron intactos. Se deshidrataron gradualmente en una serie alcohólica 30%, 50%, 70%, 85%, 96%, 100% y 100%, pasando una hora en cada alcohol.

Posteriormente, se desecaron a punto crítico con  $\text{CO}_2$ , se montaron en portamuestras de aluminio y se recubrieron con oro en una ionizadora de alta energía en bajo vacío. Una vez realizado esto se procedió a observar y tomar micrografías de las muestras en un microscopio electrónico de barrido de vacío variable (Jeol JSM-6360LV; métodos resumidos Fig. 8).



**Figura 8.** Diagrama de flujo de los métodos utilizados

## Resultados

### *Observaciones en campo*

Los dos morfos de *P. oaxacana*, hermafrodita y masculino, así denominados en esta investigación son fácilmente distinguibles, ya que las flores del morfo hermafrodita poseen gineceos conspicuos (Fig. 9A), independientemente si sobresalen de la altura de las anteras o no. Mientras que las del morfo masculino poseen gineceos sumamente pequeños, a tal grado que se pierden entre los filamentos de las anteras (Fig. 9B), tan grande es la diferencia de tamaños, que el gineceo del morfo masculino no supera los 2 mm, siendo que el del morfo hermafrodita llega a medir hasta 6.2 mm (Fig. 10A). Asimismo la presencia de frutos en el morfo hermafrodita es sumamente abundante, distinguiéndose por el color que toman los sépalos (Fig. 10B), no obstante, tres individuos masculinos presentaron una pequeña cantidad de frutos (100-150 frutos visibles entre 3000-5000 flores aproximadamente en todo el individuo; Fig. 10C), dos de la primera localidad (individuos 1 y 14 de la tabla 1) y uno de la segunda (individuo 4 de la tabla 1).

Se percibió una fuerte fragancia en ambos morfos, y un gran número de abejas alrededor de las flores, principalmente en los individuos del morfo masculino (Fig. 10D). Los árboles se distribuyen únicamente en la parte media y baja de la cañada. Aunque se buscaron individuos en las partes más altas de la cañada, no se encontraron. Cabe resaltar que los árboles de *P. oaxacana* son fácilmente distinguibles por su corteza exfoliante (Fig. 10E).



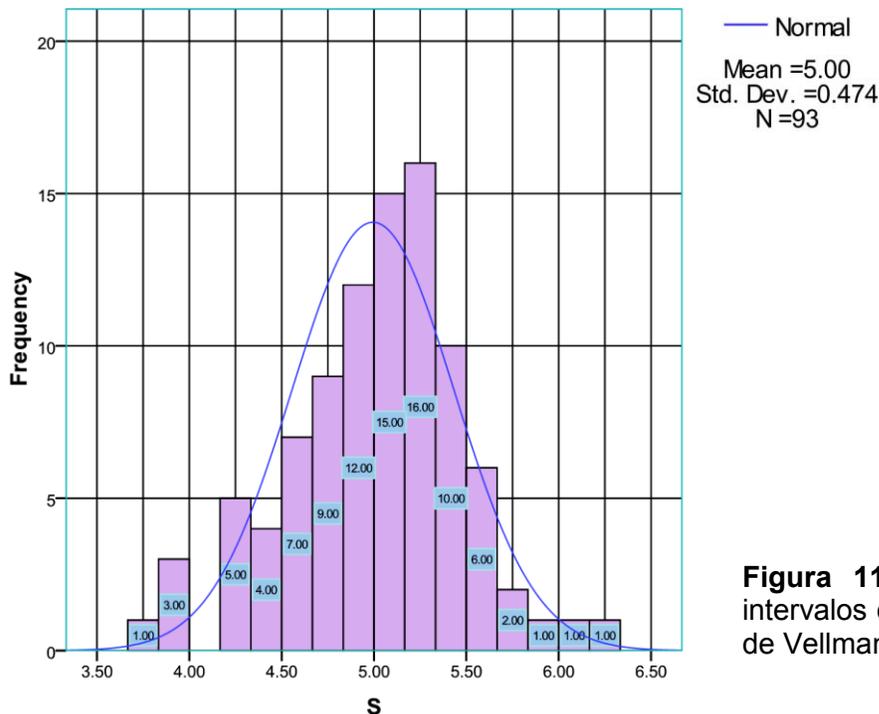
**Figura 9.** Flores de ambos morfos de *P. oaxacana*. A) Flores hermafroditas. B) Flores masculinas.



**Figura 10.** *P. oaxacana*. A) Comparativo de gineceos. B) Frutos morfo hermafrodita. C) Frutos visibles en el morfo masculino. D) Abeja en un individuo masculino. E) Corteza exfoliante.

### Observaciones al microscopio estereoscópico y pruebas estadísticas

La distribución de los datos es normal según la prueba de Kolmogorov-Smirnov ( $p=0.132$ ) y se forman 19 categorías distintas, según la fórmula de Vellman (Fig.11), el supuesto de independencia se cumple según la prueba de Durbin Watson con una  $p=0.745$ , no obstante, de acuerdo con la prueba de Levene no se cumple el principio de homocedasticidad con una  $p<0.05$ . Por lo que aunque la prueba de análisis de varianza ANOVA arrojó una significancia de  $p<0.05$ , es decir al menos una media es diferente, no es contundente, por lo que los datos fueron confirmados con su análogo no paramétrico Kruskal-Wallis, el cual mostró el mismo resultado, con una significancia  $p<0.05$  indicando que al menos una media es diferente, así mismo según la prueba de Tukey se forman 12 grupos diferentes (Tabla 5). De modo que *P. oaxacana* posee un continuo de longitudes del gineceo en el morfo hermafrodita (Fig. 12).



**Figura 11.** Histograma con 19 intervalos obtenidos de la fórmula de Vellman.



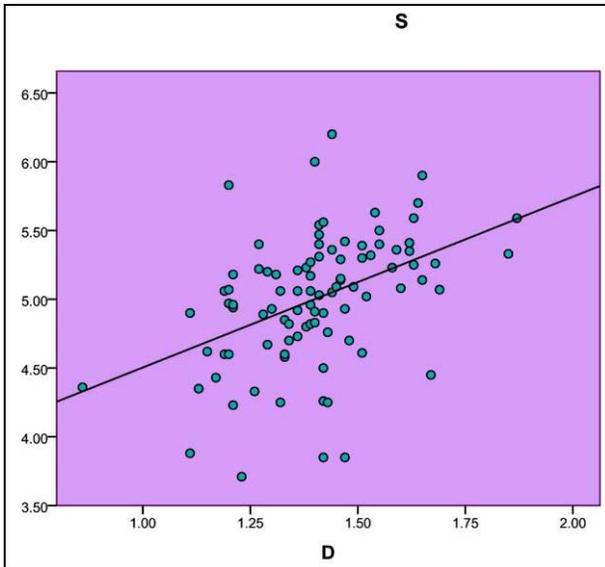
**Figura 12.** Continuo de estilos del morfo hermafrodita

En cuanto a la relación existente entre la longitud del gineceo y el diámetro del ovario la relación lineal muestra una pendiente baja, concordando con las pruebas de Pearson y Tau-b de Kendall donde, con una  $r=0.437$  y  $0.337$ , respectivamente indican una relación positiva, no obstante, dicha relación no es significativa, puesto que la  $p$  arrojada en ambos casos es menor a  $0.05$  (Fig. 13).

En caso de los gineceos del morfo masculino se puede apreciar en la figura 14 que también hay una variación de tamaños, no obstante no fue posible obtener una cantidad de medidas que arrojaran resultados estadísticos confiables, que permitieran probar la presencia de un continuo en el morfo masculino, dado el reducido tamaño de los pistilos.

**Tabla 5.** Grupos estadísticos formados por la prueba de Tukey

| Grupos | Limite inferior | Limite superior | Media  |
|--------|-----------------|-----------------|--------|
| 1      | 3.71            | 3.88            | 3.822  |
| 2      | 4.23            | 4.33            | 4.264  |
| 3      | 4.35            | 4.45            | 4.397  |
| 4      | 4.5             | 4.62            | 4.5871 |
| 5      | 4.67            | 4.83            | 4.7588 |
| 6      | 4.85            | 4.97            | 4.9216 |
| 7      | 5.02            | 5.15            | 5.078  |
| 8      | 5.17            | 5.33            | 5.2468 |
| 9      | 5.35            | 5.47            | 5.396  |
| 10     | 5.5             | 5.63            | 5.568  |
| 11     | 5.7             | 5.83            | 5.765  |
| 12     | 5.9             | 6.2             | 6.033  |



**Figura 13.** Regresión lineal del diámetro y longitud del gineceo.



**Figura 14.** Variación morfo masculino.

● Observed  $y = 1.2421x + 3.2613$   
 — Linear  $R^2 = 0.191$

### *Estructura y morfología*

#### Estigma

El estigma se encuentra bien formado en ambos morfos, en el hermafrodita las tres categorías muestran un estigma trilobulado, con papilas uniseriadas, pluricelulares, así mismo los estigmas en todas las categorías se muestran con numerosos granos de polen germinados y poseen una superficie estigmática mayor que la del morfo masculino. Este último morfo presenta estigmas bi o trilobulados con papilas turgentes, uniseriadas y pluricelulares; no obstante, no se observaron granos de polen germinados en su superficie (Fig.15).

