



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA
DE MÉXICO

FACULTAD DE CIENCIAS

Estructura del gineceo en los morfos florales de *Prockia*

krusei (Salicaceae)

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO
DE:

BIÓLOGO

P R E S E N T A:

RODRIGO VÁZQUEZ BARRÓN

DIRECTOR DE TESIS:

DRA. GUADALUPE JUDITH MÁRQUEZ
GUZMÁN



2013



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

Hoja de datos del Jurado:

1. Datos del alumno
Vázquez
Barrón
Rodrigo
52 60 24 32
Universidad Nacional Autónoma de México
Facultad de Ciencias
Biología
302112762
2. Datos del tutor
Dra.
Guadalupe Judith
Márquez
Guzmán
3. Datos del sinodal 1
Dr.
Juan Enrique
Fornoni
Agnelli
4. Datos del sinodal 2
Dr.
César Antonio
Abarca
García
5. Datos del sinodal 3
Dra.
Sonia
Vázquez
Santana
6. Datos del sinodal 4
M. en C.
Jaime
Jiménez
Ramírez
7. Datos del trabajo escrito
Estructura del gineceo en los morfos florales de *Prockia krusei* (Salicaceae)
63 p.
2013

DEDICATORIAS

Esta Tesis esta dedicada a todas las personas que me han ayudado durante mi proceso de formación. Mi familia, amigos, compañeros, profesores y conocidos, a quienes estoy muy agradecido, ya que con su ayuda, compañía, confianza, ejemplo y amor, me han inspirado a concluir mis estudios universitarios y haber llevado a término el presente trabajo.

AGRADECIMIENTOS

Al Laboratorio de Desarrollo en Plantas de la Facultad de Ciencias, UNAM.

A la Dra. Judith Márquez Guzmán por proponerme y por dirigir el presente proyecto de tesis.

A los profesores del Taller de Biología de la reproducción, propagación y fisiología de angiospermas que viven en ambientes contrastantes: Dra. Guadalupe Judith Márquez Guzmán, Dra. Margarita Collazo Ortega, M. en C. Karina Jiménez Durán, Dra. Ana Laura López Escamilla, Dra. Laura Patricia Olguín Santos y Dra. Sonia Vázquez Santana por las sugerencias y comentarios durante la realización de la tesis.

A M. en C. Mónica Karina Pérez Pacheco y M. en C. Ricardo Wong, por la ayuda en las practicas de campo y el trabajo de laboratorio.

Al jurado, conformado por Dr. Juan Enrique Fornoni Agnelli, Dr. César Antonio Abarca García, Dra. Sonia Vázquez Santana y M. en C. Jaime Jiménez Ramírez por la revisión y los comentarios que enriquecieron este trabajo.

ÍNDICE

Resumen	7
Inroducción	9
Antecedentes	11
• Familia Salicaceae.....	11
• Género <i>Prockia</i>	11
• <i>Prockia krusei</i>	12
• Observaciones de campo	13
• Sistemas de reproducción en plantas.....	14
• Evolución al dioicismo	17
• El androdioicismo	18
• La flor	25
• El gineceo.....	27
• El estigma.....	28
• El estilo	28
• El ovario	29
• Los óvulos	31
• El saco embrionario	32
Justificación	33
Objetivos	33
• General	33
• Particulares	33
Materiales y métodos	34
• Sitio de colecta	34
• Fijación	34
• Inclusión en LR-White.....	35
• Microscopía electrónica de barrido	35
Resultados	37
• El estigma	38
• El estilo	40
• El ovario	41
• Los óvulos	42

Discusión	50
Conclusiones	56
Bibliografía	58

RESUMEN

Prockia krusei es una especie endémica del estado de Guerrero, México. Esta planta se caracteriza por presentar dos tipos de individuos, uno de éstos tiene flores con pistilo largo y producción de frutos en abundancia, mientras que el otro exhibe flores con pistilo reducido y no produce frutos. Estudios realizados previamente con el androceo, han concluido que en ambos morfos florales las anteras se desarrollan normalmente y el polen es viable.

El androdioicismo es un sistema de reproducción sexual muy poco representado en la naturaleza, es característico de poblaciones constituidas por individuos hermafroditas e individuos masculinos. El presente trabajo se realizó con el propósito de averiguar si el gineceo de ambos morfos florales era viable, ya que la disfuncionalidad del gineceo en uno de ellos sería la evidencia estructural definitiva a favor del androdioicismo en esta especie.

Las observaciones de campo y los estudios anatómicos y micromorfológicos realizados, permiten concluir que solamente el morfo de pistilo largo es viable pues es el único que presenta óvulos y sacos embrionarios bien formados. Además, presenta estigma con papilas grandes y turgentes, el estilo sólido con tejido de transmisión y óvulos campilótopos con sacos embrionarios tipo Polygonum, compuesto por el aparato ovocelular (dos células sinérgidas y una ovocélula), dos núcleos polares y tres células antípodas. En claro contraste, el morfo de pistilo corto presenta células colapsadas en el estigma poco

desarrollado, con papilas colapsadas, el estilo sin tejido de transmisión diferenciado y óvulos arrestados cuando los tegumentos se están formando en una etapa temprana de desarrollo. Evidentemente, dadas estas características, el gineceo de las flores con pistilo corto es disfuncional. Estos resultados permiten concluir que las flores de pistilo largo son hermafroditas y que las flores con pistilo reducido son masculinas, por lo que *Prockia krusei* es una especie androdioica.

INTRODUCCIÓN

La familia Salicaceae que pertenece al orden Salicales (Singh, 2004), posee 58 géneros y aproximadamente 1210 especies (Judd, 2002). Uno de los géneros de esta familia es *Prockia* y está formado por seis especies (Sleumer, 1980 en: Jiménez y Cruz, 2005; Jiménez *et al.*, 2008).

El género *Prockia* se distribuye en México, Centroamérica y Sudamérica (Gilg, 1960; Jiménez y Cruz, 2005). En México está representado por dos especies, *Prockia krusei*, que se encuentra en Guerrero, y *Prockia oaxacana*, que se encuentra en Oaxaca (Jiménez *et al.*, 2008). *Prockia krusei* ha sido descrita en Salto de Valadez, Guerrero (Jiménez y Cruz, 2005).

Observaciones de campo sugieren que *P. krusei* podría ser una especie androdioica. Un morfo floral corresponde a flores con gineceo reducido y gran cantidad de estambres, mientras que el otro morfo corresponde a flores con un gineceo de mayor tamaño, localizándose el estigma por encima de las anteras, y con menor cantidad de estambres. Cada uno de los morfos se presenta en una planta distinta. Además, estas observaciones ratifican que sólo algunas plantas producen frutos (las que tienen flores con gineceo largo) y otras no lo hacen (las que tienen flores con gineceo corto) (Mayorga-Lizaola, 2013).

El androdioicismo es un sistema de reproducción sexual en el cual en una población algunos individuos son masculinos, mientras que otros son

hermafroditas (Sakai y Weller, 1999). Este sistema de reproducción sexual está muy poco representado en la naturaleza, ya que solo ha sido confirmado en 7 especies de plantas, y en animales solo se ha reportado en algunas especies de nemátodos, crustáceos braqueópodos, y solamente en un cordado (Pannell, 2002; Weeks et al., 2006).

Ya que en *Prockia krusei*, a partir de estudios de estructura y morfología del androceo, se ha determinado que el desarrollo de las anteras y la morfología del polen es la misma para ambos morfos florales (Mayorga-Lizaola, 2013), el propósito de esta investigación es conocer la estructura del gineceo de flores en anthesis y de los óvulos en ambos morfos florales, ya que esta información es necesaria para poder determinar el androdioicismo en esta especie.

ANTECEDENTES

Familia Salicaceae

La familia Salicaceae, perteneciente al orden Salicales, pose 58 géneros y aproximadamente 1210 especies. Dentro de los géneros pertenecientes a esta familia, los más representativos son *Salix*, con aproximadamente 450 especies; *Casearia* con 180, *Homalium* con 180, *Xylosma* con 85, *Populus* con 35 y *Banara* con 31 (Judd, 2002). La familia Salicaceae está representada principalmente por árboles o arbustos dioicos, caducifolios con hojas que tienen dientes salicoides y estípulas conspicuas. Las flores son unisexuales, actinomorfas, reducidas, y frecuentemente carecen de corola. El gineceo está constituido por 2 a 4 carpelos, el ovario es unilocular, con placentación parietal o con 2 a 4 placentas basales, tiene muchos óvulos, comúnmente unitégmicos y las semillas tienen vellosidades (Singh, 2004). El ovario es súpero a semiínfero. Tiene de 2 a 4 estigmas, más o menos capitados a expandidos, e irregularmente lobulados. A partir de estudios de secuencias de DNA se ha concluido que la familia Salicaceae forma un grupo monofilético (Judd, 2002).

Género *Prockia*

El género *Prockia* se encuentra distribuido en México, Centroamérica y Sudamérica (Gilg, 1960; Jiménez y Cruz, 2005). Los miembros pertenecientes a este género se caracterizan por tener hojas alternadas, glabras o con tricomas

simples, con glándulas presentes en la base de las hojas o en el peciolo, estípulas falciformes, dentadas y grandes, e inflorescencia en racimos. El cáliz consiste en tres sépalos, el fruto es una baya y las semillas son glabras. La flor es morfológicamente hermafrodita, no tiene corola, los sépalos son generalmente tres, y persisten en el fruto. El ovario está compuesto por de 3 a 6 lóculos y las placentas están insertadas en un pseudoeje. Los estambres son numerosos, con anteras redondas, y dehiscencia longitudinal (Alford, 2003). El género *Prockia* está formado por seis especies: *P. crucis*, *P. costaricensis*, *P. flava*, *P. pentamera*, *P. krusei* y *P. oaxacana* (Jiménez y Cruz, 2005; Jiménez et al., 2008).

Prockia krusei

El hábitat de *Prockia krusei* corresponde a bosque tropical caducifolio, en altitudes que van de 1400 a 1420 m. Esta especie ha sido únicamente colectada en los municipios de Chilpancingo y Tixtla de Guerrero, México, donde los reportes indican que los individuos de la población son sumamente escasos. *Prockia krusei* está representada por árboles y arbustos de hasta cuatro metros de alto. El tronco principal tiene la corteza ligeramente fisurada, no exfoliante. Las hojas presentan estípulas con una glándula apical y rara vez con una glándula lateral. Las flores son amarillas-verdes-rojas, generalmente apétalas, sin embargo pueden, muy rara vez, exhibir un solo pétalo. El cáliz consiste en 3 a 4 sépalos, presentes aún en el estadio de fruto. El pistilo mide 7 mm de largo. El ovario es esférico, de 4 mm de diámetro, unilocular, con placentación parietal, y tres placentas lameliformes, ligeramente intrusivas. El estigma es brevemente trilobado. El número de

estambres es de 94 a 112, con anteras oblongo-elipsoides. El fruto es una baya globosa de 9 X 9 mm. La ubicación de *Prockia krusei* dentro del género *Prockia* no es definitiva, ya que esta especie presenta algunas características atípicas del género, como es la presencia de un ovario unilocular con tres placentas intrusivas, en lugar de un ovario con 3 a 6 lóculos y placentación axilar, que son características distintivas del género. Por consiguiente, la inclusión de esta especie dentro del género *Prockia* ha requerido la modificación de su circunscripción, para poder admitir la posibilidad de que el género tenga ovario unilocular con placentas intrusivas y no sólo ovarios con 3 a 6 lóculos (Jiménez y Cruz, 2005).

Observaciones de campo

Observaciones realizadas en el campo sugieren la existencia de dos tipos de individuos en la población en *Prockia krusei*, cada uno con un morfo floral. Uno de estos tipos corresponde a individuos que exhiben flores con gineceo reducido, mientras el otro tipo corresponde a individuos que presentan flores con gineceos de mayor tamaño, en los cuales el estigma sobrepasa la longitud de las anteras. Mediante estudios de estructura y morfología del androceo de ambos morfos florales, se ha determinado que el desarrollo de las anteras en ambos morfos es normal, además dicho estudio concluye también que en ambos morfos el polen es viable (Mayorga-Lizaola, 2013). Por tanto, el estudio de la funcionalidad del gineceo en ambos morfos es necesario para determinar si sólo el gineceo de uno de los morfos florales es funcional, lo que permitiría concluir que esta especie es

androdioica. Entendiéndose el androdioicismo como un sistema de reproducción sexual, en el cual, dentro de una población, algunos individuos son hermafroditas y otros masculinos (Sakai y Weller, 1999).

Sistemas de reproducción en plantas

Un sistema reproductivo en plantas se refiere a la forma en la cual los órganos sexuales (androceo y gineceo) se posicionan tanto morfológica, espacial y temporalmente en los individuos de una población. En las angiospermas, los sistemas de reproducción sexual son complejos y varían ampliamente debido a su múltiple e independiente aparición en diversas familias, y la sexualidad puede ser descrita a nivel de flor, de individuo, de poblaciones o de especie, y determina el género de cada individuo (Figura 1) (Orozco y Vázquez, 2013)). Los sistemas reproductivos son aspectos importantes de la biología de las plantas, que afectan la diversidad genética y la evolución de los genomas (Charlesworth, 2006). Éstos pueden ser clasificados en monomórficos, cuando en una población todos los individuos presentan flores semejantes en cuanto a la expresión del sexo, y en polimórficos, cuando los individuos de una población presentan flores de más de un tipo (Figura 2) (Ainsworth, 2000; Orozco y Vázquez, 2013).

Dentro de los sistemas monomórficos los individuos pueden ser hermafroditas al exhibir flores bisexuales, o bien monoicos cuando en una población los individuos muestran flores unisexuales masculinas y femeninas. Los individuos pueden también presentar flores unisexuales mezcladas con bisexuales, siendo

ginomonoicos cuando las flores unisexuales son femeninas, y andromonoicos cuando las flores unisexuales son masculinas. En el caso de los trimonoicos los individuos exhiben flores hermafroditas, femeninas y masculinas (Figura 2A) (Orozco y Vázquez, 2013).

Sexualidad en angiospermas

A nivel de flores

- **Bisexuales** – flores con androceo y gineceo funcionales (hermafroditas)
- **Unisexuales pistiladas** – flores con gineceo funcional (flores femeninas)
- **Unisexuales estaminadas** – flores con androceo funcional (flores masculinas)
- **Neutras** – flores con androceo y gineceo estériles

A nivel de individuos

- **Hermafroditas** – individuos con sólo flores bisexuales
- **Femeninos** – individuos con sólo flores pistiladas
- **Masculinos** – individuos con sólo flores estaminadas
- **Monoicos** – individuos con flores masculinas y femeninas
- **Ginomonoicos** – individuos con flores bisexuales y femeninas
- **Andromonoicos** – individuos con flores bisexuales y masculinas
- **Trimonoicos** (polígamos) – con flores femeninas, masculinas y bisexuales sobre la misma planta

A nivel de poblaciones

- **Hermafroditas** – población formada de individuos con flores bisexuales
- **Monoico** – población con individuos que tienen flores masculinas y femeninas
- **Dioico** – población con individuos masculinos e individuos femeninos
- **Ginodioicos** – población con individuos bisexuales e individuos femeninos
- **Androdioicos** – población con individuos bisexuales e individuos masculinos
- **Trioicos** – (o subdioicos) – población con individuos masculinos, femeninos y hermafroditas

A nivel de especies

- Una determinada especie puede presentar todas sus poblaciones estrictamente hermafroditas, monoicas, dioicas, ginodioicas, androdioicas o trioicas.
- Una determinada especie puede presentar más de un sistema reproductivo, es decir, tener una población hermafrodita, otra dioica, otra ginodioica, etcétera.

