

00341



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

FACULTAD DE CIENCIAS
DIVISION DE ESTUDIOS DE POSGRADO

ESTUDIO COMPARATIVO DE LOS
GRANOS DE POLEN DE LOS
GENEROS Stenocactus y Ferocactus
(Cactaceae)

TRABAJO
QUE PARA OBTENER EL DIPLOMA DE
ESPECIALISTA EN MICROSCOPIA ELECTRONICA
APLICADA A LAS CIENCIAS BIOLÓGICAS
PRESENTA
GUILLERMINA GONZALEZ MANCERA

DIRECTORA DE TESIS:
M.en C. Adela Margarita Reyes Salas

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

1993



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 está 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.

CONTENIDO.

	Pag.
I. RESUMEN	1
II. INTRODUCCION	3
III. OBJETIVOS	10
IV. METODOLOGIA	11
V. RESULTADOS	17
VI. DISCUSION Y CONCLUSION	21
VII. APENDICE	38
VIII. GLOSARIO	41
IX. BIBLIOGRAFIA	43

INDICE DE FIGURAS Y TABLAS.

Fig. 1	Esquema de un grano de polen.	4
Fig. 2	Diagrama de la estratificación de la exina.	4
Fig. 3	Granos de polen del género <u>Stenocactus</u> en vista ecuatorial.....	24 y 25
Fig. 4	Granos de polen del género <u>Ferocactus</u> en vista ecuatorial.....	24 y 26
Fig. 5	Granos de polen del género <u>Stenocactus</u> en vista polar.....	27 y 28
Fig. 6	Granos de polen del género <u>Ferocactus</u> en vista polar.....	27 y 29
Fig. 7	Superficie de la exina en polen del género <u>Stenocactus</u>	30 y 31
Fig. 8	Superficie de la exina en polen del género <u>Ferocactus</u>	30 y 32
Fig. 9	Vista transversal del polen fracturado del género <u>Stenocactus</u>	33 y 34
Fig. 10	Vista transversal del polen fracturado del género <u>Ferocactus</u>	33 y 35
Tab. 1	Datos estadísticos del análisis realizado en granos de polen de los generos géneros <u>Stenocactus</u> y <u>Ferocactus</u>	36
Tab. 2	Distribucion de rasgos de ornamentación sobre la exina de los granos de polen.....	37

I. RESUMEN

Actualmente la familia de las Cactáceas enfrenta grandes problemas de taxonomía y la posición sistemática de muchos géneros necesita esclarecerse. Varios autores indican que el género, subgénero y, algunas veces, las especies pueden ser definidas a través de características palinológicas (Tsukada, 1964; Bravo, 1978).

Este trabajo presenta un análisis comparativo de la morfología externa e interna de los granos de polen de cinco especies del género Stenocactus (K. Schum) y tres especies del género Ferocactus (B & R.) de la familia *Cactaceae*, con el objeto de contribuir a esclarecer su posición taxonómica, debido a que ha sido postulado por Taylor (1978 y 1980) que Stenocactus debe ser incluido en el género Ferocactus como subgénero de éste.

Para el exámen de la superficie, ornamentación y estructura de la pared del polen se empleó el Microscopio Electrónico de Barrido (MEB), debido a que este microscopio tiene una gran escala de aumento y considerable profundidad de foco. Además, requiere de un procedimiento relativamente fácil para la preparación de los especímenes. La metodología que se utilizó es la comunmente adoptada para polen. Una muestra de polen fué sometida a una acetólisis normal y otra a una acetólisis más fuerte, esta última con el fin de obtener granos fracturados. Y por último, se realizó el procesamiento convencional para el MEB.

Los estudios a través del MEB y el microscopio de luz permitieron describir al polen de ambos géneros con las siguientes características semejantes: polen isopolar, radiosimétrico, forma esencialmente esferoidal (variando entre oblado y prolado), tamaño entre 48 a 58 micras, exina tectada-perforada con microespinas. La estructura de la exina consistió de dos envolturas: la externa (sexina) formada del tectum y columnelas simples y una interna (nexina) más delgada que consistió de una cubierta, careciendo de capa basal.

Aunque se observaron ligeras variaciones entre algunas características, como la forma y tamaño, éstas no siguen un patrón taxonómico consistente. El único carácter que sí manifestó una diferencia constante, fué la escultura del tectum. Así el género Stenocactus presentó una mayor cantidad de perforaciones (4 a 6 por μm^2) y microespinas (3 a 6 por μm^2) mientras que en el género Ferocactus se detectó una menor cantidad (3 y 2 por μm^2 respectivamente).

En general, los resultados muestran que las características palinológicas, de los géneros Stenocactus y Ferocactus son considerablemente uniformes, lo cual es una prueba adicional de la estrecha relación filogenética entre ambos.

II. INTRODUCCION.

El estudio morfológico del polen ha sido muy util para entender las relaciones filogenéticas entre familias, así como para distinguirlas respecto a otras cercanas. Además, ha contribuido al establecimiento de patrones de relación entre diferentes grupos taxonómicos (Kurtz, 1948, Tsukada, 1964, Bravo, 1978, Nowicke & Skavarla, 1979).

La mayoría de los granos de polen de tipo globoso son elipsoidales y tienen simetría radiosimétrica, ya que pueden ser divididos en mitades iguales. En ellos es posible identificar un eje polar (P) y un eje ecuatorial (E) (Fig.1). La forma del polen es subdividido en grupos: Si el eje polar y ecuatorial son del mismo tamaño, el polen es esferoidal; si el eje polar es más corto que el eje ecuatorial, los granos son oblados; finalmente, si el eje polar es más grande que el eje ecuatorial, los granos son prolados. Utilizando la clasificación de Walker y Doyle (1975), basada en la relación entre la longitud del eje polar y ecuatorial (P/E) es posible clasificarlos más claramente. Los granos de polen de la mayoría de las Angiospermas consisten, fundamentalmente, de dos capas diferentes (Fig. 2): la interna, llamada intina, que en polen fósil no existe y en polen reciente es destruida por la acetólisis (requerida para su estudio), y la exina que consta generalmente de dos envolturas: la nexina es la pared interna la cual rodea al protoplasma y la sexina situada en la pared externa.

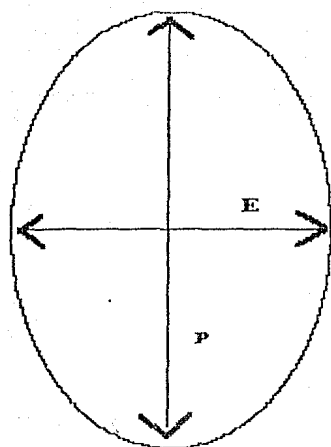


FIG. 1 Esquema del grano de polen en vista ecuatorial.
P = Eje polar, E = Eje ecuatorial

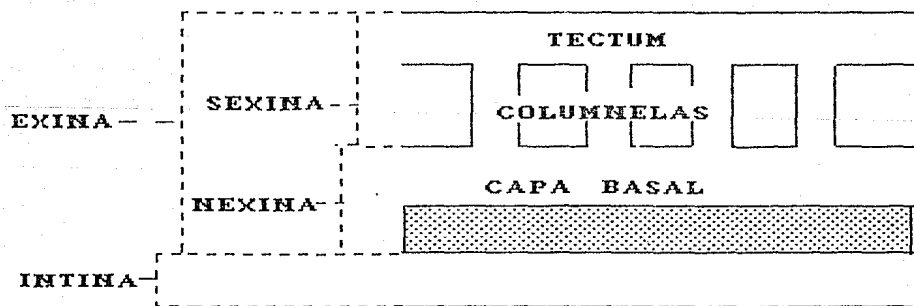


FIG. 2 Diagrama de la estratificación principal de la exina.
(Faegri e Iversen).

Esta última presenta, en su parte superior, un techo ó tectum con una ornamentación variada consistente en poros, surcos, espinas, estrías etc. Debajo de este tectum se presentan elementos estructurales con un arreglo radial en forma de varas, conocidas como columnelas, que pueden ser simples, bifurcadas ó en forma de granulos (Faegri e Iversen, 1975; Walker & Doyle, 1975; Gibson & Nobel, 1986).