#### Estilo

El estilo es hueco en ambos morfos; sin embargo, hay variación entre uno y otro. En el morfo hermafrodita las tres categorías presentan un estilo hueco, largo, con tres haces vasculares bien definidos, el lúmen, si bien es un tanto reducido, presenta mucílago. En el caso del morfo masculino el estilo es corto y hueco; no

obstante, algunos llegan a presentar cierta fusión de la epidermis interna del lumen, así como el mucílago no siempre se encuentra presente. Cabe resaltar que en el estilo de ambos morfos hay abundante presencia de cristales tipo drusa (Fig. 16).

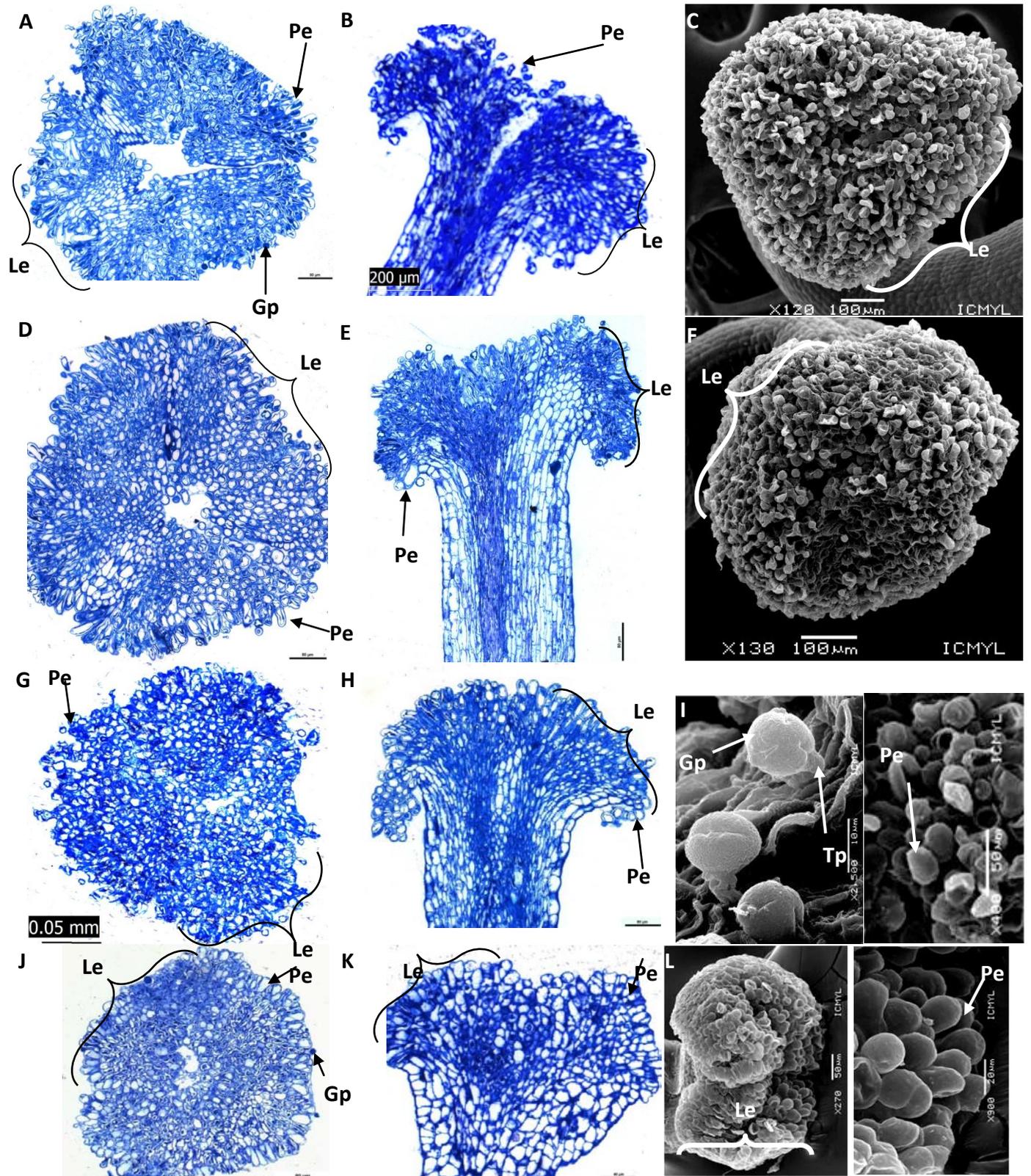
### Ovario

Existen notables diferencias entre ambos morfos. En el morfo hermafrodita las tres categorías L, M y S presentaron un ovario unilocular, con tres o dos placentas parietales intrusivas (Figs. 17 y 18), éstas surgen unidas en la base del ovario separándose inmediatamente (Fig. 18E), subiendo por las paredes del mismo (Fig. 16) hasta alcanzar la parte superior del ovario, así mismo la placenta posee haces vasculares bien diferenciados (Fig. 18); estas placentas dadas por la fusión marginal de los carpelos, generan óvulos con funículos a lo largo de las mismas, desde el momento en que se separan las placentas hasta poco antes de llegar al estilo (Figs. 17 y 18). El morfo masculino, de igual modo que el morfo hermafrodita, presenta un ovario unilocular con dos o tres placentas parietales intrusivas, las cuales surgen en la base y se separan rápidamente, subiendo por las paredes del ovario hasta llegar a la parte superior del mismo, gran parte del tejido de la pared interna del ovario se observa colapsado, así mismo los óvulos también se observan colapsados (Fig. 19). Finalmente ambos morfos presentan gran cantidad de cristales tipo drusa a lo largo de la pared del ovario y parte de las placentas (Fig. 20).