Figura 1. La sexualidad en angiospermas puede analizarse a nivel de flores, de individuos, de poblaciones o de especie (Orozco y Vázquez, 2013).

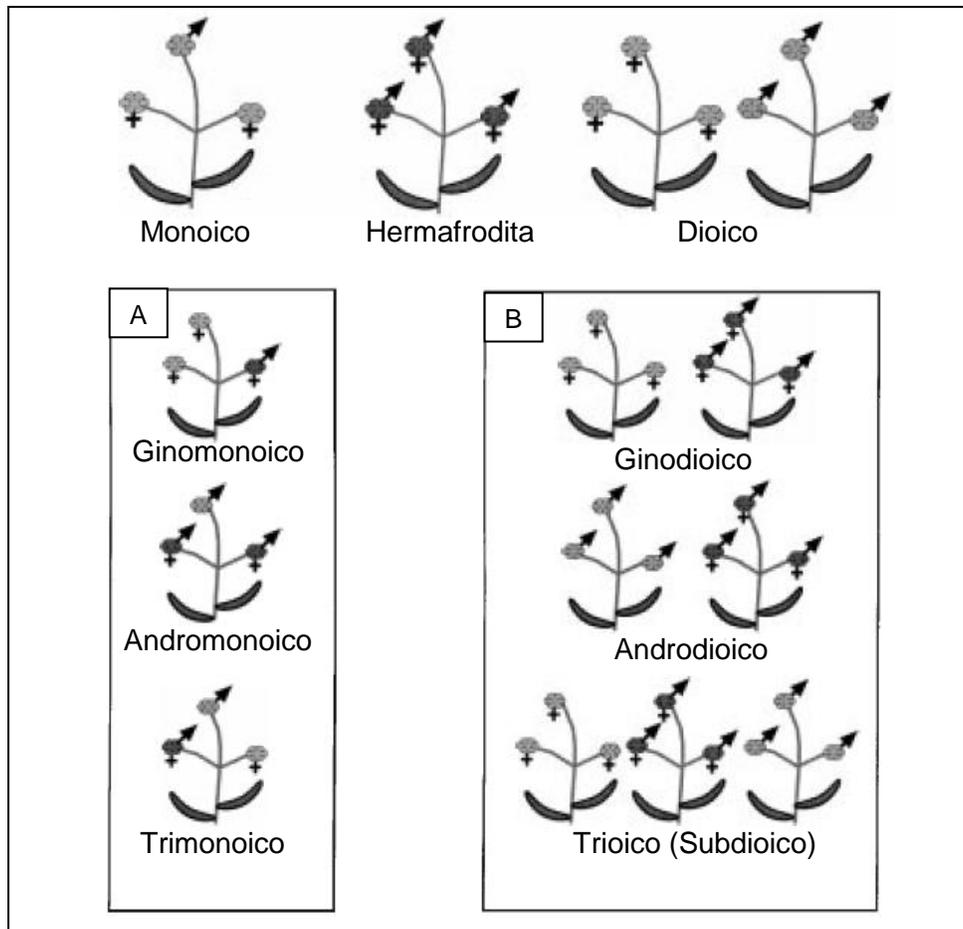


Figura 2. Sistemas de reproducción en plantas. **A)** Sistemas de reproducción sexual monomórficos. **B)** Sistemas de reproducción sexual polimórficos (Tomado de Ainsworth, 2000).

En los sistemas polimórficos los individuos sólo pueden tener un tipo de flor, de tal manera que se requieren al menos dos tipos de individuos para llevar a cabo la reproducción sexual (Figura 2B). Cuando los individuos en una población son unisexuales se forma un sistema dioico. Dentro de los sistemas polimórficos, el androdioicismo y el ginodioicismo son sistemas en los cuales los individuos bisexuales se encuentran mezclados con individuos unisexuales en una población, siendo los individuos unisexuales, masculinos en el androdioicismo, y femeninos en el ginodioicismo. Las poblaciones con sistemas trioicos o subdioicos están

compuestas por individuos bisexuales mezclados con individuos femeninos e individuos masculinos (Orozco y Vázquez, 2013).

Evolución al dioicismo

El dioicismo se presenta cuando las poblaciones consisten en individuos masculinos e individuos femeninos. Algunas de las vías que se presentan como estadios intermedios a la evolución al dioicismo son el ginodioicismo y el androdioicismo (Figura 3) (Charlesworth y Charlesworth, 1978; Charlesworth, 1984; Pannell, 2000, 2002). La vía ginodioica se tiene cuando en el proceso de evolución al dioicismo las poblaciones hermafroditas son invadidas por individuos femeninos (mutantes estériles-masculinos), en cuyo caso se tienen poblaciones ginodioicas, compuestas por individuos hermafroditas e individuos femeninos, como estadio intermedio hacia el dioicismo, posterior a lo cual hay una reasignación de recursos en los individuos hermafroditas a favor de la función masculina, lo cual culmina en el surgimiento de individuos masculinos en la población, lo que posibilita el surgimiento del dioicismo (Charlesworth y Charlesworth, 1978). La otra vía sugiere que la población hermafrodita es invadida por individuos masculinos (mutantes estériles-femeninos), dando lugar a poblaciones androdioicas, compuestas por individuos hermafrodita e individuos masculinos, como estadio intermedio hacia el dioicismo, y posteriormente un segundo cambio evolutivo convierte a los individuos hermafroditas en femeninos, dando lugar al dioicismo. La evolución al dioicismo por medio de la vía androdioica se presenta como poco probable y, tanto los modelos teóricos como la evidencia

empírica, favorecen al ginodioicismo como estadio intermedio hacia la evolución al dioicismo (Charlesworth, 1999). El dioicismo, al tener un carácter polifilético, ha evolucionado también a partir de ancestros monoicos y hercogámicos (Ordnuff, 1966; Bawa, 1980; Webb, 1999; Dorken y Barrett, 2004).

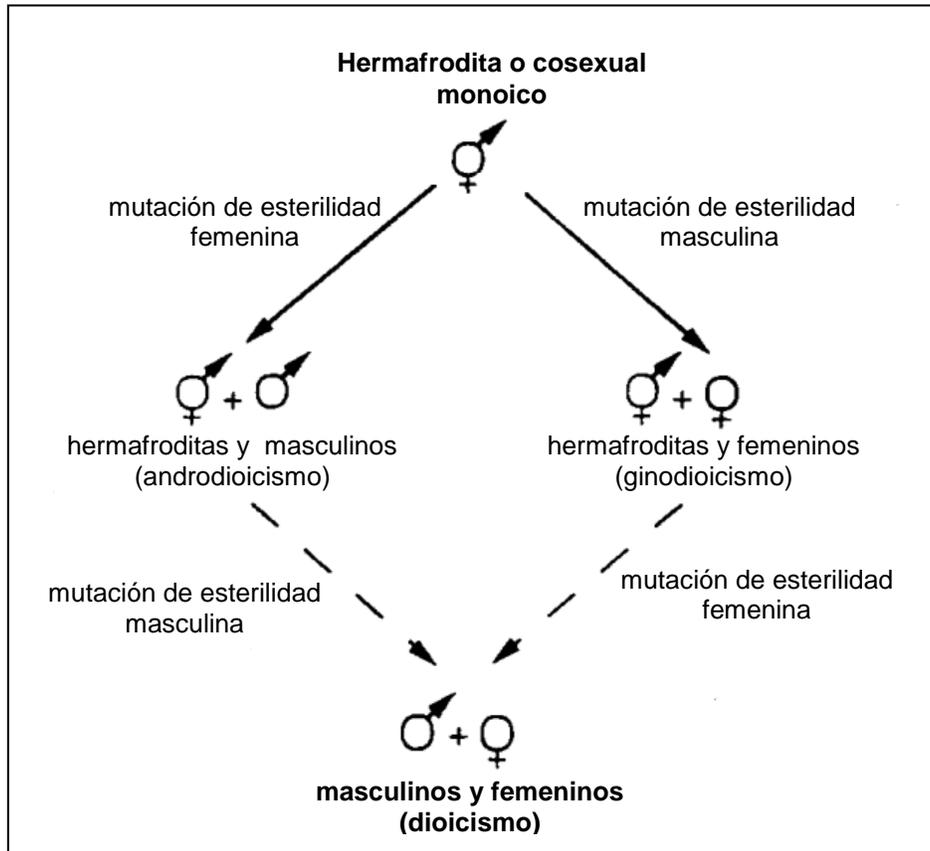


Figura 3. Posibles rutas por las cuales el dioicismo puede surgir a partir de un estado inicial cosexual monomórfico. En una vía hay poblaciones androdioicas, mientras que en la otra hay poblaciones ginodioicas como estadio intermedio al dioicismo (Tomado de Charlesworth, 1999).

El androdioicismo

El androdioicismo es un sistema de reproducción sexual, en el cual en una población algunas plantas son masculinas, mientras que otras son cosexuales

monomórficas (hermafroditas o monoicas) (Sakai y Weller, 1999). Los estudios del androdiocismo, como posible vía de evolución al dioicismo a partir del hermafroditismo, concluyen que las condiciones necesarias para el establecimiento de poblaciones androdioicas funcionales son difíciles de satisfacer, lo cual explica que haya muy pocos casos de androdiocismo reportados en la naturaleza, y que la mayoría de los casos en los que se ha presumido la existencia de poblaciones androdioicas se ha resuelto que se trata, en realidad, de poblaciones funcionalmente dioicas (Charlesworth, 1984; Pannell, 2002; Filho *et al.*, 2009). El modelo evolutivo para el surgimiento y mantenimiento de poblaciones androdioicas a partir de ancestros hermafroditas sugiere que para que una población hermafrodita sea invadida por individuos masculinos (mutantes estériles-femenino), éstos deben mínimamente duplicar la producción de polen con respecto a los individuos hermafroditas originales. Pero si en la población los individuos hermafroditas son autocompatibles, y presentan algún grado de autofecundación, la producción de polen por parte de los individuos masculinos tendrá que ser aún mayor, ya que esta situación reduce la disponibilidad de óvulos que pueden ser fecundados por los individuos masculinos (Charlesworth, 1984). Lo anterior concuerda con lo reportado para *Datisca glomerata* (Rieseberg *et al.*, 2003), *Mercurialis annua* (Pannell, 2002), *Laguncularia racemosa* (Landry y Rathcke, 2007), *Schizopepon bryoniaefolius* (Akimoto *et al.*, 1999) y *Sagittaria lancifolia* (Muenchow, 1998), especies androdioicas en las cuales la producción de polen es mayor en los individuos masculinos que en los hermafroditas (Tablas 1 y 2). Por otro lado, debido a la autofecundación puede haber depresión endogámica, lo cual es un factor que confiere a los individuos masculinos mayor

adecuación (Pannell, 2002), y que presumiblemente ha favorecido el establecimiento de las poblaciones funcionalmente androdioicas en las especies *Datisca glomerata* (Rieseberg *et al.*,1993) y *Laguncularia racemosa* (Landry y Rathcke, 2007).

Debido a que la vía de la evolución al dioicismo, a partir de un ancestro hermafrodita, por medio de un estadio transitorio androdioico, es muy compleja, la existencia de poblaciones androdioicas funcionales se ha explicado principalmente como una reversión a partir de plantas dioicas hacia el estadio ancestral hermafrodita. Esto se presentaría en poblaciones dioicas, en las cuales ha habido una limitación importante de polen, lo cual, eventualmente, ocasionaría que las plantas femeninas reviertan al estado ancestral hermafrodita, produciendo una cantidad moderada de anteras, asegurando así que la autopolinización tenga lugar y la especie referencial sobreviva a la escasez de polen (Wolf y Takebayashi, 2004). Esta limitación de polen puede ocurrir durante los eventos de colonización de nuevos hábitats, en parte por falta de pareja reproductiva, por lo que durante dichos eventos puede romperse el dioicismo, favoreciendo el surgimiento de individuos hermofroditas autocompatibles. Por esto es que, en el contexto de colonización por dispersión a larga distancia, se considera plausible la evolución del androdioicismo a partir de ancestros dioicos (Pannell, 2002).

En referencia a las frecuencias de individuos esperadas para una población androdioica, el modelo para el establecimiento y mantenimiento del androdioicismo indica que en ausencia de mortalidad diferencial entre los

individuos masculinos y hermafroditas, la frecuencia de masculinos es siempre < 0.5 , pero si en la población ambas frecuencias se acerca a su igualdad, o las frecuencias masculinas son > 0.5 , es un indicativo de que en los individuos supuestamente hermafroditas la función masculina no está presente, y por tanto la población es funcionalmente dioica (Charlesworth,1984; Pannell, 2002). En *Datisca glomerata* (Liston *et al.*,1993; Rieseberg *et al.*, 2003), *Mercurialis annua* (Pannell, 2002), *Laguncularia racemosa* (Landry y Rathcke, 2007), *Schizopepon bryoniaefolius* (Akimoto *et al.*,1999) y *Sagittaria lancifolia* (Muenchow, 1998) se ha determinado que las frecuencias de los individuos masculinos es siempre <0.5 (Tablas 1 y 2). Pero en la familia Oleaceae, donde hay varios posibles casos de androdioicismo, tal es el caso de *Fraxinus ornus*, *Fraxinus longicuspis* y *Phillyrea angustifolia*, las frecuencias de los individuos masculinos son iguales o mayores a las de los hermafroditas (Dommée *et al.*, 1999; Pannell, 2002; Vassiliadis *et al.*, 2002), lo que contradice a los modelos teóricos sobre el mantenimiento y surgimiento del androdioicismo, ya que, según éstos, tales frecuencias hablarían de un sistema funcionalmente dioico (Charlesworth,1984), por lo que la funcionalidad del androdioicismo en estas especies queda debatible.

En una población androdioica, la esterilidad femenina, exhibida en plantas masculinas, está dada solamente por mutaciones nucleares, ya que en estas plantas no es posible heredar factores citoplasmáticos que promuevan la esterilidad femenina, debido a que éstos se heredan únicamente a través de los óvulos (Charlesworth, 1999).