Las características microscópicas, presentes en la exina del polen, han sido utilizadas por los estudiosos de la filogenia y de la sistemática taxonómica, debido a su amplia distribución, exina resistente, y por ser más conservativos que los órganos vegetativos. Se considera además, que los órganos reproductores son, particularmente, más útiles desde el punto de vista botánico para la taxonomía, que los órganos vegetativos debido a que los primeros se ven menos influenciados por las condiciones ecológicas cambiantes (Erdtman, 1952; Tsukada, 1964, Leuemberger, 1976; Nowicke y Skvarla, 1979; Ferguson and Strachn, 1982).

El uso del microscopio electrónico de barrido (MEB) ha resultado ser de gran importancia para el estudio morfológico del polen (Martin, 1969). En primer lugar, debido al aumento que se obtiene, es posible identificar muchas características en el polen y progresar en la detección de rasgos no bien conocidos y de aquellos nunca vistos tales como: perforaciones y proyecciones de una décima de micra ó menos de diámetro, que pueden ser contados y

medidos, además la resolución de aproximadamente 60 A°, es la requerida para estudios palinológicos. En segundo lugar la preparación del material resulta menos complicada en comparación con las técnicas requeridas para el microscopio electrónico de transmisión (MET). Uno de los aspectos más útiles es que el efecto tridimensional, producido por el instrumento sirve, entre otras cosas, para producir fotografías de stereo-pares. Sin embargo, la principal ventaja es su gran profundidad de foco, que permite observar satisfactoriamente especímenes con prominente ornamentación ó marcada superficie en relieve como el polen.

No obstante el MET también ha tenido gran aplicación en el estudio de granos de polen, principalmente en estudios de fisiología y ontogenia donde el citoplasma del polen es analizado, junto con la fina estructura de la exina (Heslop-Harrison, 1968). Sin embargo, este método de estudio tiene varias desventajas. La primera de ellas es que la preparación de los cortes requiere de un procedimiento largo, el cual produce inevitablemente, el riesgo de distorsión del espécimen. Pero la principal desventaja es que, debido a que el MET requiere cortes muy delgados (generalmente entre 600 a 900 A°), y a que aunque el MET es capaz de producir altos aumentos, el mínimo aumento obtenible es del orden de 2000 a 3000x. Bajo estas circunstancias, se presenta la dificultad de interpretación de la imagen obtenida en este instrumento, para relacionarla con la imagen global del grano de polen, por lo que no es posible distinguir estructuras relativas a su morfología.

Entre las Angiospermas, la familia de las Cactáceas está ampliamente desarrollada en América. México es el país que alberga el mayor número de Cactáceas (559 especies), las cuales están distribuidas, esencialmente, en regiones áridas y semiáridas (Hernández y Godínez, 1993). Son de gran importancia económica particularmente como alimento para el hombre y el ganado.

La investigación taxonómica de las Cactáceas comenzó a desarrollarse a fines del siglo XIX: Schuman (1899 y 1901) publica dos obras especializadas en esta materia, Britton & Rose entre 1919 y 1923 (en Bravo-Hollis, 1978) editan la monografía "The Cactaceae" que llegó a ser lo más moderno en clasificación; Backberg entre 1958-1962 (en Bravo-Hollis, 1978) publica varios volúmenes acerca del tema, Buxbaum entre 1950 y 1958 (en Bravo-Hollis, 1978) elabora una base morfológica y anatómica para la clasificación de las Cactáceas, ultimamente Taylor (1980 y 1983) ha realizado trabajos acerca de la taxonomía de los generos Ferocactus y Stenocactus.

En la actualidad las Cactáceas enfrentan muchos problemas de taxonomía y la posición sistemática de muchos géneros necesita esclarecerse. Esto es debido a que la familia Cactaceae ha estado sujeta a variaciones dentro de las categorías superiores a ella. De igual manera, las categorías taxonómicas que la integran han experimentado cambios en su clasificación motivados, principalmente, por conceptos científicos y filosóficos (primero linneanos, después filogenéticos y actualmente con tendencia

biológica), así como, por la diversidad de características anatómicas que los cactólogos han elegido para elaborar sus sistemas de clasificación. Además, en varias obras existen descripciones defectuosas debido a errores de interpretación, hechas por horticultores no botánicos. Entre estos errores, cometidos durante el manejo comercial de las especies, se tiene el de haber considerado como especies, los diferentes estados juveniles maduros y seniles de una especie (Meyran, 1972; Bravo-Hollis, 1983; Taylor, 1983).

Los géneros Stenocactus (K. Schum) y Ferocactus (B. & R.), con aproximadamente 7 y 20 especies, respectivamente son miembros de la familia *Cactaceae* y son esencialmente endémicos de México. Las especies de Stenocactus son, generalmente, muy pequeñas y caracterizados por tener costillas delgadas, numerosas y onduladas a excepción de Stenocactus coptoconus especie tipo del género que carece de costillas onduladas, además de otras características que han llevado a postular, que este género está íntimamente relacionado con el género Ferocactus y que ambos deben ser incluidos en Ferocactus (Taylor, 1978, 1980).

Los estudios palinológicos en Cactáceas han sido relegados por la mayoría investigadores. Sin embargo, entre los estudios realizados pueden citarse los de; Kurtz, 1948; Tzukada, 1964; Leuemberger, 1976; Kurtz y Leuemberger, 1976. Estos trabajos indican, entre otros aspectos, que el género, subgénero y algunas

veces las especies, pueden ser definidas por las características del polen como: tamaño escultura y estructura de su exina, número y posición de aberturas en el polen etc. Pocos estudios han sido hechos en el MEB y, entre las escasas electromicrografías publicadas, están las de Larson et al., 1962; Larson, 1964; principalmente acerca del polen de Pereskia; Martin (1969), quien presenta una colección de fotomicrografías de 79 especies de polen; Anderson y Stone (1971) sobre el polen de Lophophora; Nowicke and Skvarla (1979) que presentan fotos de 650 especies del orden Centrospermae.

La taxonomía vegetal contemporánea está basada en los patrones de variación morfológica de estructuras microscópicas. Sin embargo, es necesario realizar estudios más detallados como los químicos, citogenéticos y palinológicos que ayuden a aclarar la verdadera posición taxonómica de los taxa. En este trabajo se pretende estudiar la morfología externa de la exina, así como su estratificación en granos de polen de Stenocactus y Ferocactus mediante: acetólisis (Erdtman, 1952), fractura (Hideus et Marceu, 1972) y el procesamiento convencional para el MEB, describiéndolos mediante terminología taxonómica de granos de polen basados en trabajos de Erdtman (1952), Faegri e Iversen (1964), con el fin de realizar un análisis comparativo de ambos géneros, que contribuya a definir su posición taxonómica.

III. OBJETIVOS.

Determinar la longitud del eje polar y ecuatorial en granos de polen de algunas especies de los géneros de Stenocactus y Ferocactus (Cactaceae) mediante el uso del microscopio de luz para obtener la relación P/E y así determinar su forma.

Utilizando el MEB, llevar a cabo un estudio estructural y de la morfología externa, efectuando conteos y mediciones de la ornamentación que se observe en los granos de polen de los géneros Stenocactus y Ferocactus (Cactaceae), para describir de manera precisa su morfología, con el auxilio de terminología palinológica.

Llevar a cabo un estudio satisfactorio de la morfología de la estratificación en la exina del polen de los géneros Stenocactus y Ferocactus, familia Cactaceae, mediante su fractura a través del método por acetólisis fuerte y su observación en el MEB.

Realizar un análisis comparativo de la morfología externa e interna de los granos de polen de Stenocactus y Ferocactus (Cactaceae) utilizando las micrografías obtenidas mediante el MEB, con el objeto de contribuir a esclarecer su posición taxonómica.