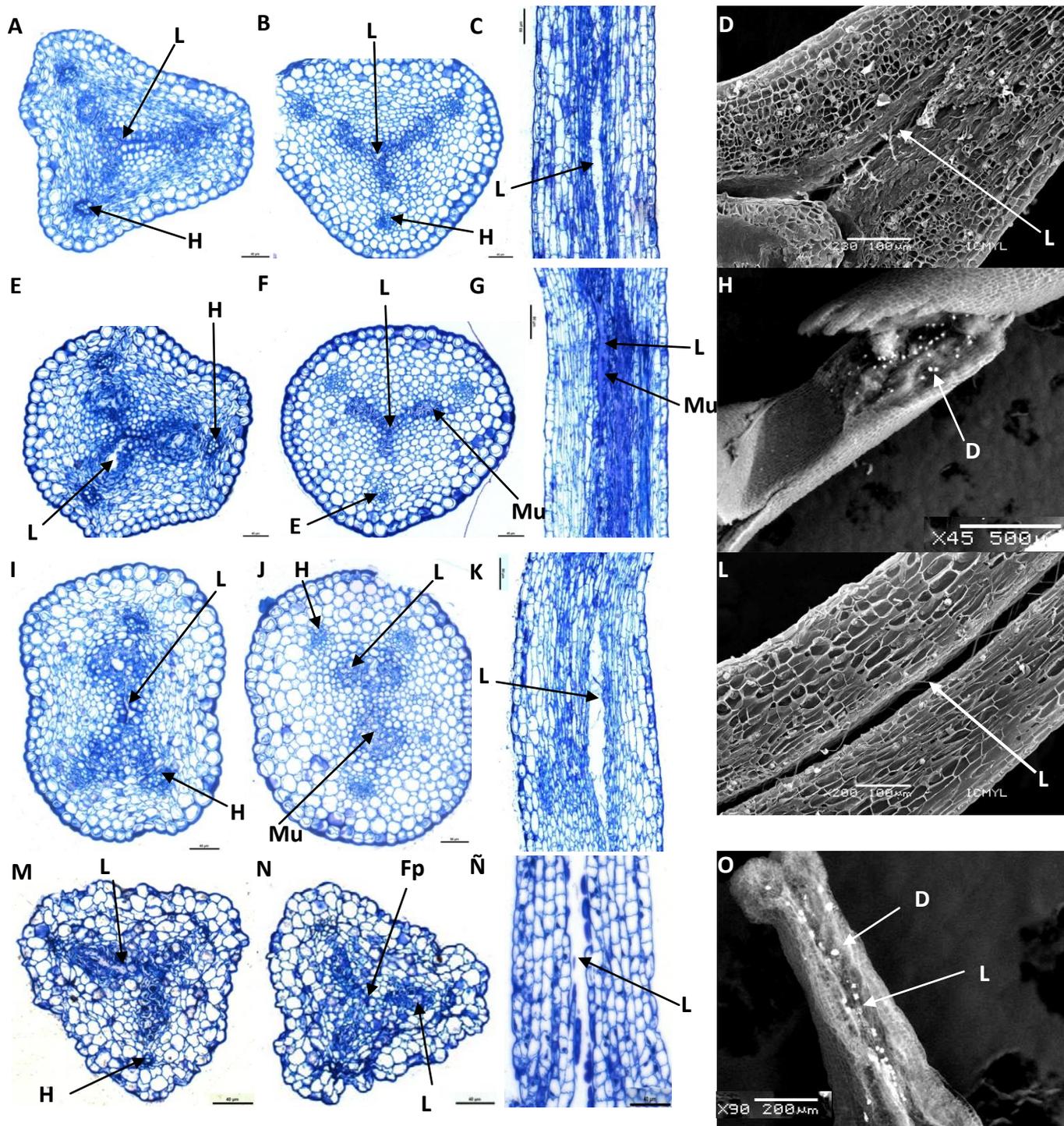
## Óvulos

En los óvulos se presenta una de las diferencias más grandes entre ambos morfos. Los presentes en las tres categorías del morfo hermafrodita son óvulos campilótopos, bitégmicos con un obturador funicular próximo al micrópilo (Fig. 21), el tegumento interno se conforma de tres estratos celulares, el tegumento externo presenta entre dos y tres estratos celulares, en la zona micropilar del tegumento externo el número de estos estratos es mayor (Fig. 21 A, B y C). Así mismo el saco embrionario en las tres categorías, es un saco muy alargado y curvo (Fig. 21), dadas estas características (extensión y curvatura), no ha sido posible determinar el tipo de saco embrionario ni el número de células que lo componen, no obstante, fue posible observar un aparato ovocelular en el extremo micropilar (Fig. 21D), núcleos polares (Fig. 21E) y antípodas en el extremo calazal (Fig. 21F).

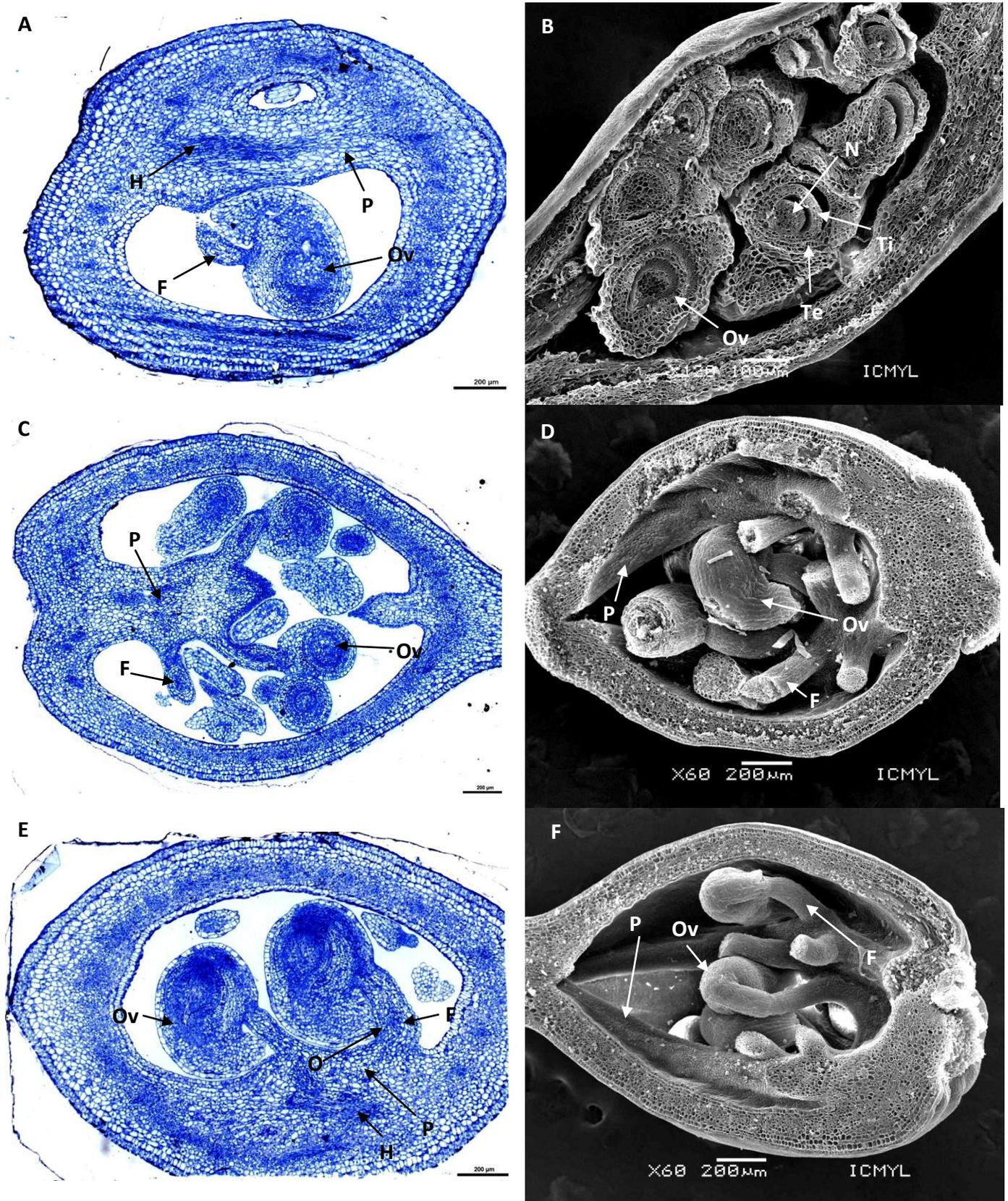
El morfo masculino en contraste, presenta óvulos que son una masa celular amorfa o bien detenidos en la etapa del inicio de formación de los tegumentos (Fig. 21G), dejando expuesta la nucela por lo que no hay saco embrionario.