Tabla 1. Especies de plantas en las que hay evidencia de Androdioicismo (Modificado de Pannell, 2002)

Especie	Características	Evidencia androdioicismo
<i>Datisca glomerata</i> (Dasticaceae)	<ul style="list-style-type: none"> • Planta herbácea perenne • Suroeste de América • Ancestros dioicos 	<ul style="list-style-type: none"> • ♂ producen 3.8 más polen • Frecuencia de ♂ < 0.5 • Depresión endogámica
<i>Mercurialis annua</i> (Euphorbiaceae)	<ul style="list-style-type: none"> • Hierba anual • Europa y Mediterráneo • Adrodioicismo en poblaciones hexaploides • Hermafrodita: monoico con inflorescencias ♂ y ♀ • Masculino: inflorescencia ♂ 	<ul style="list-style-type: none"> • ♂ producen 4-10 más polen • Frecuencia de ♂ < 0.5
<i>Schizopepon bryoniaefolius</i> (Cucurbitaceae)	<ul style="list-style-type: none"> • Planta anual • Este de Asia • Masculinos: inflorescencias ramosas o peniculadas. • Hermafroditas: Flores solitarias en axilas de hojas 	<ul style="list-style-type: none"> • La producción total de polen es mayor en ♂ debido al mayor número de flores en la inflorescencia. • Frecuencia de ♂ : 0.05 – 0.28
<i>Spinifex littoreus</i> (Poaceae)	<ul style="list-style-type: none"> • Pasto de dunas • Sur y sudeste Asiático • 3 tipos de individuos: ♂, ♀ y monoico. 	<ul style="list-style-type: none"> • Una población del sudeste asiático consistente en plantas monoicas (♀ y ♂) y plantas ♂
<i>Castilla elastica</i> (Moraceae)	<ul style="list-style-type: none"> • Árbol tropical • Hermafrodita: monoico con inflorescencias ♂ y ♀ • Masculino: inflorescencia ♂ 	<ul style="list-style-type: none"> • Polen idéntico y fértil en ambos morfos • Posible evolución a partir de ancestros dioicos para asegurar reproducción en eventos de colonización
<i>Sagittaria lancifolia</i> (Alismataceae)	<ul style="list-style-type: none"> • Hierba acuática perene • Desde el sur de EUA hasta el norte de Sudamérica • Hermafrodita: monoico con inflorescencia ♂ y ♀ • Masculino: inflorescencia ♂ • ♂ por alelo dominante 	<ul style="list-style-type: none"> • Frecuencia de ♂: 0.16 • En la inflorescencia de los monoicos, las flores estaminadas son parasitadas por <i>Listronotus appendiculatus</i> y debido a este impacto, las inflorescencias de individuos ♂ dispersan 4.5 veces más polen.
<i>Lagungularia racemosa</i> (Combretaceae)	<ul style="list-style-type: none"> • Arbusto o árbol • Neotrópico y costa oriental de África 	<ul style="list-style-type: none"> • Frecuencia de ♂: 0.18 – 0.42 • La producción total de polen es mayor en ♂ debido al mayor número de flores. • Depresión endogámica

Tabla 2. Especies de plantas en las que hay evidencia de Androdioicismo (Modificado de Pannell, 2002)

	Individuos masculinos e individuos hermafroditas	Frecuencias masculinas <0.5	♂ Mayor producción de polen	Depresión endogámica
<i>Datisca glomerata</i> (Dasticeae) (Rieseberg <i>et al.</i> , 2003)	X	X	X	X
<i>Mercurialis annua</i> (Euphorbiaceae) (Pannell, 2002)	X	X	X	-
<i>Schizopepon bryoniaefolius</i> (Cucurbitaceae) (Akimoto <i>et al.</i> , 1999)	X	X	X	-
<i>Spinifex littoreus</i> (Poaceae) (Pannell, 2002)	X	-	-	-
<i>Castilla eslastica</i> (Moraceae) (Sakai, 2001)	X	-	X	-
<i>Sagittaria lancifolia</i> (Alismataceae) (Muenchow, 1998)	X	X	X	-
<i>Lagungularia racemosa</i> (Combretaceae) (Landry y Rathcke, 2007)	X	X	X	X

Varias poblaciones presumiblemente androdioicas han resultado ser en realidad dioicas crípticas, en las cuales ambos individuos son funcionalmente unisexuales, aunque morfológicamente, en este caso las flores femeninas, aparenten ser hermafroditas. Se ha propuesto, que en dichos casos, la presencia de individuos funcionalmente femeninos, pero con apariencia hermafrodita,

podiera jugar un papel importante en la polinización. Esto debido a que la producción de polen, aunque éste sea disfuncional, por parte de los individuos funcionalmente femeninos, tendría un impacto positivo al atraer a los polinizadores, y por tanto en la reproducción sexual de algunas de las especies dioicas crípticas que aparentan ser androdioicas (Filho *et al.*, 2009).

En animales también se presenta el androdioicismo como un sistema de reproducción sexual muy raro, descrito solamente en 36 taxones, dentro de los nemátodos, crustáceos y con un solo caso en los cordados. En los nemátodos se presenta en la clase Secernenta dentro de los géneros *Caenorhabditis* y *Rhabditis*. En los crustáceos se presenta en la clase Branchiopoda dentro de los géneros *Triops* y *Eulimnadia*, y en la clase Thecostraca, dentro de los géneros *Paralepas*, *Koleolepas*, *Ibla*, *Scalpellum*, *Scillaelepas*, *Chelonibia*, *Bathylasma* y *Balanus*. En los cordados se tiene un caso único que es el pez *Rivulus marmoratus* (Weeks *et al.*, 2006). El nemátodo *Caenorhabditis elegans* y el camarón *Eulimnadia Texana* son los taxones en los que más se ha estudiado el androdioicismo dentro de los animales (Pannell, 2002). En *C. elegans* los individuos masculinos presentan frecuencias muy bajas, de 0.001 a 0.002, en condiciones de laboratorio. Es posible que la depresión endogámica conlleve a las condiciones de equilibrio necesarias para que los individuos masculinos puedan mantenerse en este sistema (Stewart y Phillips, 2002). En el género *Eulimnadia*, cuyos miembros se estiman entre 28 y 44 especies, se ha reportado el androdioicismo como el único sistema de reproducción sexual. A este género pertenece el crustáceo braquiópodo *E. texana*, donde las frecuencias de individuos masculino se encuentran en un rango

de 0.0 a 0.40. En *E. texana* la auto-fertilización es muy común, y la depresión endogámica es alta (Weeks *et al.*, 2000). En los vertebrados solamente se tiene un caso reportado de androdioicismo, que es el pez *Rivulus marmoratus*, donde las frecuencias de individuos masculinos son de 0.01 a 0.25. En *C. elegans*, *E. texana* y *R. marmoratus* los individuos masculinos son el único agente de reproducción cruzada, y por tanto los individuos hermafroditas pueden autofecundarse, o bien cruzarse únicamente con individuos masculinos (Weeks *et al.*, 2006).

La flor

La flor comprende al grupo de órganos estériles y fértiles de las angiospermas que muestran un arreglo característico en hélice o verticilos en el meristemo floral. Los apéndices estériles, colectivamente llamados perianto, son los sépalos y los pétalos. El juego de apéndices más externo, comúnmente de color verde y muy parecido a las hojas, son los sépalos, que colectivamente forman el cáliz. Los pétalos son comúnmente coloridos y vistosos, y en conjunto forman la corola. Cuando el perianto no se encuentra diferenciado, los miembros individuales que lo conforman son referidos como tépalos o miembros del perianto. Internamente al perianto se localizan los estambres que son los apéndices que cargan las anteras, y que en conjunto forman el androceo. Los órganos, en el centro de la flor, que contienen los óvulos son colectivamente referidos como el gineceo, y sus unidades se denominan carpelos. Las flores típicas que contienen los cuatro juegos de órganos: sépalos, pétalos, estambres y carpelos, son denominadas

flores perfectas. Las flores que han perdido completamente o parte del perianto, así como los estambres o el gineceo son referidas como flores incompletas. Las flores que poseen tanto estambres como gineceo son descritas como perfectas, bisexuales, monoclinas o hermafroditas. Las flores que carecen, ya sea de androceo o de gineceo, son denominadas imperfectas, unisexuales o diclinas (Greyson, 1994). Las flores unisexuales pueden ser de dos tipos (Figura 4). En el primer tipo, las flores son unisexuales por aborción, es decir, hay un desarrollo inicial del androceo y gineceo en todas las flores, pero este desarrollo es interrumpido en algún estadio dependiendo del morfo. Este es el tipo de flor unisexual que se ajusta al presente sistema de estudio, ya que como se verá, en *Prockia krusei* el gineceo de uno de los morfos no es funcional. El segundo tipo de flores es unisexual desde el comienzo, por lo que sólo producen androceo o gineceo, sin pasar por un estadio potencialmente hermafrodita (Mitchell y Diggle, 2005). Hay taxones dioicos en los que las flores masculinas son similares a las flores femeninas, y ambas aparentan ser flores perfectas, sin embargo en las femeninas los granos de polen no son viables, mientras que en las masculinas los óvulos están reducidos y no son funcionales. Esta condición es conocida como dioicismo críptico (Eckhart, 1999).

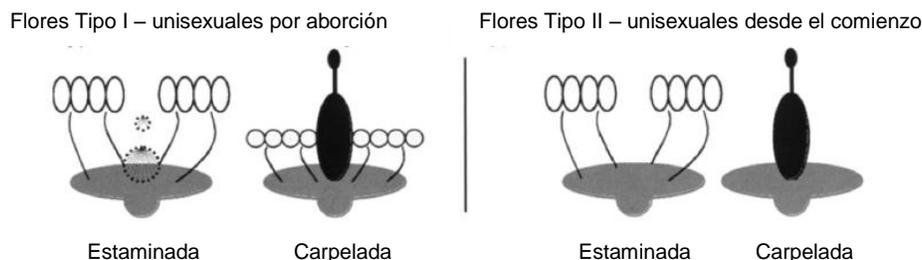


Figura 4. Tipos de flores unisexuales (Tomado de Mitchell y Diggle, 2005).

El gineceo

El gineceo es el órgano femenino en la reproducción sexual de las angiospermas, y está compuesto generalmente por el estigma, el estilo y el ovario (Shivanna, 2003). El gineceo consiste en uno o más unidades estructurales de origen foliar denominadas carpelos. Si el gineceo está formado por carpelos libres se denomina apocárpico, pero con frecuencia, los carpelos se encuentran fusionados formando un gineceo sincárpico (Greyson, 1994). En la mayoría de los taxones, 80% de las especies, el gineceo es sincárpico, por el contrario, sólo el 10% de las angiospermas exhiben un gineceo apocárpico. Otro 10% de las angiospermas presenta el gineceo unicarpelar, principalmente en el grupo de las leguminosas (Endress, 1994).

La unión de los carpelos en un gineceo sincárpico sigue dos patrones básicos. En el primero los carpelos doblados se encuentran unidos superficie abaxial con superficie abaxial, formando un gineceo bilocular o multilocular. En el segundo, los carpelos en condición desdoblada, o parcialmente doblada, se encuentran unidos margen con margen, formando un gineceo unilocular. Hay modificaciones secundarias que ocasionan variaciones a estos patrones básicos, por ejemplo, en la familia Brassicaceae los carpelos están unidos marginalmente, y a pesar de ello el gineceo no es unilocular debido a la formación de una prolongación de la placenta, en los márgenes del carpelo, que resulta en la formación de falsos septos (Esau, 1977).

El estigma

El estigma es el tejido receptor del polen, compuesto por papilas y células secretoras (Greyson, 1994). La diferenciación es diversa entre las angiospermas, y puede tener varias formas. Es compacto o subdividido en lóbulos. Los lóbulos estigmáticos son las partes distales libres de los carpelos, sin embargo éstos pueden estar subdivididos como ocurre en Euphorbiaceae (Endress, 1994). El estigma se clasifica en seco o húmedo dependiendo de la presencia o ausencia de exudado estigmático, que es secretado durante el periodo de receptividad para la polinización. Cada uno de estos tipos es a su vez clasificado tomando como base la distribución de la superficie receptiva y la presencia o ausencia de papilas. Hay gran diversidad en cuanto a la morfología de las papilas estigmáticas, mismas que pueden ser unicelulares o multicelulares, y a la vez las últimas clasificadas en uniseriadas o multiseriadas.

El estilo

El estilo es una parte del gineceo que puede o no estar presente, conecta el estigma con el ovario, y es el conducto a través del cual los tubos polínicos crecen hacia los óvulos (Greyson, 1994; Weberling, 1992). Se han descrito tres tipos de estilo: sólido, hueco y semi sólido (Bhojwani y Bhatnagar, 2000). Mientras que en el estilo sólido se encuentra el tejido de transmisión localizado en el centro del estilo, en el estilo hueco el estilo es atravesado longitudinalmente por el canal estilar que está bordeado por una o varias capas de células glandulares llamadas

células de canal (Shivanna, 2003). En el estilo semisólido, estudiado en la familia Fabaceae, el estilo es sólido en varios grados, ya que el estigma y algunos milímetros de la parte superior del estilo son sólidos, mientras que la base del estilo es hueco y está delineado con células del canal (Bhojwani y Bhatnagar, 2000).

El tejido de transmisión provee soporte químico y físico a los tubos polínicos, ya que su recorrido, desde el estigma hasta los óvulos, se realiza a través de la matriz extracelular de este tejido (Cheung, 1995). El tejido de transmisión cubre la placenta, y, en ciertas especies, llega a estar presente en el funículo, pudiendo llegar a estar próximo al micrópilo debido a una protuberancia del funículo llamada obturador (Fahn, 1990). El tejido de transmisión del estilo sólido está constituido por células elongadas conectadas extremo con extremo por plasmodesmos. En corte transversal las células del tejido de transmisión son circulares con espacios intercelulares masivos ocupados por matriz extracelular (Shivanna, 2003).

El ovario

El ovario es la parte inferior del gineceo, cuya superficie interna delinea una cavidad que contiene los óvulos que se desarrollan en semillas. En cuanto a su posición éste puede ser súpero o ínfero. En el ovario súpero, los estambres, los sépalos y los pétalos surgen de la base del ovario, mientras en el ovario ínfero, característico de las familias: Rubiaceae, Acaliaceae, Zingiberaceae y Orchidaceae, los otros órganos florales se localizan por arriba del ovario (Endress,

1994). Las paredes internas que dividen el ovario, y que corresponden a las caras laterales de los carpelos, son los septos, y las cavidades que se forman son los lóculos. (Weberling, 1992). La región en la cual los óvulos están asentados es la placenta y, en referencia al lugar en el que están asentados, se reconocen patrones de placentación axilar, parietal, libre central y basal (Greyson, 1994). La posición de la placenta en el ovario está relacionada con el modo de unión de los carpelos. La placentación parietal tiene lugar cuando los carpelos se unen marginalmente y la placenta se inserta en la pared del ovario. La placentación axilar se presenta cuando los carpelos están fusionados de una manera doblada, por lo que el ovario se presenta como bilocular o multilocular, y la placenta se inserta en el centro del ovario donde los márgenes de los carpelos se encuentran. Hay modificaciones de estos dos patrones básicos de placentación. En el caso de la placentación libre central, las divisiones en el ovario multilocular desaparecen en términos de filogenia o de ontogenia, de manera que la placentación se inserta en el centro (Esau, 1977). La placentación basal puede estar relacionada con formas de placentación axilar, parietal y libre central, dependiendo del contexto evolutivo específico (Endress, 1994). La placenta en un ovario unilocular puede ocurrir en la base y entonces la placentación es también basal. En cuanto al lugar, dentro del carpelo, en que se encuentran insertos los óvulos, se reconoce el arreglo marginal como el fundamental, en el cual los óvulos están insertos en los márgenes del lado ventral del carpelo. Un segundo tipo puede distinguirse, con placentación laminal, en el cual los óvulos surgen de la superficie interna del carpelo, presente en las familias Butomaceae, Hydrocharitaceae y la mayoría de Nymphaeaceae (Weberling, 1992).