IV. METODOLOGIA.

En el presente trabajo se han utilizado granos de polen de las siguientes especies de la familia *Cactaceae*, provenientes de material depositado en el Herbario Nacional de México en el Insituto de Biología (MEXU; Apéndice 1):

- Stenocactus sp.₁ (Hernández et al. 1704, MEXU).
- Stenocactus sp.₂ (Hernández et al. 1696, MEXU).
- Stenocactus sp.₃ (Hernández et al. 1786, MEXU).
- Stenocactus sp.₄ (Hernández et al. 1786, MEXU).
- Stenocactus sp.₅ (Hernández et al. 1831, MEXU).
- Ferocactus pilosus (Galeotti ex Salm-Dick) Werdem.
- Ferocactus uncinatus (Galeotti) Britton et Rose.
- Ferocactus histrix (DC) Glindsay.

Para eliminar el contenido celular y la pared de celulosa (intina), el material biológico fué primero sometido a acetólisis según la técnica descrita por Erdtman (1952) . Este procedimiento permite un exámen satisfactorio de las características de la exina.

Técnica de Acetólisis según Erdtman (1952).

Anteras con granos de polen de Stenocactus y Ferocactus fueron colocados en tubos de centrifuga y macerados en ácido acético glacial. Las muestras se centrifugaron con ácido acético glacial durante cinco minutos tres veces, decantando el ácido acético en cada cambio. Enseguida se preparó la mezcla acetolítica, agregando anhídrido acético (CH_3CO_2) y ácido sulfúrico concentrado (H_2SO_4) en proporción (9:1). Esta mezcla se agregó al material biológico y se calentó a baño maría a 70°C durante 10 min, agitando esporádicamente y manteniendo constante la temperatura. La reacción química se inhibió agregando ácido acético glacial. Se centrifugó y decantó la mezcla de acetólisis sobrenadante; se centrifugó dos veces más con ácido acético glacial durante 5 min, decantando el sobrenadante. Se lavó con agua destilada tres veces, centrifugando y decantando el sobrenadante. El material se hizo pasar a través de un tamiz para eliminar los restos orgánicos, lavando con agua destilada. Por último se centrifugó y se eliminó el sobrenadante; el material acetolizado fue conservado en etanol al 50%.

Fractura de granos de polen

Algunos granos de polen fueron sometidos a una acetólisis más fuerte que la originalmente descrita. Para esto, previamente se realizó la acetólisis aumentando el tiempo de la misma. Los tiempos aplicados fueron los siguientes: 10 min 10 seg, 10 min 20 seg, 10 min 30 seg, 10 min 40 seg, 10 min 50 seg, 11 min y 11 min 10 seg. Para observar la estratificación de la exina en el MEB, los granos de polen fueron fracturados, sometiéndolos durante 11 minutos a la acetólisis, tiempo en el cual se obtuvo la cantidad suficiente y adecuada fractura de los mismos.

MICROSCOPIA OPTICA.

Otra parte del polen acetolizado fué montado en preparaciones permanentes y examinados al microscopio óptico.

Técnica para preparaciones permanentes (Erdtman (1952)).

El polen acetolizado y conservado en etanol fué lavado con agua destilada, centrifugando y decantando el sobrenadante. Se agregó una gota de éste material sobre un cubreobjetos, en el que previamente se colocó un trozo pequeño de gelatina glicerizada fundida por calentamiento; se mezcló con un palillo de madera; enseguida se cubrió con un portaobjetos; se dejó secar la preparación por dos días y se selló con barniz.

Análisis de las preparaciones permanentes al microscopio de luz.

Las preparaciones permanentes, fueron observadas en un microscopio óptico Carl Zeiss a aumentos 60x y 100x, utilizando las técnicas de contraste de fases y la técnica de luz-oscuridad (L.O.). Esta última descrita por Erdtman (1952) consiste principalmente en el ajuste del foco en el microscopio, empezando desde la parte superior de una estructura ornamental y continuando con un progresivo desenfoque. Además se efectuaron veinte mediciones utilizando un ocular graduado, de cada uno de los siguientes parámetros en cada una de las especies: longitud del eje

polar, longitud del eje ecuatorial, grosor de las cubiertas exina, sexina y nexina. Los datos obtenidos fueron procesados estadísticamente para obtener la media aritmética y la desviación estándar.

MICROSCOPIA DE BARRIDO

Otra parte del material acetolizado fué sometido al tratamiento convencional para microscopio electrónico de barrido.

Preparacion del material biológico para el MEB descrita por Boyde (1972).

En primer lugar el agua presente en el polen acetolizado fué eliminada por medio de desecación a punto crítico (P.C.) en una secadora de P.C. Samdri-780 A.

Secado al punto critico (P.C.). El material biológico colocado previamente en etanol al 50% se colocó en un pedazo pequeño de cubreobjetos; este se envolvió en papel seda; colocando el paquetito en la cámara secadora con suficiente acetona de manera que quedara embebido en ella. Se procedió a cerrar la cámara y se llenó con CO₂ líquido, manteniendo la temperatura a 0° C. Se realizaron varios lavados con CO₂ y se llevó a la temperatura y presión crítica del CO₂ que corresponde a 31 °C y 1073 lb/pulg² respectivamente, estas condiciones se mantuvieron durante 10 min.

El material deshidratado se colocó en un portamuestra etiquetándolo e indicando la clave de la especie de que se trataba y fué cubierto con carbón y oro, para proteger y hacer a la muestra conductiva.

Cubierta con carbón.

Los portamuestras con el material biológico fueron cubiertos con carbón en una evaporadora (JEOL JEE-4B/4C), aplicando una corriente de 30 mA, durante un minuto.

Cubierta con oro.

Las muestras cubiertas con carbón fueron colocadas en una cubridora fina ion sputter JEOL JFC-1100. El cubrimiento con oro se realizó a un voltaje de 1200 V, durante 6 min.

Observación en el MEB.

Las muestras se observaron en un microscopio electrónico de barrido JEOL JSM-35 C, operado con las siguientes condiciones de trabajo: un voltaje de aceleración de 25 KV y distancia de trabajo de 15 mm. Se realizó la descripción de las características taxonómicas de los granos de polen, utilizando terminología específica para los mismos. (Erdtman, 1952; Faegri e Iversen, 1964).

V. RESULTADOS.

Con base en la información proporcionada por el MEB y el microscopio de luz, se elaboraron las siguientes descripciones genéricas:

Género Stenocactus.

Asociación, polaridad, simetría: monada, isopolar y radiosimétrico respectivamente (Fig. 3 y 5). La forma del polen tendió a ser esencialmente esferoidal variando de oblado a prolado (tabla 1). Su tamaño (basándose en la longitud del eje más largo del polen) varió entre 43.7 a 53.9 μm (tabla 1). Como puede verse en la Fig. 5, el polen muestra tres aperturas en forma de surcos que lo clasifican como tricolpado. La exina de tipo tectada presentó perforaciones y microespinas (tabla 2, Fig. 7 A-E) con una densidad de 4 a 6 por μm^2 y de 3 a 6 por μm^2 respectivamente. La estratificación de la exina consistió de dos envolturas: la sexina formada de columnelas simples, que se unen en su parte distal formando un techo (tectum) y una nexina más delgada constituida de una sola cubierta interna, que no presentó capa basal (tabla 1, Fig. 9A-E).

Género Ferocactus.

Asociación, polaridad, simetría: monada, isopolar y radiosimétrico respectivamente (Fig. 4 y 6). La forma del polen fué esferoidal variando entre oblado a prolado (tabla 1), el tamaño estuvo en la escala de 48.8 - 57.7 μm . Grano tricolpado con aperturas en forma de surcos como se muestra en las Figs. 6 A-C. Exina tectada, con perforaciones (3 por μm^2) y microespinas (2 a 3 por μm^2) en su superficie (Fig. 8 A-C). La estructura de la pared muestra a la sexina formada de columnelas simples y nexina más delgada, que comprende una sola cubierta, careciendo de capa basal (tabla 1, Fig. 10 A-C).

ANALISIS COMPARTIVO.

Las observaciones realizadas principalmente a través del MEB muestran, que las características palinológicas de los géneros Stenocactus y Ferocactus, son notablemente uniformes, lo cual es una evidencia adicional de la estrecha relación filogenética entre ambos (Taylor, 1980). Aunque existe cierto grado de variación en algunos caracteres (tamaño y forma), esta no sigue un patrón consistente con la taxonomía, así por ejemplo:

1. El tamaño del polen varió desde 43 hasta, aproximadamente, 58 μm (tabla 1). Ordenados de mayor a menor tamaño se enlistan a continuación: Ferocactus histrix, Stenocactus sp₁, Ferocactus pilosus, Stenocactus sp₃, Ferocactus uncinatus, Stenocactus sp₂, Stenocactus sp₄ y Stenocactus sp₅.