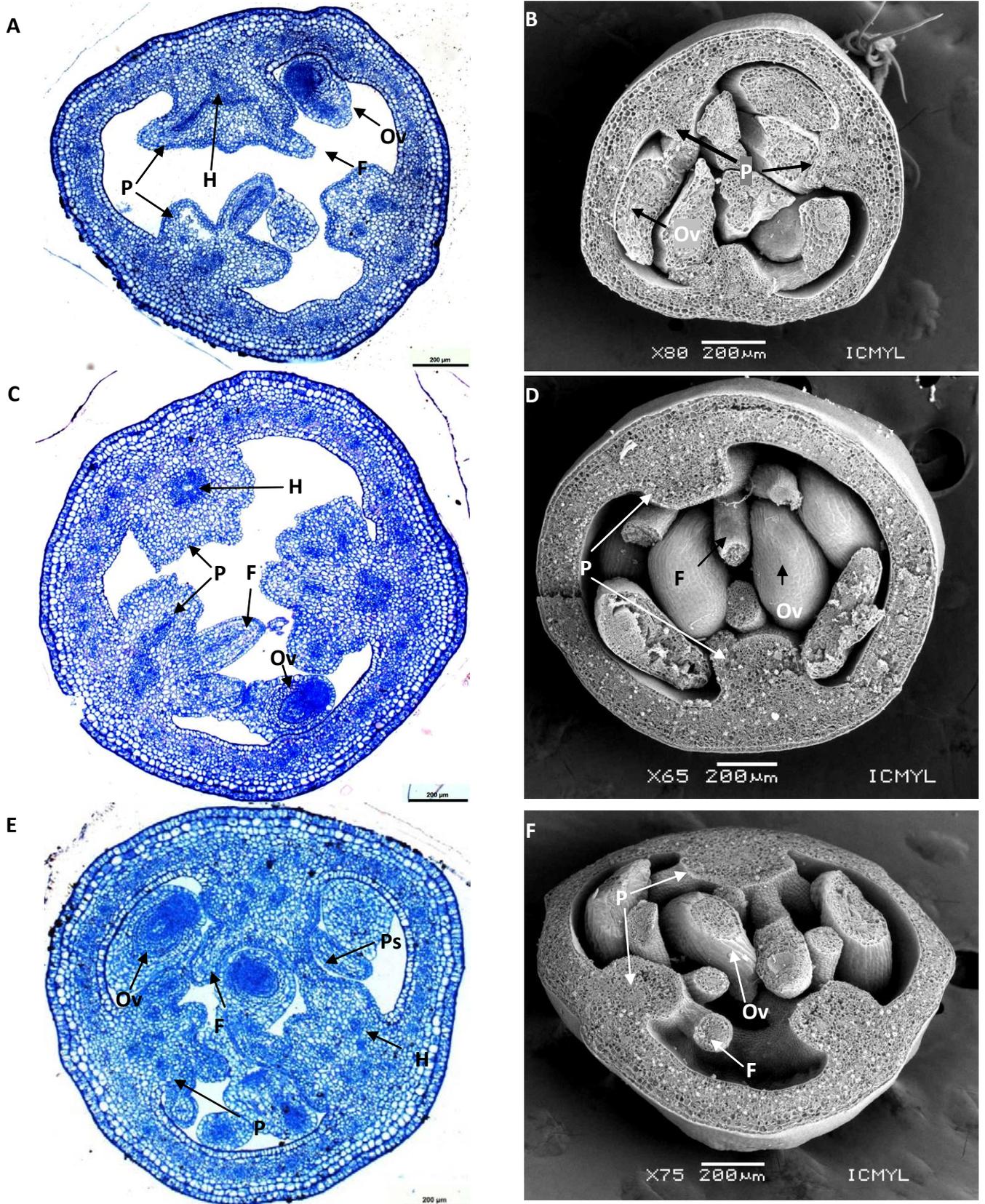
**Figura 15.** Anatomía y micromorfología del estigma de *P. oaxacana*. A y C) Corte transversal y superficie del estigma S. B) Corte longitudinal estigma S. D y F) Corte transversal y superficie del estigma M. E) Corte longitudinal del estigma M. G ) Corte transversal del estigma L. H) Corte longitudinal del estigma L. I) Polen tricolpado germinado y detalle de papilas L. J) Corte transversal estigma masculino K) Corte longitudinal estigma masculino. L) estigma bilobulado y detalle de papilas del estigma masculino. (Le) Lóbulo estigmático. (Gp) Grano de polen. (Tp) Tubo polínico. (Pe) papilas estigmáticas.



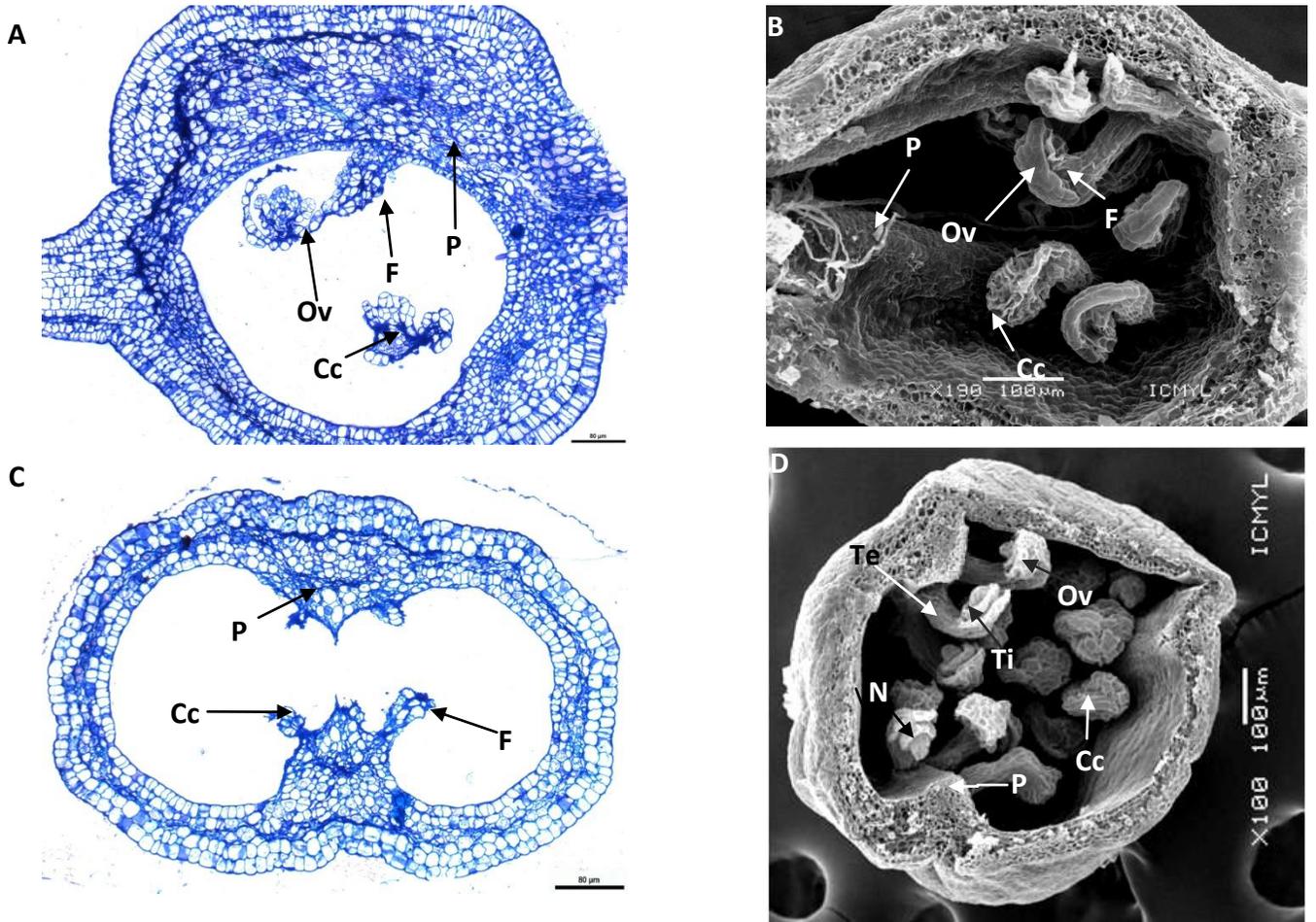
**Figura 16.** Cortes longitudinal y transversal y micromorfología del estilo. A) Corte transversal superficial S. B) Corte transversal medio S. C) Corte longitudinal S. D) Corte longitudinal S. E) Corte transversal superficial M. F) Corte transversal medio M. G) Corte longitudinal M. H) Cristales tipo drusa en estilo M. I) Corte transversal superficial L. J) Corte transversal medio L. K) Corte longitudinal L. L) Corte longitudinal L. M) corte transversal superficial masculino. N) Corte transversal medio masculino. Ñ) Corte longitudinal masculino. O) Corte longitudinal con drusas masculino. (L) Lumen. (H) Haz vascular. (Mu) Mucílago. (D) Cristales tipo drusa. (Fp) Fusión parcial de las paredes internas.