Los óvulos

El óvulo es el megasporangio con sus cubiertas protectoras, y donde tiene lugar la formación de la megaspora, el desarrollo del saco embrionario (gametofito femenino) y la fecundación. El óvulo, una vez fecundado, contiene el embrión y el tejido nutritivo que madurará para convertirse en la semilla (Greyson, 1994).

Los óvulos consisten en un cuerpo central, la nucela, que se encuentra rodeada por una o por dos cubiertas protectoras, llamadas tegumentos. El óvulo puede ser unitégmico, cuando está constituido por un tegumento, o bitégmico, cuando está formado por dos tegumentos. La presencia de tres tegumentos, como ocurre en algunos miembros de la familia Annonaceae, o la falta de tegumentos, característica de algunos miembros de Santalales y Gentianaceae, es muy rara (Endress, 1994). Los óvulos están unidos a la placenta mediante el funículo, en cuyo interior se diferencia el haz vascular que transloca los nutrientes del ovario hacia el óvulo y la semilla en desarrollo (Batygina, 2002). El haz vascular que irriga el óvulo desemboca en la cálaza, sin embargo, éste puede continuar hacia uno o los dos tegumentos, e incluso puede ramificarse en varios haces alrededor de todo el óvulo (Endress, 1994). La cálaza es una región no claramente definida, es donde convergen la nucela, los tegumentos y el funículo. Los óvulos pueden presentar un obturador, que es un tejido secretor compuesto por células epidérmicas elongadas del óvulo, eventualmente del ovario, que crecen hacia el micrópilo y comúnmente obstruyen la entrada de éste. El crecimiento del tubo polínico ocurre a lo largo de la superficie del obturador, que sintetiza lípidos,

carbohidratos, y cuyas células son una variedad del tejido de transmisión (Batygina, 2002).

El saco embrionario

El saco embrionario o gametofito femenino alcanza su madurez cuando se ha completado la diferenciación y la especialización, taxón-específica, de los elementos celulares que lo componen y por tanto éste se encuentra receptivo a la fecundación (Batygina, 2002). El saco embrionario maduro está constituido por 7 células y 8 núcleos. Este tipo de saco embrionario se encuentra en la mayoría de las angiospermas y es característico de los sacos embrionarios de tipo: Polygonum, Allium, Endymion, Adoxa y Fritillaria (Bhojwani y Bhatnagar, 2000). Las células constitutivas de dichos sacos embrionarios son: dos células sinérgidas, una ovocélula, una célula central (con 2 núcleos polares) y tres células antípodas.

JUSTIFICACIÓN

El androdioicismo es un sistema reproductivo muy poco representado en la naturaleza, y la mayoría de los casos en los que se ha reportado han resultado ser plantas funcionalmente dioicas. Dado que en un sistema androdioico se encuentra un morfo hermafrodita y un morfo masculino, y que en *Prockia krusei* el androceo es viable en ambos morfos, es determinante conocer la estructura del gineceo en ambos morfos y, fundamentalmente, la de los óvulos en el interior del ovario, ya que la no funcionalidad del gineceo en uno de los morfos aportaría la prueba definitiva a favor del androdioicismo en esta especie.

OBJETIVO GENERAL

- Describir la estructura y la micromorfología del gineceo de flores en antesis en los dos morfos florales de *Prockia krusei*.

OBJETIVOS PARTICULARES

- Describir la micromorfología y anatomía del estigma en ambos morfos florales.
- Describir la micromorfología y anatomía del estilo en ambos morfos florales.
- Describir la micromorfología y la anatomía del ovario y de los óvulos en ambos morfos florales.

MATERIALES Y MÉTODOS

Sitio de colecta

La colecta de flores tuvo lugar en un paraje ubicado en Tixtla Guerrero, México, localizado próximo a las coordenadas geográficas N17°32'05" W99°22'27". Se llevó a cabo la colecta de flores y el marcaje de los individuos de acuerdo al morfo floral exhibido por éstos. Se identificaron dos morfos florales, hermafrodita y masculino, presentes en plantas distintas. Las flores del morfo hermafrodita se caracterizan por la presencia del gineceo con una altura que sobrepasa la de las anteras, además de que los individuos con este morfo floral exhiben producción de frutos. En las flores del morfo masculino el gineceo de las flores se encuentra reducido y cubierto por los estambres que son mucho más largos. En este morfo floral no hay producción de frutos. El total de individuos muestreados fue de 29, de los cuales 18 son individuos del morfo hermafrodita y 11 del masculino.

Fijación

Las flores se fijaron en FAA (Formol, Ácido acético y Alcohol etílico) inmediatamente a su colecta en el campo. Posteriormente, ya fijados, se trasladaron al laboratorio para su posterior deshidratación y procesamiento.

Inclusión en LR-White

Se incluyeron 10 gineceos, de diferentes individuos, pertenecientes a cada morfo floral y de flores en anthesis; Adicionalmente, los óvulos extraídos de 3 gineceos del morfo hermafrodita se incluyeron en LR-White. Los gineceos y óvulos fueron sometidos a un proceso de deshidratación gradual con mezclas de diferente concentración de alcohol etílico al 30%, 50%, 70%, 85% y 96%, durante una hora en cada una, y dos horas en alcohol absoluto. Posteriormente fueron infiltrados gradualmente en LR-White, mediante la exposición de las muestras a mezclas de LR-White–Etanol absoluto, con las proporciones de LR-White de 25%, 50% y 75%, durante una hora respectivamente, y en LR-White puro durante 24 horas. Las muestras fueron colocadas y orientadas en cápsulas de gelatina para su posterior polimerización en la estufa a 60°C por 24 horas. Los gineceos y óvulos incluidos fueron cortados con el ultramicrotomo y navajas de vidrio, a 1.2 y 2 μm de grosor. Para describir la estructura interna del ovario, del estigma y del estilo se realizaron cortes, tanto en sección longitudinal como transversal. La tinción de los cortes se realizó con azul de toluidina.

Microscopia electrónica de barrido

Para el estudio de la micromorfología, en el microscopio electrónico de barrido (MEB), se utilizaron 6 gineceos de cada morfo floral de flores en anthesis. Para cada morfo floral, tres gineceos se disectaron longitudinalmente, y los otros tres transversalmente. Las muestras se deshidrataron gradualmente con mezclas de

diferente concentración de alcohol etílico al 30%, 50%, 70%, 85% y 96% durante una hora respectivamente, y posteriormente se conservaron en alcohol absoluto. Las muestras en alcohol absoluto se introdujeron en bolsas pequeñas de papel de 1.5 x 1.5 cm, y se llevaron al laboratorio de Microscopia Electrónica de Barrido de la Facultad de Ciencias, donde se desecaron a punto crítico con CO₂. Las muestras, una vez desecadas, se colocaron en portamuestras de aluminio, y se cubrieron con oro en una ionizadora. Posteriormente se observaron en el microscopio electrónico de barrido y se tomaron las microfotografías.

RESULTADOS

Las flores de los morfos hermafrodita (flores con pistilo largo) y masculino (flores con pistilo corto), como las hemos denominado para esta investigación, son fácilmente reconocibles y diferenciables por la altura del gineceo con respecto a los estambres. Para el morfo hermafrodita, el estilo y el estigma sobresalen de las anteras (Figura 5A). Para el morfo masculino, el gineceo se encuentra reducido, y por tanto los estambres sobresalen sobre la altura del gineceo ya que lo superan en longitud (Figura 5B). Además, las flores del morfo hermafrodita producen frutos (Figura 6A y C), mientras que las flores del morfo masculino no los producen (Figura 6B).

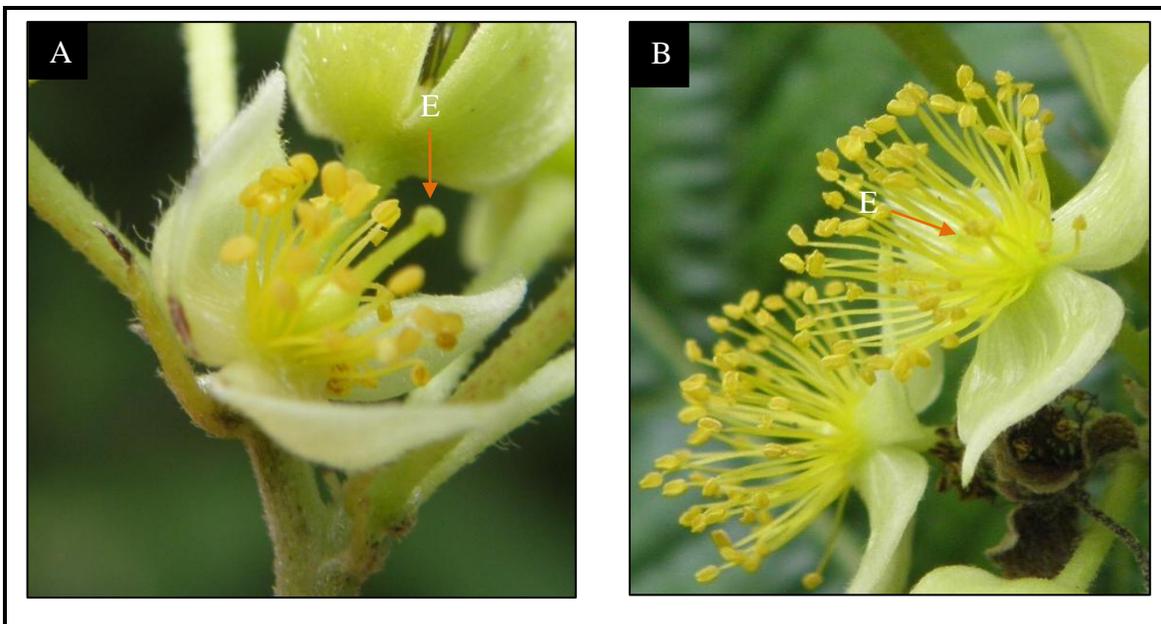


Figura 5. Morfos florales de *P. krusei*. **A)** Flores del morfo hermafrodita, donde el gineceo es más largo que las anteras. **B)** Flores del morfo masculino, donde el gineceo se encuentra reducido, y las anteras lo sobrepasan en longitud. Estigma (E).

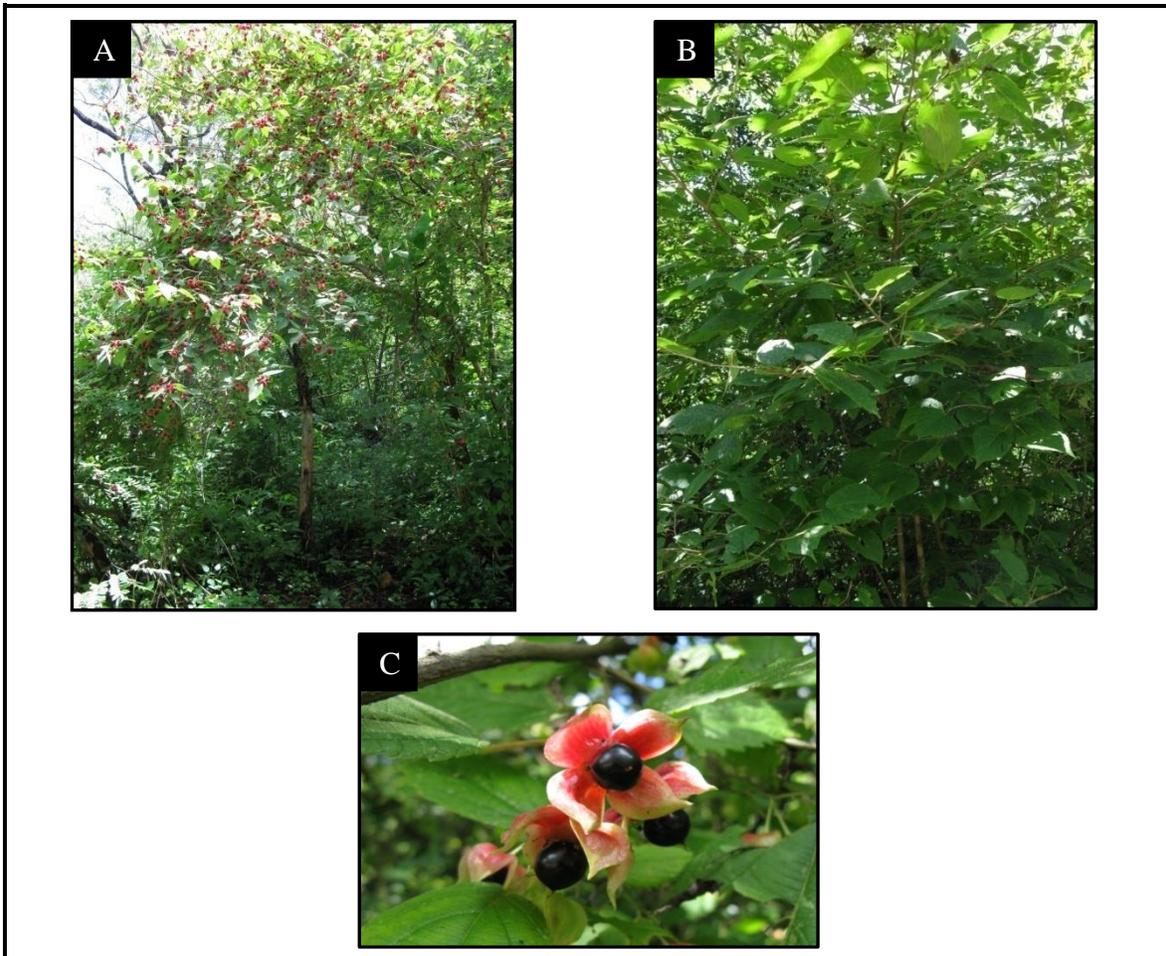


Figura 6. Árboles de los morfos hermafrodita y masculino en etapa de producción de frutos. **A)** Árbol del morfo hermafrodita con frutos. **B)** Árbol del morfo masculino sin frutos. **C)** Fruto del morfo hermafrodita. La baya es de color negro-morado y los sépalos que la rodean son de color rojo-amarillo.