2. La forma del polen, en algunas especies, fué esferoidal prolado y en otras esferoidal oblado (tabla 1). Así en el género Stenocactus las especies # 1, # 3 y # 4, tendieron a ser más alargados hacia los polos (prolados), por el contrario las especies 2 y 5 del género Stenocactus fueron más alargados en el eje ecuatorial (oblados). En Ferocactus, solo una de las especies, Ferocactus histrix resultó ser más alargado hacia el eje polar y las otras dos Ferocactus uncinatus y Ferocactus pilosus, lo fueron hacia el eje ecuatorial.

El único caracter en el que si se observó una diferencia consistente fué en la escultura del tectum. Donde se encontró disimilitud entre Stenocactus y Ferocactus, en la densidad de perforaciones y microespinas, así como en el diámetro de las primeras. Como puede verse en la tabla # 2, el género Stenocactus presentó mayor cantidad de perforaciones y microespinas que el genero Ferocactus, además, el tamaño de las perforaciones fueron relativamente más grandes en este último.

VI. DISCUSION Y CONCLUSION.

Las principales características palinológicas utilizadas para este estudio comparativo, entre algunas especies de los géneros de Stenocactus y Ferocactus fueron: la forma, tamaño del polen, polaridad, simetría, unidad del polen, tipo de apertura, arquitectura de la pared y estructura de la exina. Esto fué posible con ayuda del MEB, debido a su gran escala de aumento, considerable profundidad de foco, la capacidad para mostrar la superficie con elementos esculturales. Además, el MEB suministró la posibilidad de una interpretación clara de los datos, un tanto ambiguos, obtenidos a través del microscopio de luz usando la técnica de L.O. y, por último, el estudio con el MEB en los granos de polen fracturados, permitió una vista tridimensional de la estructura de la pared interna.

La forma del polen en los géneros examinados (tabla 1), de acuerdo a la clasificación tomada de Walker & Doyle (1975), fué: esferoidal prolado en tres especies de Stenocactus y en dos especies del género Ferocactus. Esferoidal oblado en dos especies de Stenocactus y en una del género Ferocactus.

Los granos de polen de las Angiospermas, exhiben una gama de tamaños desde 2 a 5 μm hasta aproximadamente 300 μm . El polen

estudiado quedó incluido en la escala de 40 a 58 μm , situándose en la clase de polen con tamaño mediano, según la clasificación que citan Walker & Doyle (1975).

La exina del polen, en ambos géneros estudiados, consistió de: nexina, sexina constituida por columnelas en forma de varas y un tectum semejante a un techo con perforaciones, que lo clasifican como polen tectado-perforado. El tectum presentó una doble escultura, pues además de las perforaciones, se observaron microespinas. Con respecto a la estratificación de la exina, es importante mencionar que en muchos taxa se observa una cubierta llamada capa basal (fig. 2), incluida dentro de la envoltura denominada nexina. Sin embargo, en el polen de los géneros analizados, esta capa basal no se presenta, solo se observa una cubierta, en la base de las columnelas que corresponde a la nexina (figs. 7 y 8). Autores como Walker & Doyle (1975), mencionan que la presencia ó ausencia de esta capa basal es un caracter filogenéticamente útil. Sin embargo, es necesario realizar más análisis, para poder discutir acerca de este punto, ya que se requiere investigar las tendencias evolutivas que han tenido estos dos géneros, en relación a la estructura de la exina.

La morfología del polen y estructura de su pared , semejante en los géneros examinados (tabla 1 y 2), confirma la relación cercana entre Stenocactus y Ferocactus que postuló Taylor (1980), quien menciona que existe una cercana afinidad entre los géneros Stenocactus y Ferocactus, a tal grado que propone que Stenocactus debe ser incluido en el género Ferocactus como subgénero de éste.

En general, se considera que los granos de polen de las Cactáceas, a pesar de tener tamaños y formas diversos, presentan características poco más ó menos constantes en cada especie, las cuales permiten definir el género, subgénero y algunas veces las especies. Sin embargo, se considera necesario estudiar, palinológicamente, un numero mayor de especies de los géneros Stenocactus y Ferocactus, así como de otros generos afines (por ejemplo: Scleorocactus, Leuchtenbergia, etc.) y complementar estos estudios con analisis microestructurales de semilla. Debido a que, en la práctica, una clasificación basada sólo en la morfología de los granos de polen es impráctica, pues se ha encontrado que algunos géneros presentan una alta variabilidad en las características palinológicas de sus especies (Bravo-Hollis-1978). Así, la información obtenida en este trabajo y estudios adicionales, permitiran reunir los datos suficientes que ayuden a definir, con precisión, la posición taxonómica de Stenocactus y Ferocactus.

DESCRIPCION DE FIGURAS

Fig. 3 y 4. Granos de polen de los géneros Stenocactus y Ferocactus respectivamente, en vista ecuatorial. Se observa su forma esferoidal ligeramente alargada y uno de sus tres colpos (c).

Fig. 3. Genero Stenocactus. A) Stenocactus sp₁. (2,700 x) muestra la membrana (m) de tipo granular que cubre el colpo. B) Stenocactus sp₂ (2,700 x), se observan las perforaciones (flecha) en el tectum. C) Stenocactus sp₃ (3,000 x). D) Stenocactus sp₄ (4,200 x). E) Stenocactus sp₅ (3,600 x), se distinguen las perforaciones en el tectum y restos de la membrana granular (m) en el colpo (c).

Fig. 4. Genero Ferocactus. A) Ferocactus pilosus (2,850 x). B) Ferocactus histrix (3,200 x). C) Ferocactus uncinatus (3,860 x), se detectan las perforaciones (flecha) de su ornamentación.