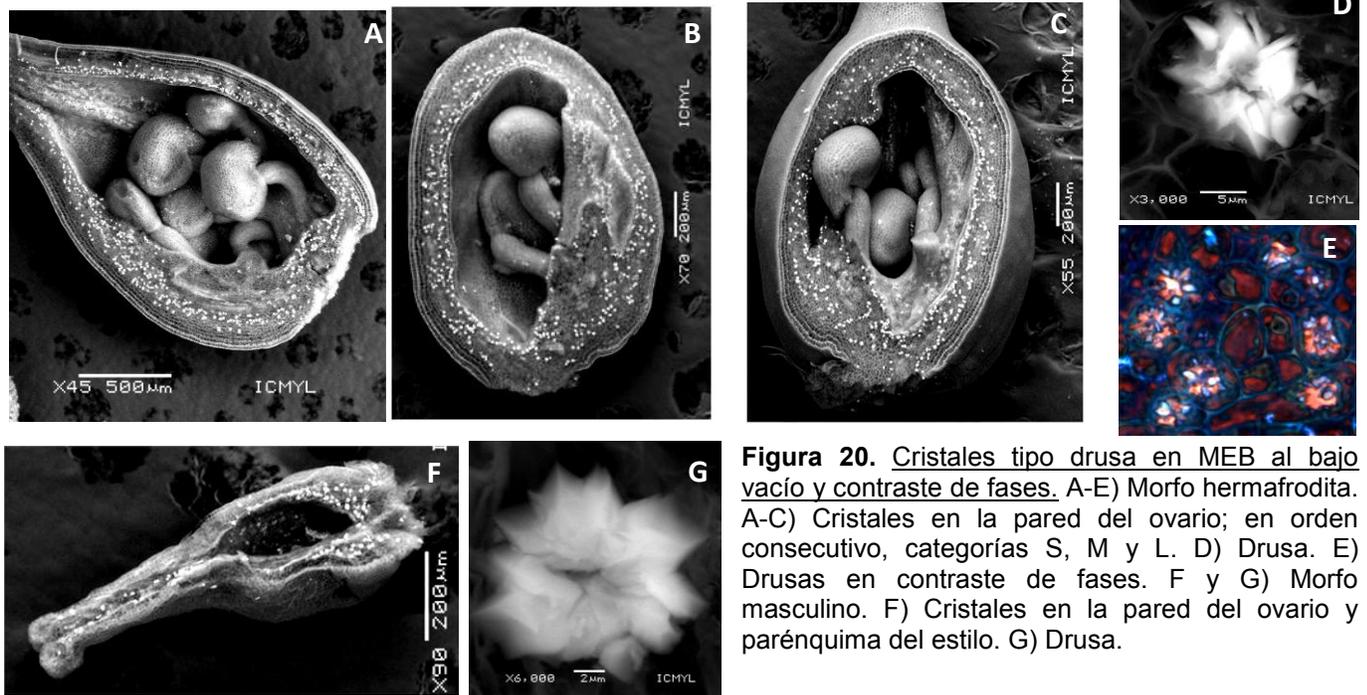
**Figura 17.** Morfo hermafrodita, anatomía y micromorfología del ovario en corte longitudinal. A y B) Categoría S, placentación parietal intrusiva y óvulos. C y D) Categoría M, placentación parietal intrusiva y óvulos. E y F) Categoría L placentación parietal intrusiva, óvulos, y haces vasculares. (Ov) Óvulo. (Te) Tegumento externo. (Ti) Tegumento interno. (N) Nucela. (H) Haz vascular. (F) Funículo. (P) Placenta.



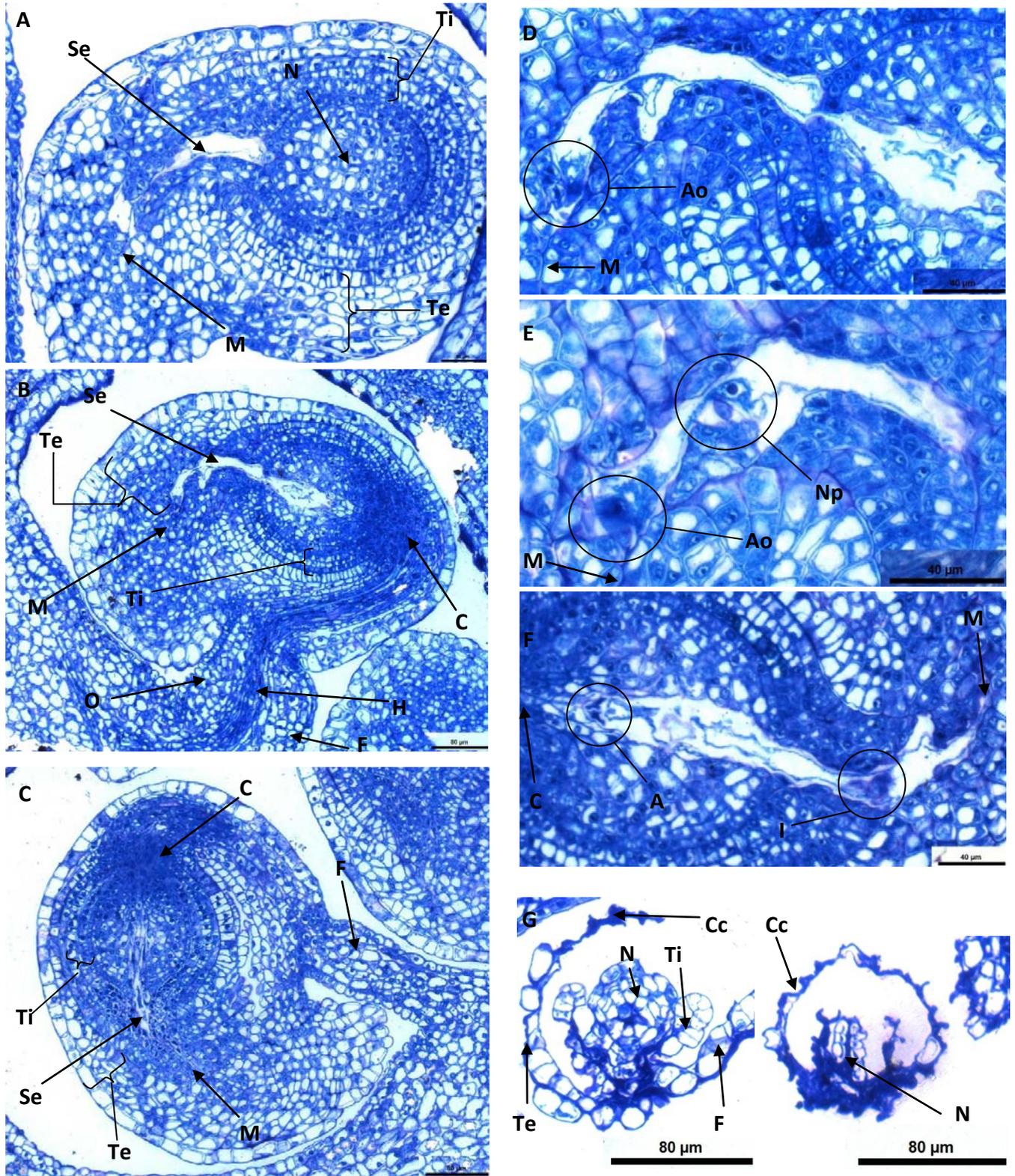
**Figura 18. Morfo hermafrodita, anatomía y micromorfología del ovario en corte transversal.** A y B) Categoría S, placentación parietal intrusiva y haces vasculares. C y D) Categoría M placentación parietal intrusiva, haces vasculares y óvulos. E y F) Categoría L, placentación parietal intrusiva, haces vasculares y óvulos. (Ov) Óvulo. (P) Placenta. (Ps) Placenta separándose. (F) Funiculo. (H) Haz vascular.



**Figura 19. Morfo masculino Anatomía y micromorfología del ovario.** A y B) corte longitudinal, placentación parietal intrusiva y óvulos. C y D) Corte transversal, placentación parietal intrusiva y óvulos. (Ov) Óvulo. (P) Placenta. (F) Funiculo. (Cc) Células colapsadas. (Te) Tegumento externo. (Ti) Tegumento interno. (N) Nucela.



**Figura 20. Cristales tipo drusa en MEB al bajo vacío y contraste de fases.** A-E) Morfo hermafrodita. A-C) Cristales en la pared del ovario; en orden consecutivo, categorías S, M y L. D) Drusa. E) Drusas en contraste de fases. F y G) Morfo masculino. F) Cristales en la pared del ovario y parénquima del estilo. G) Drusa.



**Figura 21.** Anatomía de los óvulos de ambos morfos. A, B y C) óvulos morfo hermafrodita. D, E y F) Saco embrionario morfo hermafrodita. A) Óvulo de la categoría S en corte longitudinal. B) Óvulo de la categoría M en corte longitudinal. C) Óvulo de la categoría L en corte longitudinal. D) Saco embrionario en la categoría M mostrando el aparato ovocelular. E) Saco embrionario de la categoría L mostrando un núcleo polar. F) Saco embrionario de la categoría M mostrando antípodas. G) Óvulos del morfo masculino detenidos en su desarrollo y atróficos. (F) Funiculo. (H) Haz vascular. (O) Obturador. (Te) Tegumento externo. (Ti) Tegumento interno. (N) Nucela. (Se) Saco embrionario. (C) Calaza. (M) Micrópilo. (A) Antípodas. (Ao) Aparato ovocelular. (I) Etapas iniciales del embrión (Np) Núcleo polar. (Cc) Células colapsadas.