El estigma

El estigma, que es la parte receptiva del gineceo, tiene una morfología diferente en las flores de pistilo largo (hermafrodita) que en las flores de pistilo corto (masculino). En el morfo floral hermafrodita el estigma tiene mayor superficie que en el morfo masculino (Figuras 7A y B), las papilas estigmáticas son uniseriadas y pluricelulares, y se observan perfectamente turgentes (Figura 8C). Al microscopio

electrónico de barrido, el estigma del morfo hermafrodita es trilobulado (Figura 8A), mientras que el morfo masculino posee un solo lóbulo, y las papilas se observan colapsadas (Figura 8B y D).

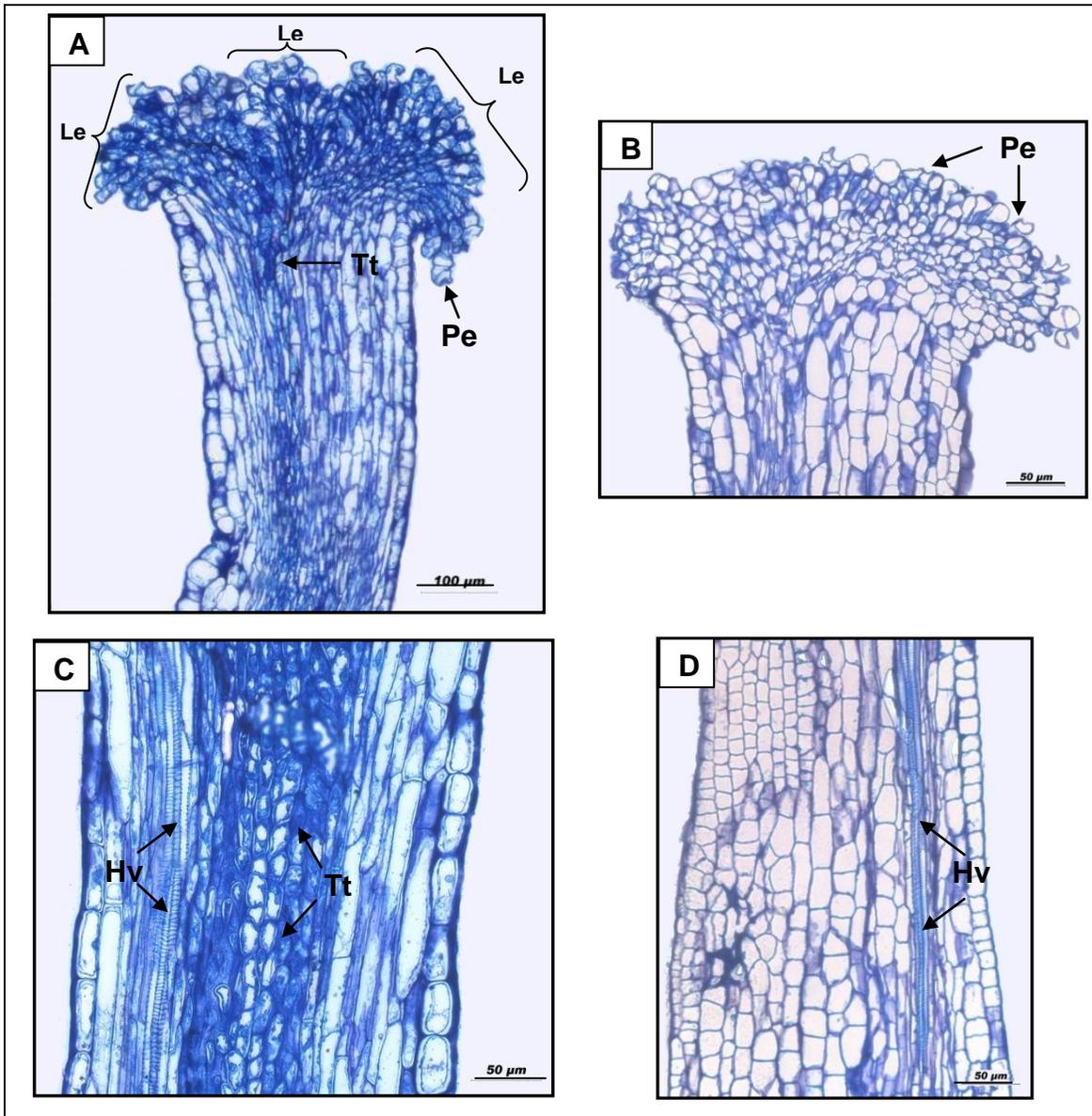


Figura 7. Anatomía del estigma y del estilo en morfos hermafrodita y masculino en corte longitudinal. **A)** Estigma del morfo hermafrodita. **B)** Estigma del morfo masculino. **C)** Estilo del morfo hermafrodita. **D)** Estilo del morfo masculino. Lóbulo estigmático (Le), papilas estigmáticas (Pe), haz vascular (Hv) y tejido de transmisión (Tt).

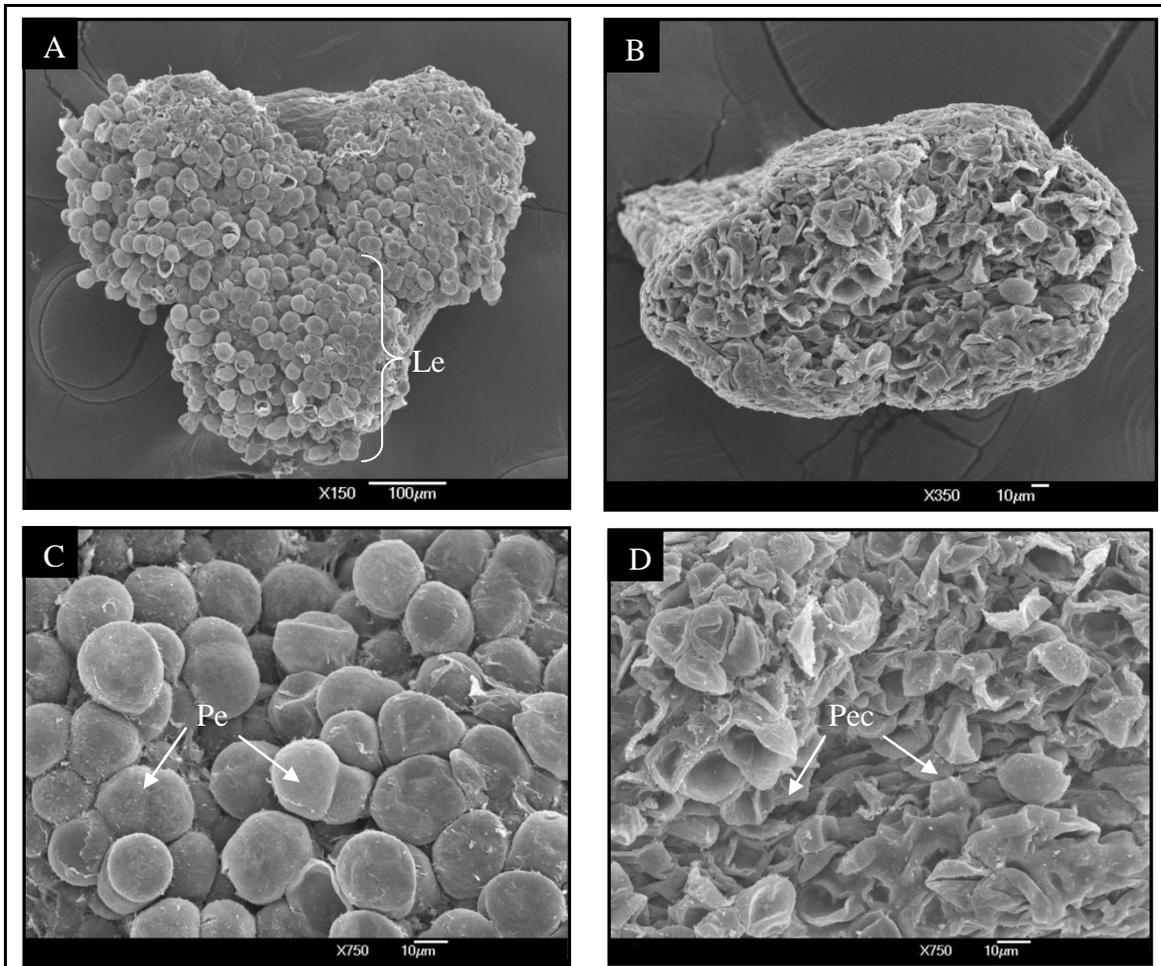


Figura 8. Micromorfología de estigma y papilas estigmáticas de los morfos hermafrodita y masculino. **A)** Estigma trilobular. Morfo hermafrodita. **B)** Estigma con papilas colapsadas. Morfo masculino. **C)** Papilas estigmáticas. Morfo hermafrodita. **D)** Papilas estigmáticas colapsadas. Morfo masculino. Lóbulo estigmático (Le), papilas estigmáticas (Pe) y papilas estigmáticas colapsadas (Pec).

El estilo

El estilo en ambos morfos es del tipo sólido, ya que tanto transversalmente (Figura 9), como longitudinalmente (Figuras 10A y B), no hay presencia del canal estilar. En el estilo del morfo hermafrodita, en sección longitudinal, existe un tejido de transmisión en la parte central bien formado y conspicuo, flanqueado por tejido

vascular y por parénquima, y hacia la parte externa se observan células epidérmicas con cutículas gruesas (Figura 7C). En el morfo masculino no se encuentra tejido de transmisión, solamente hay tejido parenquimatoso atravesado por haces vasculares. Las células epidérmicas son más pequeñas y sus cutículas más delgadas (Figura 7D). El estilo, en secciones transversales, presenta una forma casi circular en el morfo hermafrodita (Figura 9A, C y E), mientras que en el morfo masculino la estructura se contrae adquiriendo formas irregulares (Figura 9B, D y F).

El ovario

El ovario presenta diferencias importantes entre el morfo hermafrodita y el morfo masculino (Figura 11). El ovario del morfo hermafrodita presenta óvulos grandes y diferenciados, que ocupan gran parte de la cámara ovárica (Figuras 11A y 12A), y la placenta posee haces vasculares bien diferenciados (Figuras 11C y 12C). En contraste, el ovario del morfo masculino presenta óvulos más pequeños, y sin diferenciación, detenidos en la etapa de iniciación de los tegumentos, cuando aún no cubren la nucela, lo que implica que el micrópilo aún no está formado (Figura 12B). Esta es la etapa más avanzada que se presenta en el desarrollo de estos óvulos antes de degenerar (Figura 11B y D). El morfo hermafrodita presenta una placentación basal (Figura 13A). En el morfo masculino la placentación es también basal, aunque aquí no se observa tan claro como en morfo masculino, ya que la placenta también puede ser observada ligeramente desplazada hacia la pared del ovario (Figuras 11B y 13B). En ambos morfos, el ovario está constituido por 3

placentas intrusivas, que originan los funículos en la base del ovario, y que representan la fusión marginal de los tres carpelos, los cuales forman un ovario unilocular (Figuras 13C y D).

Los óvulos

Los óvulos del morfo hermafrodita en etapa de flor en antesis son muy alargados, bitégmicos, campilótopos, tienen un obturador funicular en el área próxima al micrópilo, y presentan un saco embrionario muy alargado y curvo (Figuras 14A y B). El saco embrionario presenta una composición celular típica de los sacos embrionarios tipo Polygonum, los cuales son heptacelulares y octanucleados. En el extremo micropilar presentan un aparato ovocelular compuesto por dos células sinérgidas y una ovocélula (Figura 14C), una célula central binucleada (Figura 14D y E), y tres células antípodas (Figura 14F). El micrópilo está formado por el tegumento externo (Figura 14B). En contraste, los óvulos del morfo masculino no están diferenciados (no existe el saco embrionario), y se encuentran en proceso de degeneración (Figura 15). Además, algunos de estos óvulos pueden presentar aberraciones, como es la presencia de dos óvulos fusionados por el mismo tegumento externo (Figura 13D).

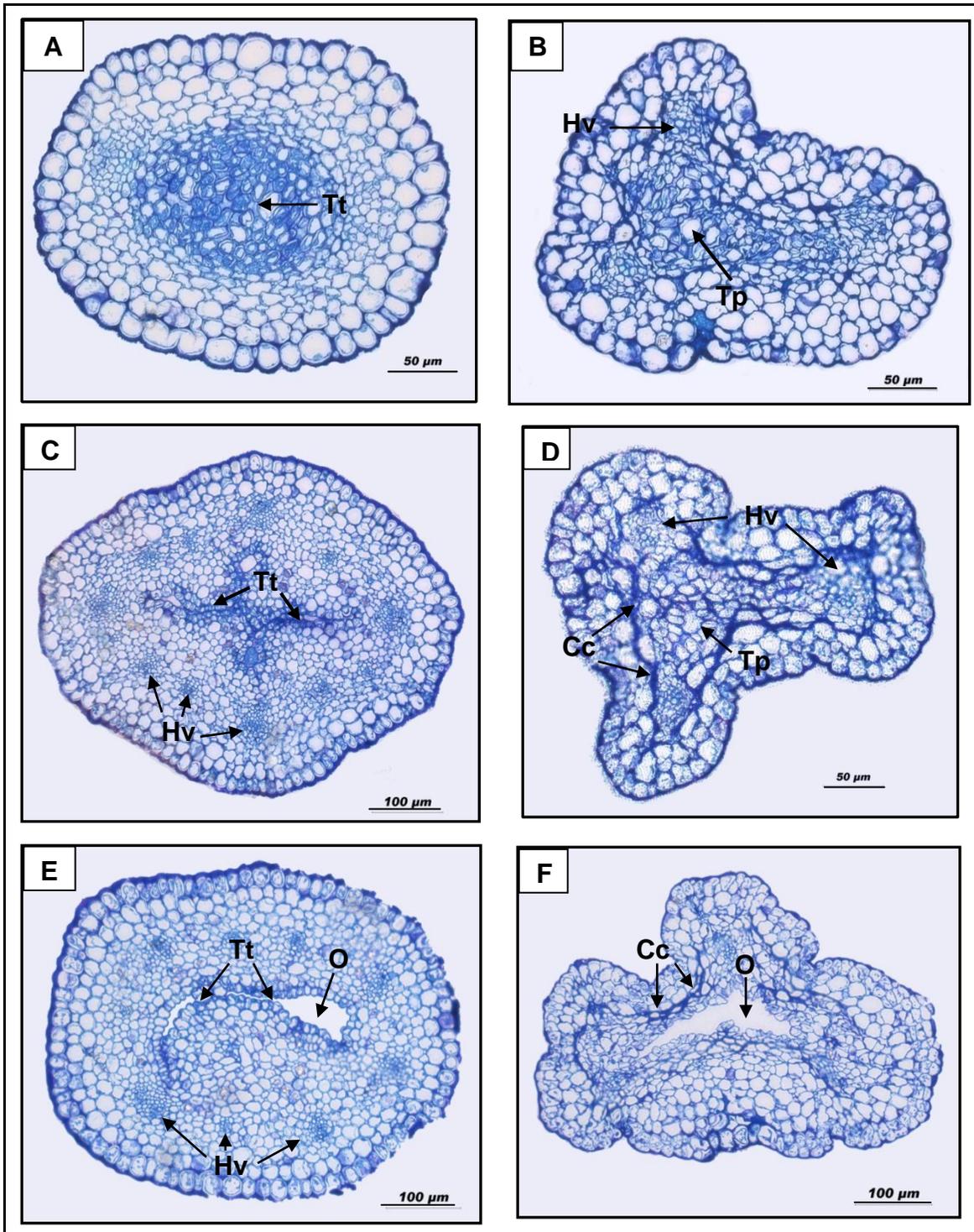


Figura 9. Anatomía de estilo en corte transversal. **A), C) y D)** Morfo hermafrodita. **B), D) y F)** Morfo masculino. **A) y B)** próximo al estigma. **C) y D)** Parte intermedia, entre el estigma y el ovario. **E) y F)** próximo al ovario. Tejido de transmisión (Tt), tejido parenquimático (Tp), haz vascular (Hv), ovario (O) y células colapsadas (Cc).