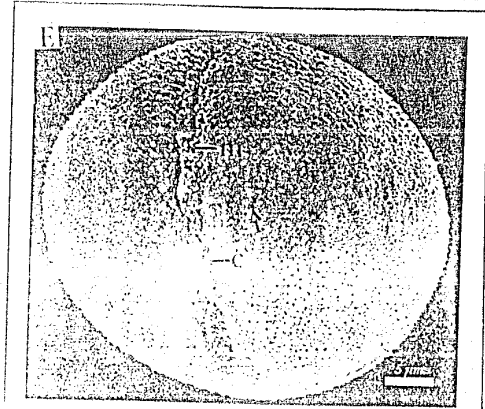
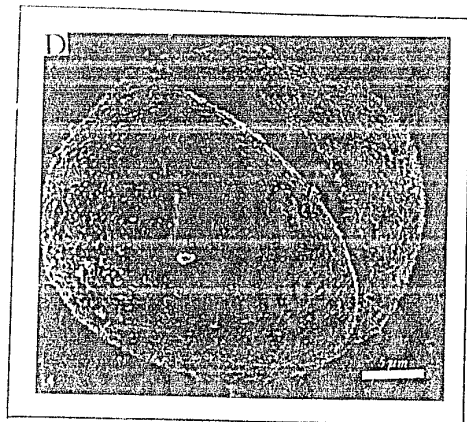
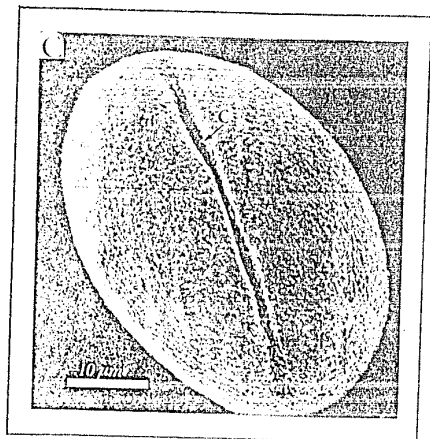
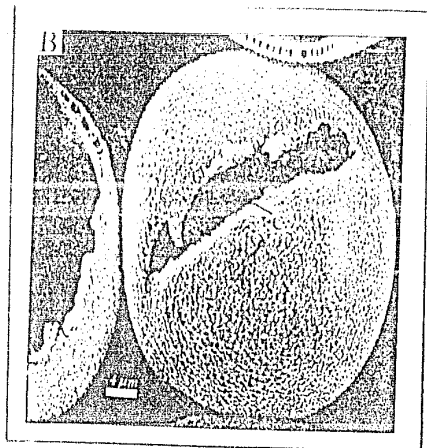
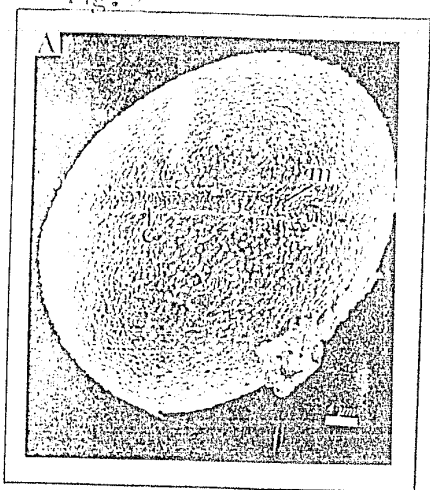
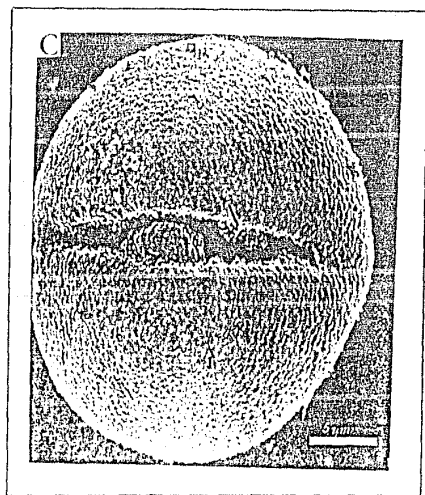
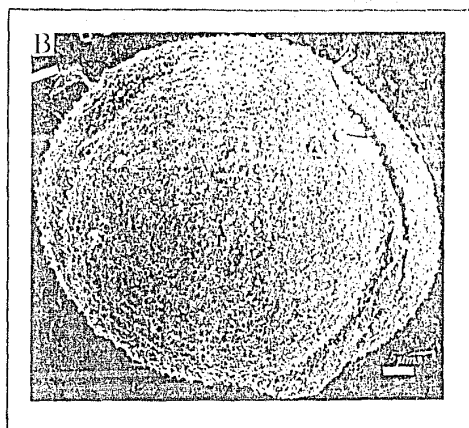
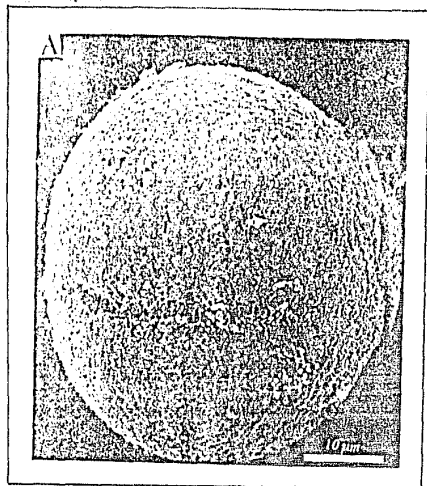


Fig. 4



DESCRIPCION DE FIGURAS

Fig. 5 y 6. Granos de polen de los generos Stenocactus y Ferocactus respectivamente en vista polar. Mostrando los tres colpos. Colpo (c).

Fig. 5. Genero Stenocactus. A) Stenocactus sp₁ (2,470 x). B) Stenocactus sp₂ (2,880 x) se alcanzan a observar las perforaciones (flecha) y microespinas (cabeza de flecha) que forman su ornamentación. C) Stenocactus sp₃ (2,470 x). D) Stenocactus sp₄ (4,200 x). E) Stenocactus sp₅ (3,600 x).

Fig. 6. Genero Ferocactus. A) Ferocactus pilosus (2,600 x), se percibe la escultura de su superficie con perforaciones (flecha) y microespinas (cabeza de flecha), al igual que en B) Ferocactus histrix (2,850 x). C) Ferocactus uncinatus (2,470 x) se observa la membrana granular (m) en el colpo y su aspecto tricolpado.

Fig. 5

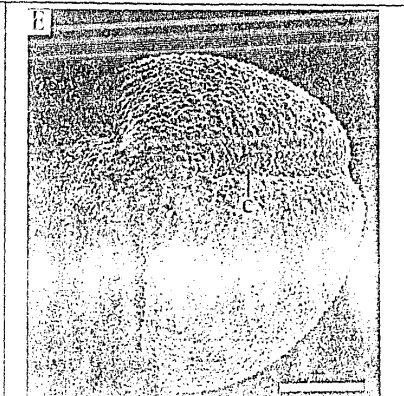
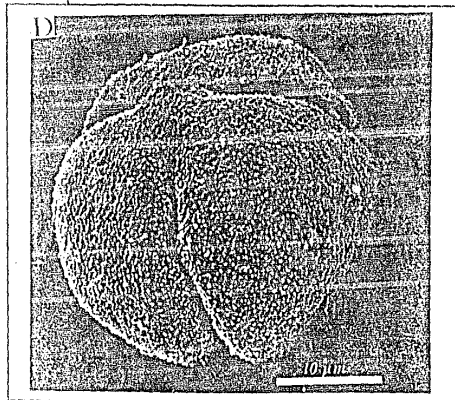
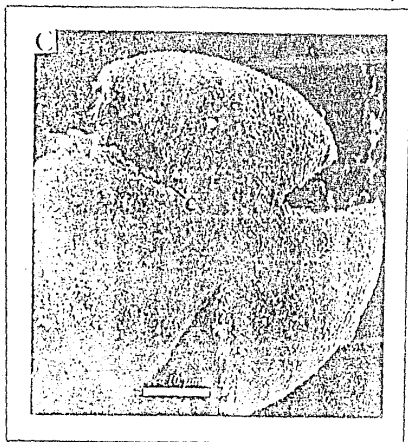
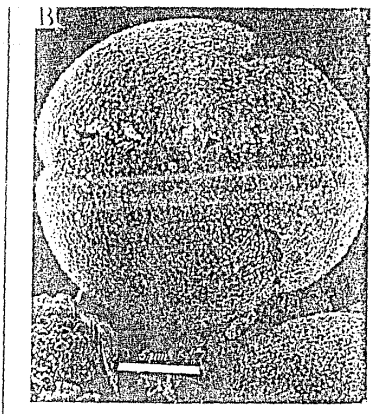
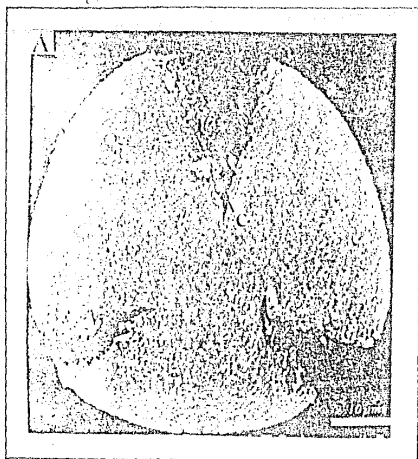
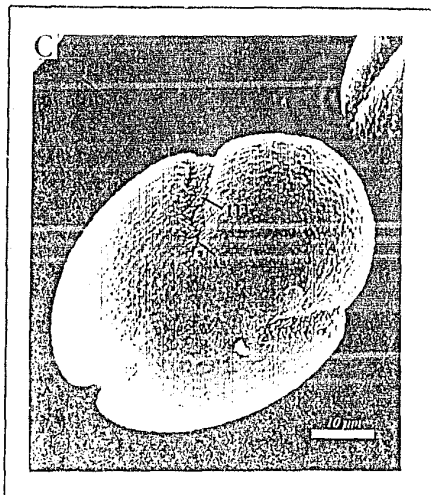
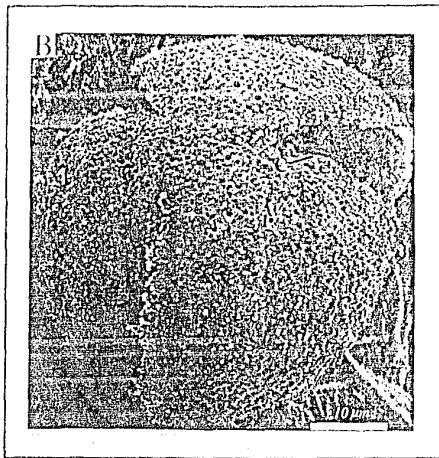
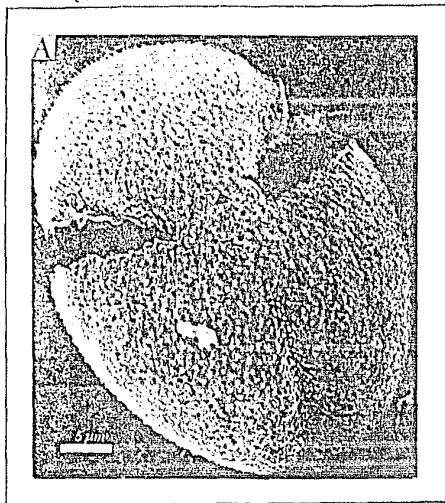