## Discusión

*Prockia oaxacana* es una especie dimórfica, donde se distinguen dos tipos de individuos, unos de flores con gineceo largo y otros de flores con gineceo altamente reducido, asimismo, morfológica y estructuralmente las diferencias en el gineceo de ambos morfos son aún mayores. El morfo de gineceos largos (hermafrodita), posee un continuo en la longitud de los gineceos, de las categorías trabajadas L, M y S, todas presentaron estigmas bien formados, al igual que en la especie hermana *Prockia krusei* (Vázquez-Barrón, 2013); sin embargo, un gran número de estas papilas se observaron rotas, probablemente por la liberación de contenido celular para propiciar la germinación de los tubos polínicos, ya que en microscopía electrónica de barrido se observaron numerosos granos de polen tricoplados, germinados en la superficie del estigma. En cuanto al estilo presenta las características de un estilo hueco (Márquez *et al.*, 2013), contrastando con lo reportado para *P. krusei* con un estilo sólido (Vázquez-Barrón, 2013). Sin embargo, observaciones cuidadosas realizadas a las micrográficas de *P. krusei* sobre esta estructura, revelaron que no hay fusión de las paredes internas del estilo, por lo que al igual que *P. oaxacana* es un estilo hueco, cuyo espacio se obliteró, pero las paredes nunca se presentaron fusionadas. Finalmente el ovario formado por la fusión de los márgenes de tres carpelos es unilocular, con placentas parietales intrusivas a lo largo de las cuales se insertan óvulos, difiriendo de *P. krusei* pues esta especie si bien genera tres placentas por la fusión marginal de los carpelos, los óvulos se insertan únicamente en la base de las placentas, por lo que es una placentación de tipo basal (Vázquez-Barrón, 2013) y

no parietal como en *P. oaxacana*. Los óvulos son campilótrofos, distintos a los óvulos anátropos u ortótropos reportados para la familia (Johri Ambegaokar, y Srivastava, 1992; Stevens, 2012), muy similares a los de *P. krusei* (Vázquez-Barrón, 2013). Se requiere un estudio más detallado sobre esta estructura para poder determinar qué implicaciones tiene en la filogenia, al igual que sucede con el saco embrionario largo y curvo. No fue posible determinar el número de células que lo conforman; sin embargo, se ve bien formado.

Es necesario hacer un estudio más cuidadoso sobre esta estructura para poder determinar el tipo de saco embrionario, el cual, dadas las similitudes con *P. krusei* es probable que se presente tipo Polygonum (Vázquez-Barrón, 2013). Dado que los óvulos encontrados en las tres categorías se encuentran bien formados, se concluye que en el morfo hermafrodita, el tamaño del ovario no influye en la formación de óvulos morfológicamente viables.

En contraste el morfo masculino cuyos gineceos no llegan a sobrepasar la mitad de la longitud de la categoría S, también posee un continuo en la longitud de gineceos al igual que el otro morfo. El estigma se observó bien formado, sin embargo, aunque se encontraron granos de polen adheridos a la superficie estigmática, ninguno se observó germinado, contrastando con el morfo masculino de *P. krusei* pues el estigma se encuentra reducido y con papilas colapsadas (Vázquez-Barrón, 2013). El estilo se observó con haces vasculares poco definidos, mayoritariamente hueco, no obstante, en algunos casos se encontró una fusión parcial de las paredes internas del estilo, así mismo, no se encontró mucílago, difiriendo de *P. krusei*, ya que el estilo en el morfo masculino, efectivamente es

sólido, (Vázquez-Barrón, 2013). El ovario, al igual que el morfo hermafrodita, es unilocular con dos o tres placentas parietales intrusivas, a lo largo de las cuales se insertan los óvulos, difiriendo del morfo masculino de *P. krusei* de la misma manera en que difiere el morfo hermafrodita (Vázquez-Barrón, 2013); en esta última estructura probablemente se encuentre la mayor diferencia entre ambos morfos, ya que los óvulos del morfo masculino se observan en su mayoría colapsados y otros tantos se observan detenidos en la etapa de formación de los tegumentos, por lo que no poseen saco embrionario y por consiguiente no tienen la capacidad de ser fecundados y producir semillas, siendo similares a los óvulos del morfo masculino de *P. krusei*, pues éstos también se encuentran detenidos en su desarrollo (Vázquez-Barrón, 2013).

El sistema sexual de *Prockia oaxacana* parece, a simple vista androdioico, sobre todo al comparar los resultados con los de su pariente *Prockia krusei*, sin embargo, hasta donde los resultados de la investigación realizada llegan, sólo es posible decir que *P. oaxacana* posee un sistema sexual dimórfico en transición, ya que el sexo funcional de cada individuo no está definido aún. El morfo masculino, de acuerdo con lo observado en campo, llega a presentar (aunque muy pocos) frutos en desarrollo, los cuales, según observaciones personales posteriores a este trabajo, presentan un gineceo o fruto en desarrollo de mayor longitud a cualquiera presentado por una flor de gineceo reducido. No obstante, es distinto en forma y tamaño del gineceo fecundado en desarrollo del morfo hermafrodita, así mismo la proporción de estos posibles frutos que presentan los individuos masculinos es muy baja respecto del total de flores que produce cada individuo,

mientras que el morfo hermafrodita presenta una cantidad sumamente abundante de frutos. Esta observación requiere de un estudio micromorfológico y anatómico de los frutos presentes en individuos masculinos, así como un monitoreo continuo del desarrollo de los mismos en la planta, para ver si llegan a desarrollarse en una baya madura de color oscuro, al igual que el otro morfo, y si llegan a presentar semillas, ver si estas son capaces de germinar.

En el caso del morfo hermafrodita aún quedan incógnitas por resolver, de acuerdo con otros estudios de la especie, ésta presenta dos tipos de polen, uno poliaberturado y otro tricolpado, el primero se presenta en las anteras del morfo hermafrodita, mientras que el segundo se encuentra en las anteras del morfo masculino, cabe resaltar que posiblemente el polen de los individuos hermafroditas sea estéril (Urrutia, 2015; datos no publicados). Lo anteriormente mencionado concuerda en primer plano con el sistema sexual propuesto por Jiménez-Ramírez *et al*, (2008) ya que, en la descripción de la especie, define a *P. oaxacana* como una especie poligamodioica, donde hay individuos de flores femeninas e individuos de flores masculinas y flores femeninas; no obstante, aún no es posible afirmar esto, puesto que no hay certeza sobre la viabilidad de los frutos observados, si son capaces de producir semillas viables y si estos provienen de una flor femenina o hermafrodita, o si los gineceos de mayor longitud del morfo masculino, dado que el estigma se observa bien formado, aunque poseen óvulos no viables, al ser estimulados por los granos de polen depositados en la superficie estigmática comiencen su crecimiento, aun sin ser fecundados (partenocárpicos). En el caso del morfo hermafrodita, asumiendo que sea

realmente un morfo femenino a pesar de tener anteras bien formadas, el polen que producirían sería no viable, lo que podría explicar la presencia de los polinizadores, pues hasta ahora, no se ha encontrado ningún tipo de nectario en las flores, no obstante, en campo se observó una gran cantidad de abejas; insecto que ya se ha reportado como visitante de *P. crucis* y *P. flava* (Bullock, Martínez del Río, y Ayala, 1989; Flores-Vásquez, 2005); visitando ambos morfos, así como una fuerte fragancia, por lo que posiblemente la recompensa de los polinizadores es el polen mismo. Todo esto indica que *P. oaxacana* presenta un sistema reproductivo en transición, pues en las numerosas hipótesis sobre la evolución del dioicismo, en las etapas cercanas a esta condición hay inestabilidad en la viabilidad de los gametos. En el caso de la vía cosexual-ginodioicismo-dioicismo, se ha descrito que las plantas femeninas pueden llegar a presentar una mínima cantidad de polen viable y las plantas masculinas una pequeña cantidad de semillas. Con respecto a la vía monoicismo-paradioicismo-dioicismo, la inestabilidad se presenta en ambos sexos siendo mayor en el masculino. En el caso de la vía cosexual-androdioicismo-dioicismo hay inestabilidad en ambos sexos, igualmente, cuando se rompe el dioicismo en etapas muy tempranas, también se observa inestabilidad en los diferentes sexos (Geber, Dawson y Deplph, 1999). En sistemas dioicos, es común que el morfo femenino mantenga las anteras con polen estéril, ya que se utiliza como recompensa para los polinizadores, por lo que a primera vista, pueden aparentar un tipo de sistema sexual que no poseen, así mismo aunque la especie parezca androdioica, no significa que haya evolucionado por esta vía (Geber, Dawson y Deplph, 1999). Es

importante conocer la filogenia del género para poder establecer hipótesis más precisas sobre la evolución del sistema sexual que presenta. En el caso de *P. oaxacana*, dado lo que presenta, no es posible afirmar el sistema sexual que posee; no obstante, todo indica que más que un sistema poligamodioico, es un sistema dioico críptico.