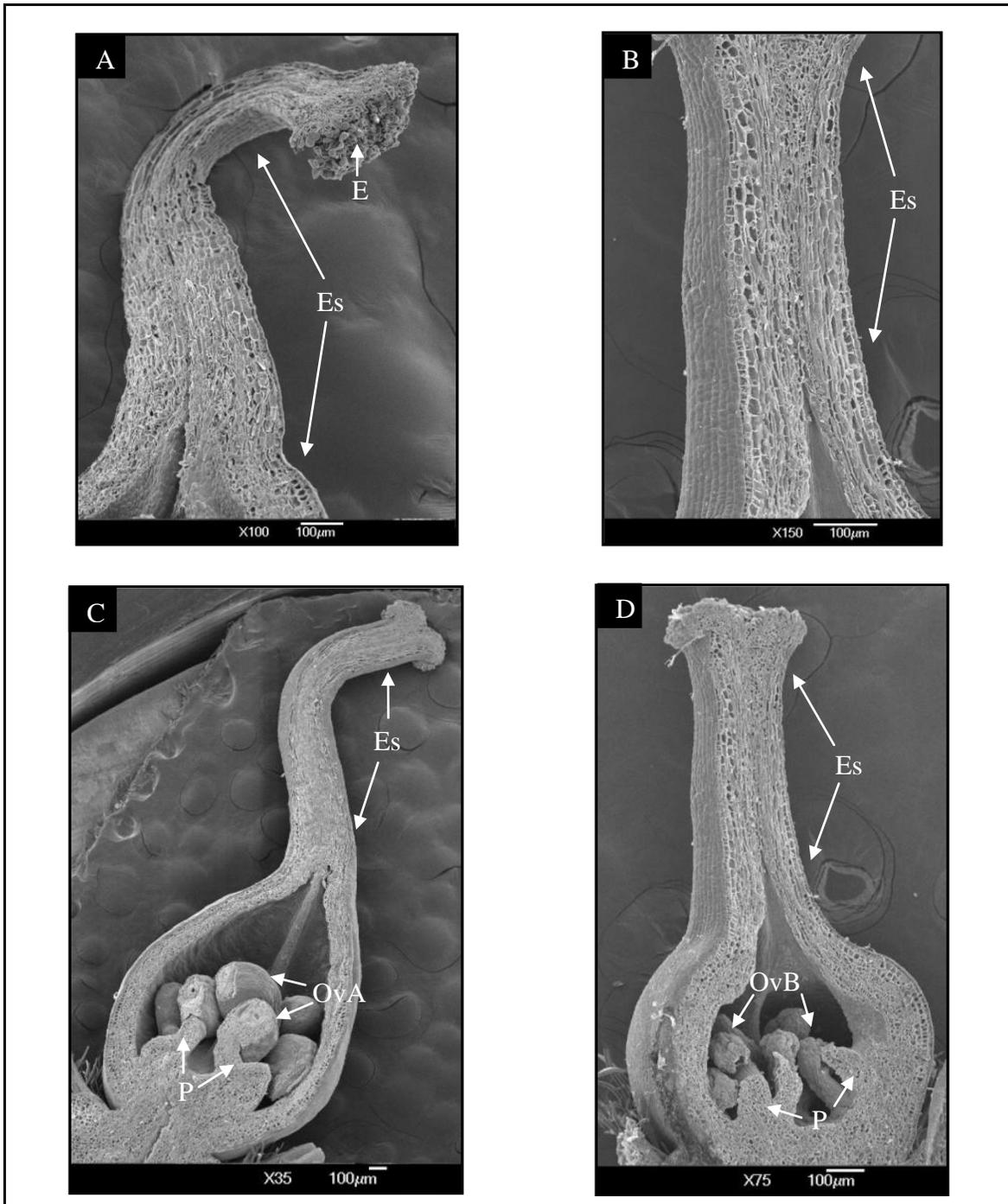


Figura 10. Micromorfología del gineceo en corte longitudinal de morfo hermafrodita y masculino. **A)** Estigma y estilo del morfo hermafrodita. **B)** Estilo del morfo masculino. **C)** Gineceo del morfo hermafrodita. **D)** Gineceo del morfo masculino. Estigma (E), estilo (Es), óvulo morfo hermafrodita (OvA), óvulo morfo masculino (OvB) y placenta (P).

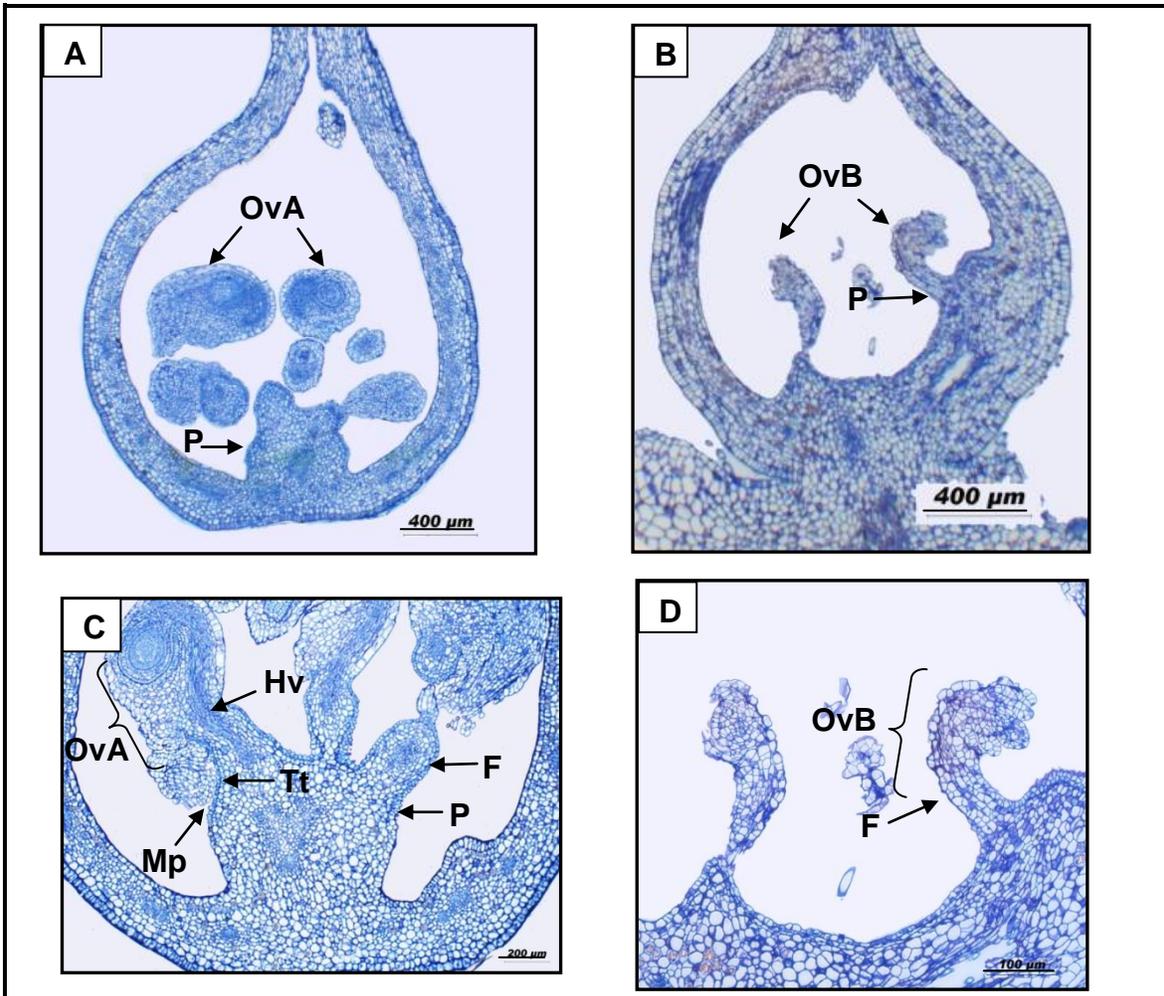


Figura 11. Anatomía del ovario en corte longitudinal. **A)** Ovario del morfo hermafrodita. **B)** Ovario morfo del morfo masculino. **C)** Placentación basal del morfo hermafrodita. **D)** Placentación basal del morfo masculino. Óvulo morfo hermafrodita (OvA), óvulo morfo masculino (OvB), placenta (P), haz vascular (Hv), tejido de transmisión (Tt), micrópilo (Mp) y funículo (F).

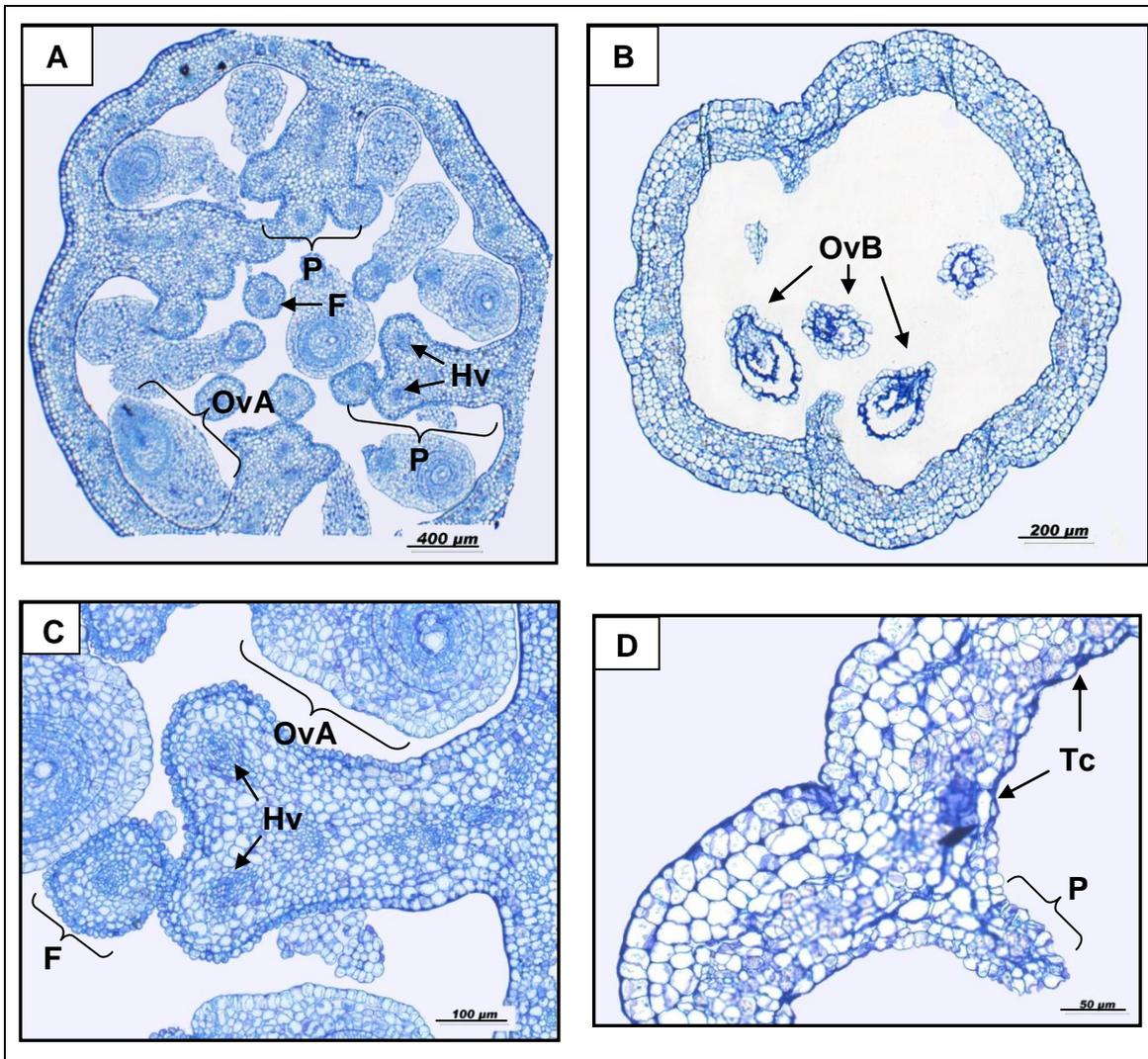


Figura 12. Anatomía del ovario en corte transversal. **A)** Ovario del morfo hermafrodita con placentación intrusiva, mostrando los haces vasculares de los funículos insertados en la base del ovario. **B)** Ovario del morfo masculino con óvulos colapsados. **C)** Placenta intrusiva del morfo hermafrodita. **D)** Placenta y tejido colapsado de superficie interna del carpelo del morfo masculino. Placenta (P), funículo (F), haz vascular (Hv), óvulo morfo hermafrodita (OvA), óvulo morfo masculino (OvB) y tejido colapsado (Tc).