Fig. 6



DESCRIPCION DE FIGURAS

Fig. 7 y 8. Superficie de la exina en granos de polen de los generos Stenocactus y Ferocactus, se muestra en las micrografías su ornamentación, consistente en microespinas (cabeza de flecha) y perforaciones (flecha) de tamaño variable.

Fig. 7. Genero Stenocactus. A) Stenocactus sp₁ (19,000 x), se muestra la membrana (m) persistente a la acetólisis de tipo granular que cubre el colpo. B) Stenocactus sp₂ (7,200 x) C) Stenocactus sp₃ (20,160 x). D) Stenocactus sp₄ (18,000 x), E) Stenocactus sp₅ (20,000 x) se observan perforaciones (flecha) redondas y alargadas.

Fig. 8. Genero Ferocactus A) Ferocactus pilosus (20,000 x) B) Ferocactus histrix (17,000 x) se aprecia en su ornamentación perforaciones de forma variable y microespinas con aspecto verrugoso. C) Ferocactus uncinatus (20,000 x).

Fig. 7

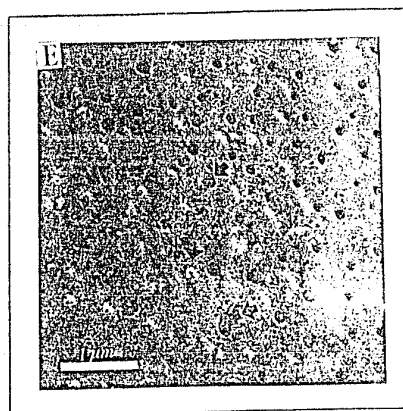
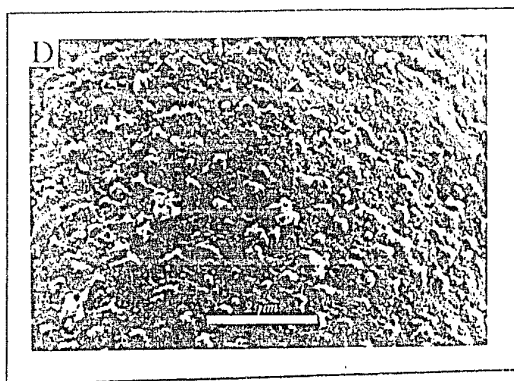
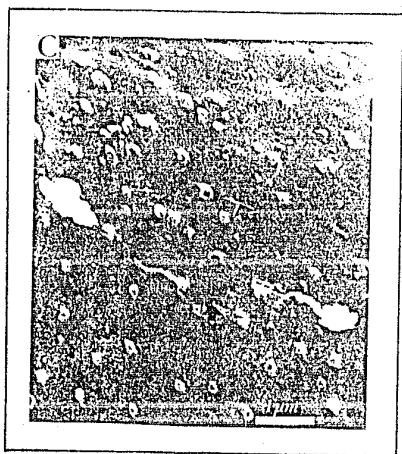
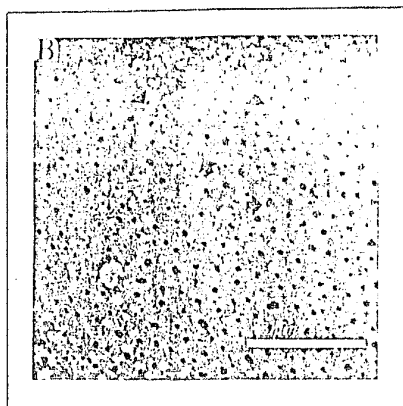
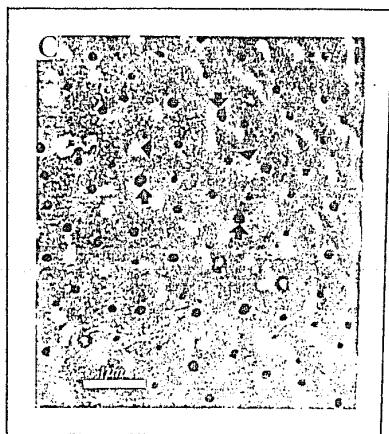
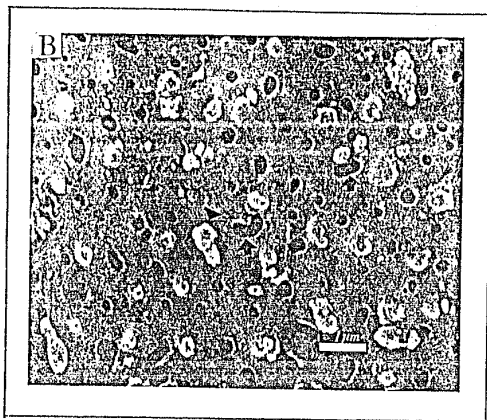
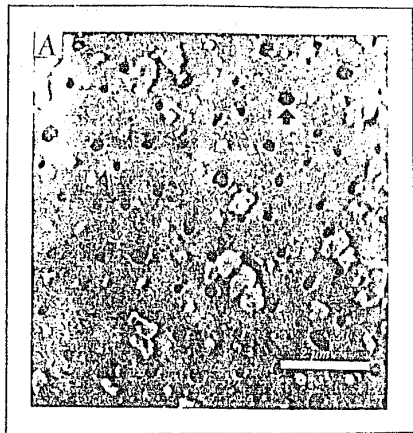


Fig. 8



DESCRIPCION DE FIGURAS

Fig. 9 y 10. Vista transversal de granos de polen fracturados por medio de acetólisis fuerte. Se observan las columnelas (flecha) con arreglo radial y fusionadas por su extremo superior ó cabeza, formando una especie de puente entre ellas, dando lugar a un tectum (t), más ó menos continuo pues presenta perforaciones. Se aprecia también el grosor mucho mayor de la capa superior de la exina; la sexina (se) (que abarca desde la superficie hasta donde comienza la base de las columnelas) en comparación con la interna ó nexina (ne).

Fig. 9. Genero Stenocactus A) Stenocactus sp₁ (10,560 x). B) Stenocactus sp.₂ (17,000 x). C) Stenocactus sp₃ (17,000 x). D) Stenocactus sp₄ (24,000 x). E) Stenocactus sp₅ (20,000 x).

Fig. 10. Genero Ferocactus A) Ferocactus pilosus (15,000 x). B) Ferocactus histrix (18,700 x). C) Ferocactus uncinatus (27,000 x).