En cuanto a la filogenia del género y la familia, es un tema complejo ya que Salicaceae previamente se encontraba fusionada en una familia altamente parafilética: Flacourtiaceae. El hecho de que a esta familia se le agregaran especies que no encajaban en ninguna otra familia establecida (Alford, 2004) generó un grupo integrado con especies que podrían no estar relacionadas filogenéticamente, por lo que en los esfuerzos realizados para resolver las relaciones filogenéticas dentro de Flacourtiaceae, se estableció la familia Salicaceae. Dada esta historia, Salicaceae aunque mucho más uniforme, sigue presentando ciertos conflictos (Alford, 2004). *Prockia oaxacana* por lo mismo, fue difícil de ubicar dentro de la tribu Prockiae (Jiménez-Ramírez, Cruz-Durán y Vega-Flores, 2008). Entre los géneros considerados, *Pleuranthodendron*, *Hasseltiopsis*, *Neosprucea*, *Banara* y *Prockia*, los dos últimos representaron buenas opciones para ubicar a *P. oaxacana*, sin embargo, *Banara* fue descartado por la presencia de placentas fuertemente intrusivas, pétalos casi tan grandes como los sépalos, así como, la ausencia de un perianto acrescente, no obstante, los autores señalan que la ubicación de *P. oaxacana* y *P. krusei* (con la que guarda inmensa similitud) en *Prockia*, no es del todo satisfactoria dado que el género está descrito con lóculos en el ovario (Jiménez-Ramírez, Cruz-Durán y Vega-Flores, 2008).

En el cladograma (Fig. 1) basado en datos morfológicos y moleculares de Alford (2005), especies de *Banara* se encuentran mezcladas dentro del mismo clado con algunas de *Prockia*, por lo que estos géneros según Alford podrían llegar a ser polifiléticos; En las clasificaciones previas de la familia, caracteres tales como el estado sexual y número de pétalos fue bastante utilizado, no obstante, han resultado ser bastante homoplásicos (Alford, 2005); en el caso de *Banara* y *Prockia*, la presencia o ausencia de pétalos y el número de lóculos se han utilizado como caracteres para separar ambos géneros (Jiménez-Ramírez Cruz-Durán y Vega-Flores, 2008), así pues, el primer carácter (pétalos) no es muy confiable, por lo que el segundo (lóculos) resulta interesante; según estudios del desarrollo, se ha demostrado que la placentación axilar evolucionó a partir de la fusión secundaria de las placentas parietales altamente intrusivas, y en *Hasseltia*, el otro único género dentro de la familia con placentación axilar, aparte de *Prockia*, sólo se forman en algunas ocasiones dos a tres placentas parietales en lugar de formar lóculos típicos (Alford, 2005), así mismo de acuerdo con observaciones al microscopio electrónico de barrido, las placentas que conforman los lóculos en *P. crucis* no llegan a fusionarse en el centro de tal modo que no es una placentación estrictamente axilar, por lo que deja un interesante campo de estudio dentro del clado, ya que la presencia de lóculos como carácter distintivo de *Prockia* podría no ser tan determinante como se pensaba, de igual modo, la placenta podría jugar un papel importante en estudios filogenéticos. En el caso de *P. oaxacana*, *P. krusei* y la especie nueva *P. jaliscana*, la cual parece ser muy similar a las dos anteriores (Jiménez-Ramírez, 2015; datos no publicados) es necesario ubicarlas

dentro de la filogenia para ver si efectivamente quedan incluidas en el mismo clado donde se encuentran las otras Prockias, y evaluar los caracteres morfológicos que ayuden a distinguir el género, dado que estas especies podrían pertenecer a otro género o bien ser un genero nuevo, del mismo modo estudios del desarrollo en todas estas especies, incluidas en los géneros *Banara* y *Prockia*, podrían ayudar a resolver la filogenia dentro de la tribu.

## Conclusiones

- *Prockia oaxacana* es una especie dimórfica.
- Los árboles de *P. oaxacana* poseen gineceos de distintos tamaños formando un continuo.
- El gineceo es tricarpelar en las tres categorías del morfo hermafrodita estudiadas, así como en el morfo masculino.
- El estigma es trilobulado, con papilas multicelulares y uniseriadas, tanto en el morfo hermafrodita como en el masculino.
- El estilo en las tres categorías del morfo hermafrodita es largo, con tres haces vasculares, hueco y con un lumen reducido con mucílago.
- El estilo en el morfo masculino es hueco, ocasionalmente con fusión parcial de las paredes internas, sin haces vasculares definidos y sin mucílago, cuatro veces más corto que el estilo del morfo hermafrodita.
- La placentación es de tipo parietal en las tres categorías del morfo hermafrodita y en el morfo masculino.
- Los óvulos del morfo hermafrodita son bitégmicos, campilótrpos, con un saco embrionario largo, con células en su interior.
- Los óvulos del morfo masculino se encuentran atrofiados o detenidos en las etapas iniciales de la formación de los tegumentos.
- En esta investigación, se propone la hipótesis de que *Prockia oaxacana* es una especie dioica críptica.

## Referencias

- Alford, M. 2004. "Phylogeny and Classification of the Flacourtiaceae/Salicaceae Complex." *Botany*. Salt Lake City.
- Alford, M. 2005. "Systematic studies in Flacourtiaceae." Cornell University.
- Alström-Rapaport, C., M. Lascoux, Y. C. Wang, G. Roberts, y G. A. Tuskan. 1998. "Identification of a RAPD Marker Linked to Sex Determination in the Basket Willow (*Salix viminalis* L.)." *Journal of Heredity* 89(1):44–49.
- APGIII. 2009. "An update of the Angiosperm Phylogeny Group classification for the orders and families of flowering plants: APG III." *Botanical Journal of the Linnean Society* 161(2):105–121.
- Ayala, M. y E. Solano. 2011. "Salicaceae." *Flora del Valle de Tehuacán-Cuicatlán* (84):1–14.
- Baker, H. G. 1964. "Variation in Style Length in Relation to Outbreeding in *Mirabilis* (Nyctaginaceae)." *Evolution* 18(3):507–509.
- Barrett, S. 1998. "The evolution of mating strategies in flowering plants." *Trends in Plant Science* 3(9):335–341.
- Barrett, S. 2002. "The evolution of plant sexual diversity." *Nature reviews. Genetics* 3(4):274–84.
- Barrett, S. y J. Hough. 2013. "Sexual dimorphism in flowering plants." *Journal of experimental botany* 64(1):67–82.
- Barrett, S., L. Jesson, y A. Baker. 2000. "The Evolution and Function of Stylar Polymorphisms in Flowering Plants." *Annals of botany* 85:253–265.
- Bawa, K. S., y J. H. Beach. 1981. "Evolution of Sexual Systems in Flowering Plants." *Annals of the Missouri Botanical Garden* 68(2):254–274.

- Borchsenius, F. 1997. "Oreopanax (Araliaceae) in Ecuador." *Nordic Journal of Botany* 17(4):373–396.
- Bullock, S. H., C. Martínez del Río, y R. Ayala. 1989. "Bee visitation rates to tress of *Prockia crucis* differing in flower number." *Oecología* (78):389–393.
- Burke, J. M., A. Sanchez, K. Kron, y M. Luckow. 2010. "Placing the woody tropical genera of Polygonaceae: A hypothesis of character evolution and phylogeny." *American journal of botany* 97(8):1377–90.
- Charlesworth, D. 1984. "Androdioecy and the evolution of dioecy." *Biological Journal of the Linnean Society* 22(4):333–348.
- Charlesworth, D. 2006. "Evolution of plant breeding systems." *Current biology* 16(17):R726–35.
- Delph, L. y D. Wolf. 2005. "Evolutionary consequences of gender plasticity in genetically dimorphic breeding systems." *The New phytologist* 166(1):119–28.
- Dorken, M. y S. Barrett. 2004. "Sex determination and the evolution of dioecy from monoecy in *Sagittaria latifolia* (Alismataceae)." *Proceedings. Biological sciences / The Royal Society* 271(1535):213–9.
- Endress, P. K. 2011. "Angiosperm ovules: diversity, development, evolution." *Annals of botany* 107(9):1465–89.
- Evert, R. F. y S. E. Eichhorn. 2013. *Raven. Biology of Plants*. 8° Ed. New York: W. H. Freeman and Company publishers.
- Flores-Vásquez, S. 2005. "Fenologia, biología floral e polinização de três espécies de Flacourtiaceae na região de Manaus." Manaus: INPA/UFAM.
- Fonseca, Rosa Ma. 1997. *Flora de Guerrero: No. 4. Salicaceae*. Eds. N. Diego-Pérez y R. Ma. Fonseca. Ciudad de México: Las prensas de ciencias.