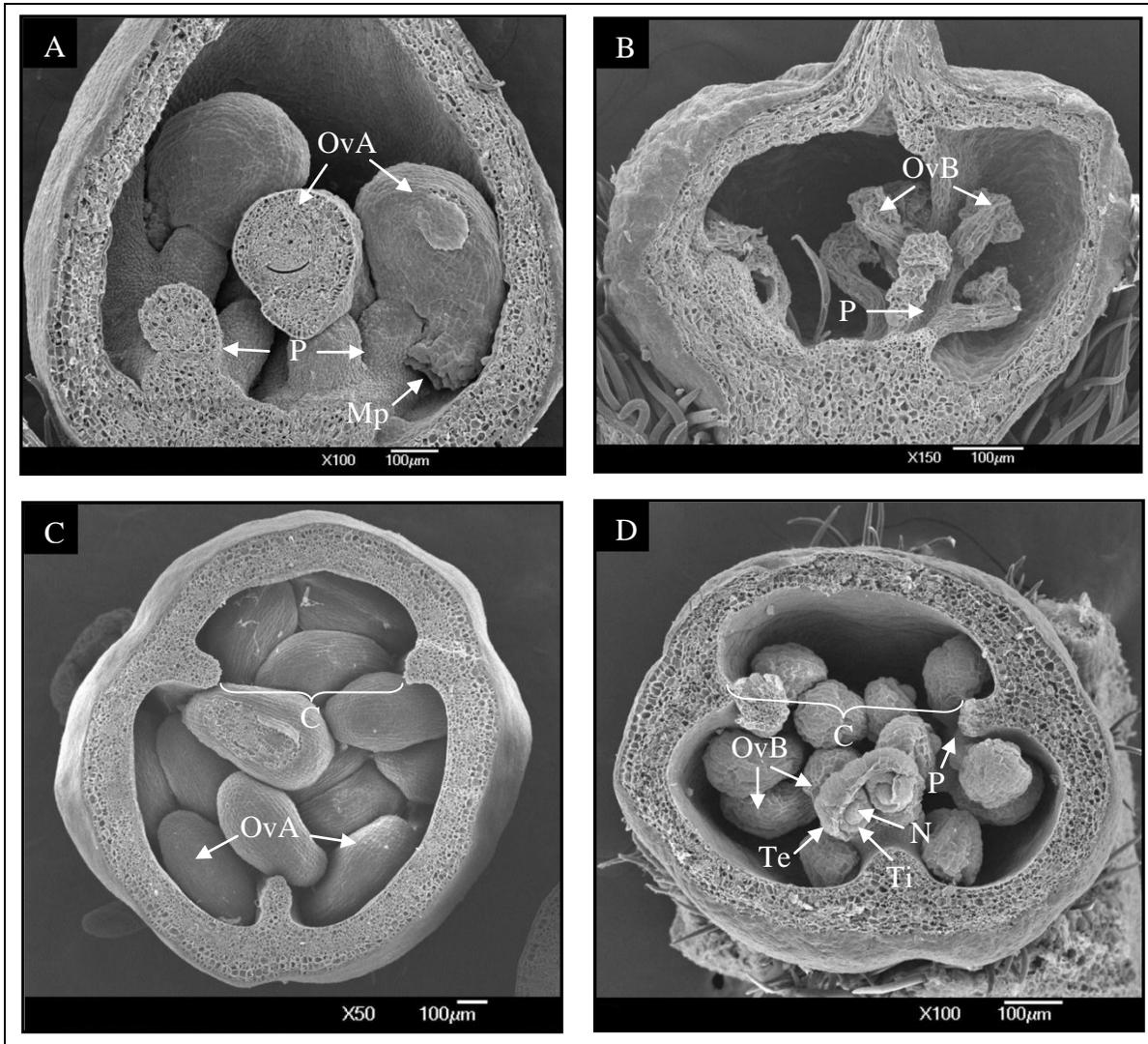


Figura 13. Micromorfología de ovario en corte longitudinal (**A y B**) y transversal (**C y D**). **A**) Ovario del morfo hermafrodita con placentación basal. **B**) Ovario del morfo masculino con placentación basal. **C**) Ovario del morfo hermafrodita tricarpelar con óvulos bien formados. **D**). Ovario del morfo masculino tricarpelar con óvulos colapsados y aberraciones. Óvulo morfo hermafrodita (OvA), óvulo morfo masculino (OvB), placenta (P), micrópilo (Mp), carpelo (C), tegumento externo (Te), tegumento interno (Ti) y nucela (N).

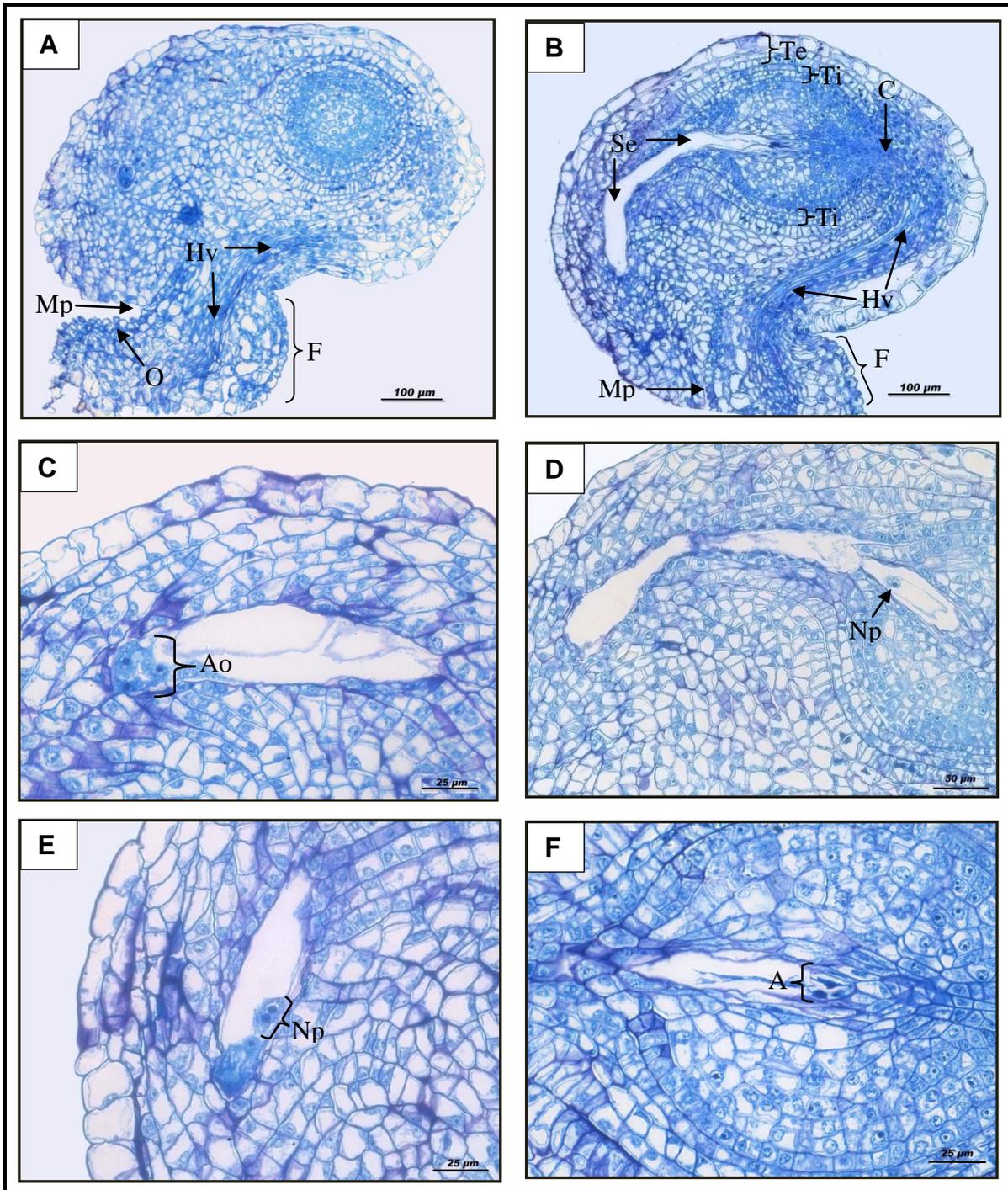


Figura 14. Secciones longitudinales de óvulos del morfo hermafrodita. **A)** Obturador y micrópilo. **B)** El saco embrionario es muy largo y curvado. El haz vascular termina próximo a la cálaza. **C)** El aparato ovocelular. **D)** Célula, posiblemente núcleo polar. **E)** Núcleos polares. **F)** Tres células antípodas. Micrópilo (Mp), obturador (O), funículo (F), saco embrionario (Se), haz vascular (Hv), cálaza (C), tegumento interno (Ti), tegumento externo (Te), aparato ovocelular (Ao), núcleo polar (Np) y antípodas (A).

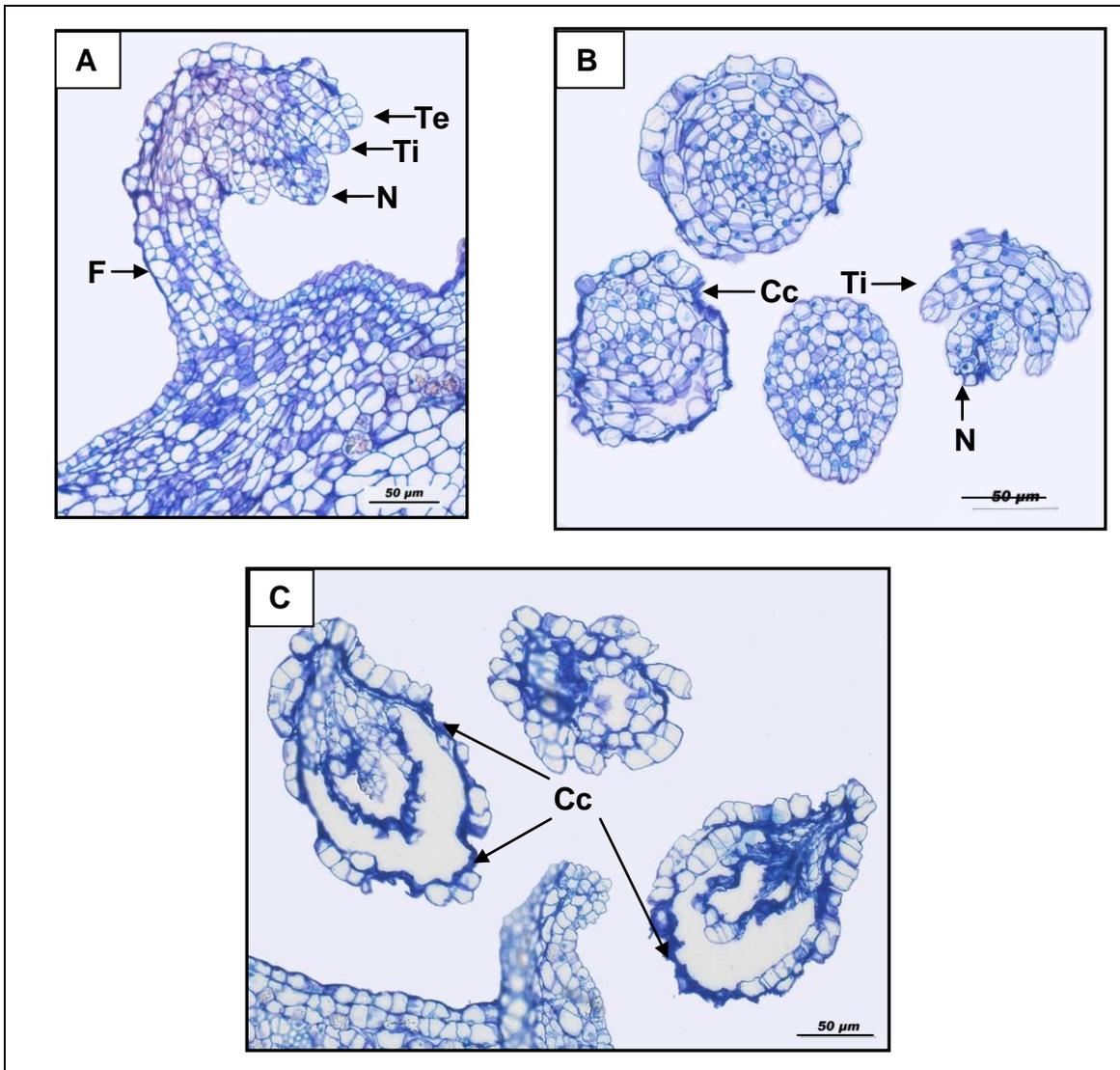


Figura 15. Anatomía de óvulos del morfo masculino de flores en anthesis. **A)** Óvulo atrofiado en etapa de diferenciación de los tegumentos. **B) y C)** Óvulos atrofiados bordeados con células colapsadas. Funículo (F), tegumento externo (Te), tegumento interno (Ti), nucela (N) y células colapsadas (Cc).

DISCUSIÓN

En *Prockia krusei* existen dos morfos florales que se distinguen, no solamente por la longitud y el diámetro del gineceo con respecto a la longitud de los estambres, sino además por la ausencia de óvulos maduros en la flor en antesis en el morfo masculino. Las diferencias estructurales y morfológicas que exhiben los gineceos de ambos morfos florales permiten concluir que las flores del morfo masculino son unisexuales por aborción, debido a que existe un desarrollo inicial del gineceo en este morfo, pero éste nunca llega a ser funcional. El gineceo en el morfo masculino presenta: estigma con papilas colapsadas, ausencia de tejido de transmisión, células colapsadas en la cámara ovárica, placenta con células colapsadas y óvulos, cuyo máximo estadio de desarrollo se presenta en la diferenciación de los tegumentos, y que además, eventualmente exhiben aberraciones. En contraste, los gineceos del morfo hermafrodita, exhiben células turgentes en el estigma, tejido de transmisión, placenta y óvulos maduros bien formados, donde se reconocen los componentes celulares del saco embrionario maduro. Esto trae como consecuencia que, aunque morfológicamente ambos morfos son flores hermafroditas, fisiológicamente solamente uno de ellos lo es, mientras que el otro morfo es masculino, ya que se han encontrado pruebas a favor de la viabilidad del androceo en ambos morfos florales (Mayorga-Lizaola, 2013). Además, las observaciones en campo realizadas por nuestro equipo de trabajo apoyan la existencia de plantas masculinas que nunca producen frutos, mientras que las hermafroditas los producen en abundancia. Esto convierte a la especie *P. krusei* en una especie androdioica. Dado que el androdioicismo es un

sistema reproductivo sumamente escaso, el caso de estudio representa un modelo potencial para estudios de evolución de sistemas de reproducción en plantas.

En las plantas unisexuales del tipo I (unisexuales por aborción), el arresto del desarrollo del androceo o del gineceo puede ocurrir por vía de diversos mecanismo en cualquier estadio del desarrollo del órgano, desde la incepción hasta la maduración (Ainsworth, 2000). Al comparar el desarrollo esperado para los óvulos con los resultados obtenidos, es posible observar que es en el estadio de diferenciación de los tegumentos donde inicialmente ocurrió el paso que modificó el desarrollo del gineceo, y que culminó en la no funcionalidad de éste y en el surgimiento de la flor unisexual masculina, ya que su desarrollo se detiene en este momento, y por tanto los tegumentos no continúan diferenciándose y los óvulos nunca alcanzan a formar un saco embrionario, como si ocurre en el gineceo del morfo hermafrodita. El desarrollo esperado de los óvulos comienza al emerger éste sobre la placenta como una protuberancia cónica con la primera célula esporógena, la cual se convierte casi inmediatamente en la célula arquesporial. Los dos tegumentos se inician por divisiones periclinales en la epidermis, primero el tegumento interno, y luego el externo. La aparición de éstos delimita inicialmente la nucela y la van envolviendo al crecer. Es justo donde empiezan a diferenciarse los tegumento donde se detiene el crecimiento de los óvulos en las flores masculinas de *P. krusei*. El desarrollo de los tegumentos se completa cuando el saco embrionario está listo para ser fecundado (Esau, 1977), estadio de desarrollo que concuerda con lo observado en las flores hermafroditas.