Fig. 9

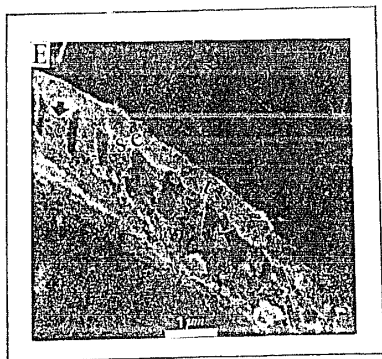
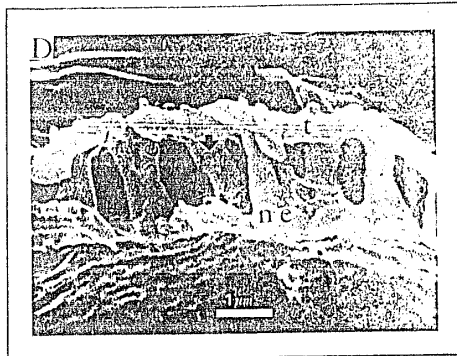
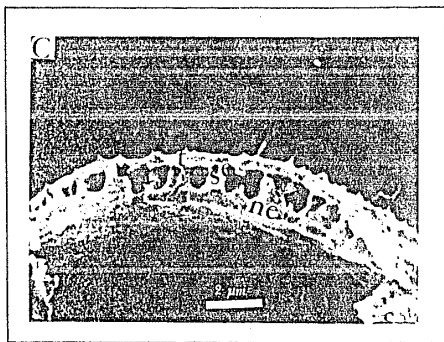
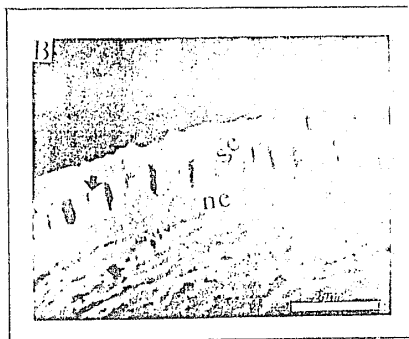
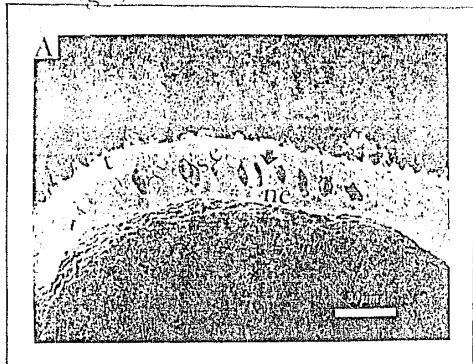


Fig.10

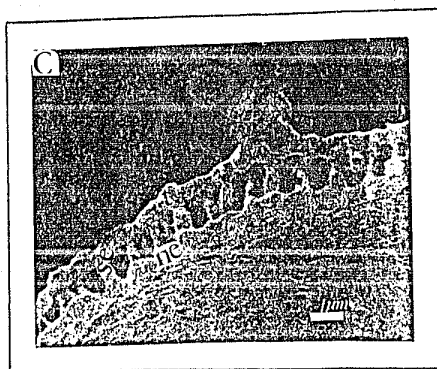
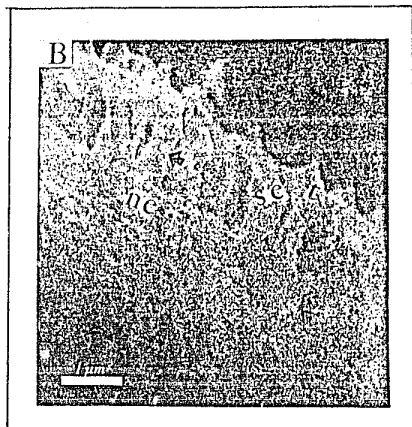
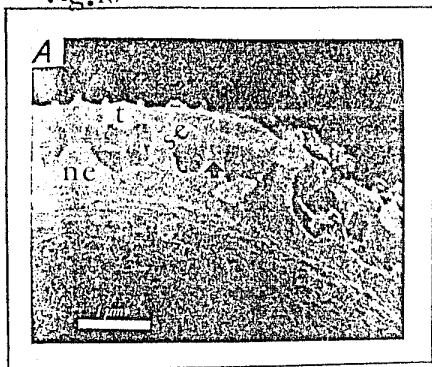


TABLA No. 1. DATOS OBTENIDOS DEL ANALISIS REALIZADO EN GRANOS DE POLEN A TRAVES DEL MICROSCOPIO DE LUZ (EXPRESADOS EN MICRAS).

ESPECIE	GROSOR ($\bar{X} \pm \sigma$)			EJE POLAR $\bar{X} \pm \sigma$	EJE ECUATORIAL $\bar{X} \pm \sigma$	INDICE P/E	FORMA
	EXINA	SEXINA	NEXINA				
<u>Stenocactus</u> sp1	2.65 ± 0.34	2.37 ± 0	0.28 ± 0	53.93 ± 1.93	53.16 ± 3.09	1.01	*A
<u>Stenocactus</u> sp2	1.96 ± 0.39	1.80 ± 0	0.16 ± 0	42.62 ± 1.10	45.47 ± 2.48	0.93	*B
<u>Stenocactus</u> sp3	2.93 ± 0.33	2.77 ± 0	0.16 ± 0	50.40 ± 2.03	49.01 ± 3.60	1.08	A
<u>Stenocactus</u> sp4	2.93 ± 0.33	2.77 ± 0	0.16 ± 0	43.70 ± 2.22	42.80 ± 2.68	1.02	A
<u>Stenocactus</u> sp5	2.33 ± 0.18	2.17 ± 0	0.16 ± 0	40.80 ± 2.72	43.74 ± 2.20	0.93	B
<u>Ferocactus pilosus</u>	2.91 ± 0.34	2.75 ± 0	0.16 ± 0	52.00 ± 0	52.83 ± 2.06	0.98	B
<u>Ferocactus hirtix</u>	3.20 ± 0	3.12 ± 0	0.08 ± 0	57.75 ± 3.45	55.96 ± 4.02	1.03	?
<u>Ferocactus uncinatus</u>	2.49 ± 0.17	2.33 ± 0	0.16 ± 0	48.53 ± 3.59	48.85 ± 1.34	0.99	E

*A= ESFEROIDAL PROLADO

*B= ESFEROIDAL OBLADO

TABLA No. 2. Distribución y tamaño de algunos rasgos externos relacionados con la ornamentación de la exina observada a través del MEB.

Especie	Perforaciones por $\mu\text{m}^2 \pm \sigma$	Diámetro perforaciones en $\mu\text{m} \pm \sigma$	Microespinas por $\mu\text{m}^2 \pm \sigma$
<u>Stenocactus</u> sp ₁	5 \pm 0.48	0.12 \pm 0.02	4 \pm 0.24
<u>Stenocactus</u> sp ₂	6 \pm 0.40	0.20 \pm 0.05	6 \pm 0.52
<u>Stenocactus</u> sp ₃	4 \pm 0.37	0.16 \pm 0.03	4 \pm 0.40
<u>Stenocactus</u> sp ₄	4 \pm 0.20	0.11 \pm 0.02	4 \pm 0.40
<u>Stenocactus</u> sp ₅	6 \pm 0.48	0.21 \pm 0.06	3 \pm 0.48
<u>Ferocactus</u> <u>pilosus</u>	3 \pm 0.44	0.27 \pm 0.09	3 \pm 0.40
<u>Ferocactus</u> <u>histris</u>	3 \pm 0.48	0.41 \pm 0.12	2 \pm 0.48
<u>Ferocactus</u> <u>uncinatus</u>	3 \pm 0.48	0.16 \pm 0.03	2 \pm 0.42

VII. APENDICE.

Datos de colecta de las especies del genero Stenocactus y Ferocactus de la familia Cactaceae.

Stenocactus sp.₁ (Hernández et al 1704, MEXU).

Municipio Candereya, Querétaro, a un kilómetro de la carretera Candereyta-Vizarron. Localización geográfica 20, 45' N; 99° 42' W. Diagnósis. Cuerpo cespitoso simple, tallos globosos a subcilíndricos; flores con segmentos externos color guinda con bordes más ó menos blancos, segmentos internos color lila ó blanco, lila ó rosa con bordes rosa ó blanco.

Stenocactus sp.₂ (Hernández et al 1696, MEXU).

Municipio San Juan del Río a 38 km SW de San Juan del Río por autopista México-Qro. Localización geográfica 20 ° 22' N; 99 ° W. Diagnósis. Tallos simples más ó menos globosos de hasta 12 cm de diámetro, segmentos externos e internos color guinda con borde blanco.