- Geber, M. A., T. E. Dawson, y L. F. Delph, Eds. 1999. *Gender and Sexual dimorphism in Flowering Plants*. Germany: Springer.
- Geber, M. A. 1995. "Fitness effects of sexual dimorphism in plants." *Trends in Ecology & Evolution* 10(6):222–223.
- GBIF. 2015. "Global Biodiversity Information Facility." *Free and Open Access to Biodiversity Data*. (<http://www.gbif.org/>).
- Gilg, E. 1960. "Flacourtiaceae." in *Die natürlichen Pflanzenfamilien*, Ed. Engler. Berlin: Duncker & Humboldt.
- Glimn-Lacy, J. y P. B. Kauffman. 2006. *Botany Illustrated*. Segunda Ed. USA: Springer.
- Guillaume, T. 2004. *Flowers. Evolution of the Floral Architecture of Angiosperms*. India: Science Publishers, Inc.
- Hammel, B. E., y X. Cornejo. 2009. "*Forestiera isabelae* (Oleaceae), una Especie Nueva para Costa Rica." *Novon: A Journal for Botanical Nomenclature* 19(1):52–55.
- Jia, J., y D.Y. Tan. 2012. "Variation in style length and anther–stigma distance in *Ixiolirion songaricum* (Amaryllidaceae)." *South African Journal of Botany* 81:19–24.
- Jiménez-Ramírez, J. y R. Cruz-Durán. 2005. "*Prockia krusei* (Salicaceae) una Especie Nueva del Estado de Guerrero Mexico." *Novon: A Journal for Botanical Nomenclature* 15(2):297–300.
- Jiménez-Ramírez, J., R. Cruz-Durán y K. Vega-Flores. 2008. "*Prockia oaxacana* (Salicaceae), una Especie Nueva del Estado de Oaxaca, México." *Novon: A Journal for Botanical Nomenclature* 18(3):351–356.

- Johri, B. M., ed. 1984. *Embriology of Angiosperms*. Alemania: Springer-Verlag.
- Johri, B. M., K. B. Ambegaokar, y P. S. Srivastava. 1992. *Comparative Embryology of Angiosperms. Vol 1*. New York: Springer- Verlag.
- Keseler, R. y M. Harley. 2011. *Polen. La sexualidad oculata de las flores*. China: Papadakis publisher.
- Killeen, T. J. y Z. E. Ruologo. 1992. "Taxonomy and Reproductive Biology of *Digitaria dioica* and *D. neesiana* (Gramineae : Paniceae)." *Systematic Botany* 17(4):594–606.
- Leskinen, E. y C. Alström-Rapaport. 1999. "Systematics and Evolution Molecular phylogeny of Salicaceae and closely related Flacourtiaceae : evidence from 5 . 8 S , ITS 1 and ITS 2 of the rDNA." *Plant Systematics and Evolution* 215:209–227.
- Lloyd, D. G. 1975. "The Maintenance of Gynodioecy and Androdioecy in Angiosperms." *Genetica* 45:325–339.
- Lloyd, D. G. 1980. "Sexual strategies in plants III . A quantitative method for describing the gender of plants." *New Zeland Journal of Botany* 18:37–41.
- Machado, I. C., A. V. Lopes, A. V. Leite y C. de Brito Neves. 2006. "*Cleome spinosa* (Capparaceae): polygamodioecy and pollination by bats in urban and Caatinga areas, northeastern Brazil." *Botanische Jahrbücher fur Systematik* 127(1):69–82.
- Manabe, T.. 1996. "Variations in Sex Expression and the Reproductive Function of an Evergreen Broad-leaf Understorey Species, *Eurya japonica* Thunb . (Theaceae)." *Bulletin Kitakyushu Mus. Nat. Hist.* 15:137–144.

- Márquez G., J., M. Collazo O., M. Martínez G., A. Orozco S. y S. Vázquez S. Eds. 2013. *Biología de angiospermas*. México: Universidad Nacional Autónoma de México.
- Maurice, S, D. Charlesworth, C. Desfeux, D Couvet, y P.H. Goouyon. 1993. "The evolution of Gender in Hermaphrodites Gynodioecious Populations with Nucleo-Cytoplasmic Male-Sterility." *Proceedings: Biological sciences* 251(1332):253–261.
- Mauseth, J. 2011. *Botany: An Introduction to Plant Biology*. Cuarta Ed. India: Jones & Bartlett Learning.
- Núñez, P. y B. Ludlow-Wieehers. 1998. "No. 6 Salicaceae." *Flora Palinológica de Guerrero* (6):1–22.
- Penny, R. H. y J. C. Steven. 2009. "Sexual dimorphism in pollen grain size in cryptically dioecious *Thalictrum macrostylum*." *Plant Systematics and Evolution* 279(1-4):11–19.
- Quesada-Aguilar, A., S. Kalisz y Tia-Lynn Ashman. 2008. "Flower morphology and pollinator dynamics in *Solanum carolinense* (Solanaceae): implications for the evolution of andromonoecy." *American journal of botany* 95(8):974–84.
- Raghavan, V. 1986. *Embryogenesis in Angiosperms: A Developmental and Experimental Study*. CUP Archive.
- Raghavan, V. 1997. "Stigma, style and pollen-pistil interactions." Pp. 181–208 in *Molecular embryology of angiosperms*.
- Ramesha, B. T., M. D. Yetish, G. Ravikanth, K. N. Ganeshaiyah, J. Ghazoul y R. U. Shaanker. 2011. "Stylish lengths: Mate choice in flowers." *Journal of Biosciences* 36(2):229–234.

- Reiser, L., y R. L. Fischer. 1993. "The Ovule and the Embryo Sac." *The Plant cell* 5(10):1291–1301.
- Sakai, A., A. Sasa, y S. Sakai. 2006. "Do sexual dimorphisms in reproductive allocation and new shoot biomass increase with an increase of altitude? A case of the shrub willow *Salix reinii* (Salicaceae)." *American journal of botany* 93(7):988–992.
- Simpson, M. G. 2006. *Plant Taxonomy*. 1° ed. Canada: Sinauer Associates, Incorporated.
- Spears, P. 2006. *A Tour of the Flowering Plants*. USA: Missouri Botanical Garden Press.
- Stern, K. R. 2006. *Introductory Plant Biology*. 10° Ed. China: McGraw Hill.
- Stevens, P. F. 2012a. "Angiosperm Phylogeny Website." *University of Missouri, St Louis, and Missouri Botanical Garden*. (<http://www.mobot.org/MOBOT/research/APweb/>).
- Stevens, P. F. 2014. "Glosary-Angiosperm Phylogeny Website." *University of Missouri, St Louis, and Missouri Botanical Garden*. (<http://www.mobot.org/MOBOT/research/APweb/>)
- Sugden, A. s.f. *Diccionario Ilustrado de la Botánica*. Tercera Ed. España: Everest.
- Takebayashi, N. y P. L. Morrell. 2001. "Is self-fertilization an evolutionary dead end?" *American journal of botany* 88(7):1143–1150.
- Thadeo, M., M. F. Cassino, N. C. Vitarelli, A. A. Azevedo, M. Araújo, J. V. M. M. Valente y R.M .S. A. Meira. 2008. "Anatomical and histochemical characterization of extrafloral nectaries of *Prockia crucis* (Salicaceae)." *American journal of botany* 95(12):1515–22.

- The Plant List. 2013. "Prockia — The Plant List." *Kew gardens, Missouri Botanical Garden, The New York Botanical Garden*. (<http://www.theplantlist.org/browse/A/Salicaceae/Prockia/>).
- Tollsten, L. y J. Knudsen. 1992. "Floral scent in dioecious *Salix* (Salicaceae)-a cue determining the pollination system?" *Plant Systematics and Evolution* (182):229–237.
- Valencia-Ávalos, S., Ed. 2014. *Introducción a las embriofitas*. Distrito Federal: Universidad Nacional Autónoma de México.
- Valencia-Ávalos, S., M. Martínez-Gordillo, R. Cruz-Durán, J. Jiménez-Ramírez, y E. T. Rodríguez-Pérez. 2011. *Glosario Ilustrado de Embriofitas*. 1a ed. Ciudad de México: Las prensas de ciencias.
- Vázquez-Barrón, R. 2013. "Estructura del gineceo en los morfos florales de *Prockia krusei* (Salicaceae)." Ciudad de México: Universidad Nacional Autónoma de México.
- Wurdack, K. J, y C. C. Davis. 2009. "Malpighiales phylogenetics: Gaining ground on one of the most recalcitrant clades in the angiosperm tree of life." *American journal of botany* 96(8):1551–70.
- Yin, T., S. P. Difazio, L. E. Gunter, X. Zhang, M. M. Sewell, S. Woolbright, G. J. Allan, C. T. Kelleher, C. J. Douglas, M. Wang y G. Tuskan. 2008. "Genome structure and emerging evidence of an incipient sex chromosome in *Populus*." *Genome research* 18(3):422–30.