Stenocactus sp, (Hernández et al 1786, MEXU)

Municipio San Luis de la Paz a 1 km de la carretera de San Luis de la Paz-Victoria por camino de terracería a Ortega, Guanajuato.

Stenocactus sp, (Hernández et al 1633, MEXU).

Municipio Gpe. a 2 km de la desviación sobre la carretera de San Luis Potosi-Zacatecas a 65 km W de Salinas, S.L.P. Localización geográfica 22 ° 44' N; 102 ° 21' W. Diagnósis. Tallos globosos de hasta 10 cm de diámetro, flores con segmentos externos de color amarillo con guías de color guinda; segmentos internos de color amarillo pálido; ocasionalmente la garganta de la flor de color rosa.

Stenocactus sp, (Hernández et al 1831, MEXU).

Municipio Ahualco a 19 km al norte de la carretera de San Luis Potosi-Zacatecas por la carretera Venado. Localización geográfica 22° 27' N; 101 ° 09' W. Diagnósis. Cuerpo simple, tallos globosos de aproximadamente 10 cm de diámetro, flores con segmentos externos color guinda con bordes amarillos, segmentos internos amarillos con guía de color guinda.

Ferocactus pilosus (Galeotti ex Salm-Dick) Werdem (Hernández et al 1799) Municipio Guadalcazar a 105 km al norte de San Luis Potosi por carretera a Matehuala del entronque Huizache. Localización geográfica 23 ° 01' N; 100 ° 29' W. Diagnósis. Cuerpo simple ó cespitoso con tallos cilindricos de más ó menos un metro de alto por 25 cm de diámetro, flores con segmentos anaranjados.

Ferocactus histrix (DC) Glindsay (Hernández et al 1829)

Municipio Ahualco a 19 km al norte de la carretera de San Luis Potosi-Zacatecas por la carretera Venado. Localización geográfica 22 ° 27' N; 101 ° 09' W. Diagnósis. Cuerpo globoso de más ó menos 40 cm de diámetro con hasta 42 costillas, flores con segmentos externos color rojo con bordes blancos y segmentos internos de color amarillo.

Ferocactus uncinatus (Galeotti) Britton et Rose (Hernández et al 1857) Municipio Matehuala a 13 km de S. Matehuala por carretera a San Luis Potosi. Localización geográfica 23 ° 32' N; 100 ° 38' W. Diagnósis. Cuerpo simple ó ramificado mas ó menos simple de 12 cm., de segmentos florares guinda con margenes color crema.

VIII. GLOSARIO.

Apertura.- Lugar por donde emerge el tubo polínico en la germinación.

Asociación.- Se refiere al tipo de agrupación que presenta el polen maduro dentro de los loculos en el estamen de la antera.

Colpo.- Un tipo de apertura, semejante a un surco alargado.

Columnela.- Elemento estructural de la sexina semejante a varas, se extiende desde la capa basal hasta el tectum.

Exina.- Cubierta externa resistente a la acetólisis que forma la pared del grano de polen.

Heteropolar.- Grano de polen cuyas caras polares son marcadamente diferentes.

Isopolar.- Grano de polen al cual el plano ecuatorial, lo divide en mitades similares.

Monada.- Granos de polen solitarios. Es decir no se presentan unidos a otros granos.

Oblado.- Grano de polen con el eje polar más corto que el ecuatorial. Es decir el polen está comprimido en su eje polar.

Perforación.- Tipo de ornamentación que consiste en huecos que penetran el tectum del polen.

Prolado.- Grano de polen con el eje polar más largo que el eje ecuatorial. Esto es el polen es comprimido en el plano ecuatorial más que en el eje polar.

Radiosimétrico.- Sinonimo. Radial.- Polen dividido en porciones simétricamente iguales, por cualquiera de los tres ó más planos verticales de simetría pasándo a través del eje polar.

Simetría.- Es la cualidad de un cuerpo el cual es capaz de ser dividido en mitades similares.

Tectado.- Se refiere al polen, cuya exina consiste de nexina, columnelas formando un techo llamado tectum.

Tectum.- Capa más ó menos continua, formada al unirse el extremo superior de las columnelas. Cuando un grano de polen presenta tectum es tectado, si carece es intectado.

Tricolpado.- Polen con tres aperturas equidistantes en forma de surcos, que son perpendiculares al ecuador.

IX. BIBLIOGRAFIA.

Anderson E. F. and Stone M., 1971. A pollen analysis of Lophophora. Cac.Succ.J. (U.S). 43: 2, 77-82.

Boyde, A., 1972. Biological specimen preparation for the scanning electron microscope an overview. Proceedings of the workshop on biological specimen preparation for scanning electron microscopy IIT Research Institute. USA. 257-264.

Bravo-Hollis, H., 1978. Las Cactáceas de Mexico. UNAM. México. 1-743 p.

Erdtman, G., 1952. Pollen morphology and plant taxonomy Angiosperms. Almq. and Wiks. Stockholm.

Fægri, K., and Iversen J., 1964. Textbook of pollen analysis Munksgard, Copenhagen. 237 p.

-----, 1975. Textbook of pollen análisis. 4a. ed. Edit. Fægri k., Kaland, P.E. and Kzzywinski K., London. 288 p.

Ferguson, I.K., R. Strachn., 1982. Pollen morphology and taxonomy of the tribe Indigofereae (Leguminosae: Papilinoidea). Pollen et Spores. 24 (2): 172-209.

Gibson, A.C. & Nobel, P.S., 1986. The Cactus Primer Harvard Univ. Press. 280 p.

Hernández, H. y Godinez, H. , 1993. Contribucion al conocimiento de las cactáceas mexicanas amenazadas. Act. Bot. Mex. (sometido).

Heslop-Harrison, J., 1968. Pollen wall development. Science. 161:230-237.

Hideux, M., Marceu, L., 1972, Techniques d' étude du pollen au MEB: methode simple de coupes. Andasonia Ser. 2 12(4):609-618.

Kurtz, E.B., Jr. 1948. Pollen grain Characters of certain Cactaceae. Bull of the Torrey Bot. Club. 75(5):516-522

Kurtz, E.B., Leuemberger, B.E., 1976. Pollen morphologu of the Cactaceae. Cactus and succulent Journal of the Great Britain. 38(4):79-94.

Larson, D.A., 1964. Further electron microscopic studies of exine structure and stratification. Grana Palynologica. 5(3): 265-276.

Larson, D.A., Skavarla, J.J., Lewis, C.W., 1962. An electron microscope study of exine stratification and fine structure. Pollen et Spores. 4(2):233-246.

Leuemberger B.E., 1976. Dissertationes botanicae die pollen morphologie der cactaceae. Un ihre Bedeutung fur die sistematik. Strauss & Cramer Gmbtl, Leutershausen, Germany.

Martin, P.S., 1969. Pollen analysis and the scannin electron microscope. Proc. 2nd. annual symp. soc. electron microscopy. III research institute. Chicago. U.S.A. 89-103 p.

Meyran, J., 1972. Estudios sobre Echinofossulocactus. Rev. Cact. Suc. Mexicanas. 22(2): 35-46.

Nowike, J. W. and. J.J. Skvarla., 1979. Pollen morphology: The potential influence in higher order systematics. Ann. Missouri. Bot. Gard. 66(4):633-700.

Schumann, K. 1899. Gesamtbeschreinbug der kakteen, monographia cactacearum. Neudam. 832 p.

Schumann, K., 1901. Chilenische kakteen. Monatsch. kakt. 110 p.

Taylor, N.P., 1978. Forum Echinofossulocactus. The Cactus and succulent Journal of Great Britain. 40:92-97.

Taylor, N.P. 1980. Ferocactus and Stenocactus united. The cactus and succulent Journal of Great Britain. 42(4):108.

Taylor, N.P., 1983. Seed-morphology and classification in Ferocactus subg. Ferocactus. Bradleya. 1:3-7.

Tsukada, M., 1964. Pollen morphology and identification. II Cactaceae. Pollen et spores. 6(1): 15-84.

Walker, W.J. and J.A. Doyle, 1975. The bases of Angiosperm phylogeny: Palynology. Ann. Missouri Bot. Gard. 62:664-723.