La familia Salicaceae se caracteriza por tener óvulos anátropos (Johri *et al.*, 1992), sin embargo, el óvulo exhibido por *P. krusei* presenta un saco embrionario con una marcada curvatura, lo que convierte a este óvulo en tipo campilótropo. Se requieren más estudios para confirmar si en efecto el óvulo es campilótropo, y si este fuera el caso, determinar si se trata de una autapomorfia, en caso de que se presente solamente en esta especie, o bien si es una simplesiomorfía, en caso de que las demás especies pertenecientes al género también lo presentaran.

El saco embrionario encontrado en *P. krusei* es octanucleado y heptacelular, lo cual concuerda con lo esperado, ya que la familia Salicaceae se caracteriza por tener un saco embrionario de tipo Polygonum (Johri *et al.*, 1992). Por esto, es posible establecer con cierto grado de confiabilidad, que el saco embrionario de *P. krusei* es de tipo Polygonum. Sin embargo, para poder concluir esto, se requeriría hacer el estudio del desarrollo del óvulo y saco embrionario. Los resultados indican que el óvulo de *P. krusei* es bitégmico, y para la familia Salicaceae hay reportados tanto óvulos unitégmicos, como óvulos bitégmicos (Johri, 1984).

Los estudios para corroborar la existencia del sistema sexual androdioico involucran entre otros: el análisis de la viabilidad del polen en ambos morfos florales, el desarrollo de las anteras, la germinación de granos de polen, y la realización de cruza controladas. Además, es necesario hacer un estudio de toda la población para determinar las frecuencias de individuos hermafroditas e individuos masculinos. Aparentemente, en la población la frecuencia de individuos hermafroditas es mayor a la de individuos masculinos, ya que, de los individuos

catalogados en el sitio de estudio, la proporción de individuos hermafroditas (18 individuos) es mayor a la de individuos masculinos (11 individuos). De ser así, la población correspondería con lo esperado para las poblaciones androdioicas, ya que según los modelos para el establecimiento del androdioicismo, los individuos masculinos siempre estarán en una marcada menor frecuencia con relación a los individuos hermafroditas, contrario a lo que ocurre en las poblaciones con dioicismo críptico, donde la proporción de individuos se aproxima a 1:1 (Charlesworth, 1984; Pannell, 2002).

El género *Prockia* se compone por 6 especies: *P. crucis*, *P. costaricensis*, *P. flava*, *P. pentamera* (Sleumer, 1980 en: Jiménez y Cruz, 2005), *Prockia krusei* (Jiménez y Cruz, 2005) y *Prockia oaxacana* (Jiménez *et al.*, 2008). Las flores exhibidas por sus miembros son descritas como morfológicamente hermafroditas, con sépalos alados en el botón floral, apétalas (eventualmente con pétalos diminutos), con ovarios multiloculares (3-6 lóculos) y placentación axilar (Gilg, 1960; Alford 2003). Lo anterior resulta problemático para la ubicación definitiva de *P. krusei* y *P. oaxacana* dentro de este género, ya que ambas especies se han reportado con ovario unilocular y placentación parietal intrusiva (Jiménez y Cruz, 2005; Jiménez *et al.*, 2008). Esto es parcialmente confirmado por el presente estudio, ya que tanto la anatomía como la micromorfología del gineceo en ambos morfos florales permiten confirmar que los ovarios de *P. krusei* son uniloculares. Pero los resultados difieren en cuanto a la placentación, ya que en ambos morfos la placentación es basal, y si bien la placenta intrusiva surge de los márgenes de

los carpelos, los funículos se insertan en las base del gineceo, haciendo de ésta una placentación basal, y no parietal como se tenía reportado.

Estudios cladísticos, basados en datos moleculares y morfológicos, dividen a la tribu Prockiae en tres clados separados, uno de los cuales está conformado por el genero *Prockia* y por los géneros *Pineda*, *Hasseltopsis*, *Neosprucea* y *Banara*. El hecho de que *Prockia crucis*, especie tradicionalmente perteneciente al género *Prockia*, haya quedado incluida en el grupo interno de las especies del género *Banara* ha dado lugar a la hipótesis de que los géneros *Banara* y *Prockia* pudieran ser polifiléticos (Alford, 2005 en: Jiménez *et al.*, 2008). Otro dato relevante que se extrae del mencionado estudio es que otra especie, *Prockia pentamera* (con ovario trilocular), tradicionalmente perteneciente al genero *Prockia*, aparece como el grupo hermano de varias especies de *Banara* (ovario unilocular) y de *P. crucis* (ovario trilocular), por lo que se ha sugerido que el número de lóculos en el ovario no es un criterio indisputable para la ubicación de *P. krusei* y *P. oaxacana* en *Banara* o en *Prockia* (Jiménez *et al.*, 2008).

En cuanto al androdioicismo exhibido por *Prockia krusei*, es pertinente mencionar, que *Prockia oaxacana*, especie que exhibe la mayor similitud con *P. krusei* y que también exhibe dos tipos de flores morfológicamente hermafroditas, ha sido reportada como planta poligamodioica, donde algunos individuos tienen flores estaminadas y algunas flores pistiladas, mientras otros poseen solamente flores pistiladas. En esta especie, las flores pistiladas cuentan con numerosos estambres, pero el polen se reporta como deforme y sin contenido celular, por

tanto estéril, y las flores estaminadas poseen un pistilodio, que es un gineceo reducido (Jiménez *et al.*, 2008). Lo anterior permite concluir que los morfos florales de *P. oaxacana* guardan cierta similitud con los morfos florales de *P. krusei*, ya que en estos últimos el morfo hermafrodita, es morfológicamente similar a las flores pistiladas de *P. oaxacana*, y el morfo masculino presenta un gineceo reducido no funcional, similar al pistilodio observado en la flor estaminada de *P. oaxacana*. Pero a diferencia de lo reportado para la flor pistilada de *P. oaxacana*, en *P. krusei* se ha demostrado que el desarrollo del polen es similar para ambos morfos florales, lo que hace concluir que en ambos morfos el polen es viable (Mayorga-Lizaola, 2013), y por tanto, el morfo hermafrodita de *P. krusei* es tanto morfológicamente como fisiológicamente hermafrodita, lo que convierte a *Prockia krusei* en una especie androdioica.

CONCLUSIONES

- El gineceo es tricarpelar en ambos morfos. El estigma es, en el morfo hermafrodita, trilobulado con papilas multicelulares y uniseriadas.
- En el morfo masculino las papilas estigmáticas se encuentran colapsadas.
- El estilo es sólido en ambos morfos, presentando tejido de transmisión únicamente el morfo hermafrodita.
- El ovario del morfo hermafrodita presenta placentación basal, mientras que en el morfo masculino esta placentación, también basal, aparenta estar desplazada hacia la parte inferior de la pared del gineceo, en los márgenes de los carpelos.
- Los óvulos del morfo hermafrodita son campilótopos, ya que tienen un saco embrionario muy grande y curvado, heptacelular y octanucleado, con un aparato ovocelular (formado por dos células sinérgidas y una ovocélula), una célula central con dos núcleos polares, y tres células antípodas.
- Los óvulos del morfo masculino están atrofiados, su desarrollo se interrumpe en el momento en que los tegumentos se están desarrollando.
- La mutación que dio lugar al surgimiento de la flor unisexual masculina tuvo lugar en el estadio de desarrollo de los tegumentos.
- La morfología y estructura de los gineceos de *P. krusei* indica que es una especie androdioica.

Dado los resultados de esta investigación, aunados a la viabilidad del androceo reportado para ambos morfos florales de *Prockia krusei* (Mayorga-Lizaola, 2013), se concluye que esta especie es androdioica.

BIBLIOGRAFÍA

- Ainsworth C. 2000. Boys and girls come out to play: the molecular biology of dioecious plants. *Annals of Botany* 86: 211-221
- Alford M.H. 2003. Claves para los géneros de Flacourtiaceae de Perú y del Nuevo Mundo. *Arnaldoa* 10: 19-38.
- Alford M.H. 2005. Systematics Studies in Flacourtiaceae. Ph. D. Dissertation. Cornell University. Ithaca New York.
- Akimoto J., T. Fukuhara y K. Kikuzawa. 1999. Sex ratios and genetic variation in a functionally androdioecious species, *Schizopepon bryoniaefolius* (Cucurbitaceae). *American Journal of Botany* 86 (6) : 880-886
- Bawa K.S. 1980. Evolution of dioecy in flowering plants. *Annual Review of Ecology and Systematics* 11: 15-39
- Bhojwani S.S. y S.P. Bhatnagar. 2000. The embryology of angiosperms. Vikas Publishing House. Delhi. p: 67-106
- Batygina T. 2002. Embryology of Flowering Plants. Science Publishers. New Hampshire. p: 93 152
- Charlesworth B. y D. Charlesworth. 1978. A model for the evolution of dioecy and gynodioecy. *The American Naturalist* 122: 975-997
- Charlesworth D. 1984. Androdioecy and the evolution of dioecy. *Biological Journal of the Linnean Society* 23: 333-348

- Charlesworth D. 1999. Theories of the evolution of dioecy. En: Geber M., T. Dawson y L. Delph. (Eds.). Gender and Sexual Dimorphism in Flowering Plants. Springer Verlag. Heidelberg. p:33-56
- Cheung A. 1995. Pollen-pistil interactions in compatible pollination. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 92: 3077-3080
- Dommée B., A. Geslot, J.D. Thompson, M. Reille y N. Denelle. 1999. Androdioecy in the entomophilous tree *Fraxinus ornus* (Oleaceae). *New Phytologist* 143: 419-426
- Dorken E.M. y S.C.H. Barrett. 2004. Sex determination and the evolution of dioecy from monoecy in *Sagittaria latifolia* (Alismataceae). *Proceedings of the royal society of London* 271: 213-219
- Esau K. 1977. Anatomy of Seed Plants. John Wiley & Sons. NY. p: 379-383; 415-417
- Eckhart V. 1999. Sexual Dimorphism in Flowers and Inflorescences. En: Geber M., T. Dawson y L. Delph (Eds.). Gender and Sexual Dimorphism in Flowering Plants. Springer Verlag. Heidelberg. p: 123-142
- Endress P. K. 1994. Diversity and Evolutionary Biology of Tropical Flowers. Cambridge University Press. Cambridge. p: 45-92
- Fahn A. 1990. Plant Anatomy. Pergamon Press. Israel. p: 453-454
- Filho A.M., P.W. Fritsh, F. Almeda y A.B. Matins. 2009. Cryptic dioecy is widespread in South American species of *Symplocos* section *Barberina* (Symplocaceae). *Plant Systematics and Evolution* 277: 99-104

- Gilg E. 1960. Flacourtiaceae. En: Engler A. Die natürlichen Pflanzenfamilien. Duncker & Humboldt. Berlin. 422 p.
- Geyson R. 1994. The Development of Flowers. Oxford University Press. NY. 18 p.
- Johri B.M. 1984. Embriology of Angiosperms. Springer-Verlag. Berlin-Heidelberg.p:140
- Johri B.M., K.G. Ambegaokar y P.S. Srivastava. 1992. Comparative Embriology of Angiosperms. Springer-Verlag. Berlin-Heidelberg. p: 122-124
- Judd W. 2002. Plant Systematics. A phylogenetic Approach. Sinauer Associates. Massachusetts. p:354-356
- Jiménez J. y R. Cruz. 2005. *Prockia krusei* (Salicaceae), una Especie Nueva del Estado de Guerrero, México. *NOVON* 15: 297-300
- Jiménez J., R. Cruz y K. Vega. 2008. *Prockia oaxacana* (Salicaceae), una especie nueva del estado de Oaxaca, México. *NOVON* 18: 351-356
- Liston A., L.H. Rieseberg y T.S. Elias. 1993. Functional androdioecy in the flowering plant *Datisca glomerata*. *Nature* 343: 641-642
- Landry C.L y B.J. Rathcke. 2007. Do inbreeding depression and relative male fitness explain the maintenance of androdioecy in white mangrove, *Laguncularia racemosa* (Combretaceae)?. *New Phytologist* 176: 891-901
- Muenchow G. E. 1998. Subandrodioecy and male fitness *Sagittaria lancifolia* subsp. *Lancifolia* (Alismataceae). *American Journal of Botany* 85(4): 513-520

- Mitchell C. H. y P. K. Diggle. 2005. The evolution of unisexual flowers: morphological and functional convergence results from diverse developmental transitions. *American Journal of Botany* 92 (7) : 1068-1076
- Mayorga-Lizaola K. 2013. Morfología y desarrollo de las estructuras reproductivas masculinas en *Prockia krusei* (Salicaceae): un sistema androdioico. Tesis de licenciatura (Biólogo), Facultad de Ciencias, Universidad Nacional Autónoma de México, Mexico, D.F. 00 pp
- Ornduff, R. 1966. The origin of dioicism from heterostyly in *Nymphoides* (Menyanthaceae). *Evolution* 20: 309-314
- Orozco Arroyo G. y S. Vázquez Santana. 2013. Capitulo X. Sistemas de reproducción sexual. En: Márquez G.J., M. Collazo, M.J. Martínez y A. Orozco (Eds.). Biología de angiospermas. Prensas de la Facultad de Ciencias. Universidad Nacional Autónoma de Mexico. Mexico, D.F. p: 158-166
- Pannell J. 2002. The evolution and maintenance of androdioecy. *Annual Review of Ecology and Systematics* 33: 397-425
- Rieseberg L.H., C.T. Philbrick, P.E. Pack, M.A. Hanson y P. Fritsch. 1993. Inbreeding depression in androdioecious populations of *Datisca Glomerata* (Datisceae). *American Journal of Botany* 80(7): 757-762
- Sleumer H. 1980. Flacourtiaceae. En: Rogerson C. T. (Ed.) *Flora Neotropica Monograph* 22. The New York Botanical Garden. New York. p: 1-499

- Sakai A. y S. Weller. 1999. Gender and Sexual Dimorphism in Flowering Plants: A Review of Terminology, Biogeographic patterns, Ecological Correlates, and Phylogenetic Approaches. En: Geber M., Dawson T. y Delph L. (Eds.). Gender and Sexual Dimorphism in Flowering Plants. Springer Verlag. Heidelberg. p: 1-25
- Stewart A.D. y P.C. Phillips. 2002. Selection and maintenance of androdioecy in *Caenorhabditis elegans*. *Genetics* 160: 975-978
- Shivanna K. 2003. Pollen Biology and Biotechnology. Science Publishers. New Hampshire. p: 140-160
- Singh G. 2004. Plant Systematics. An integrated Approach. Science Publishers. Delhi. p: 450-453
- Vassiliadis C., P. Saumitou-Laprade, J. Lepart y F. Viard. 2002. High male reproductive success of hermaphrodites in the androdioecious *Phillyrea angustifolia*. *Evolution* 56 (7) : 1362-1373
- Weberling F. 1992. Morphology of flowers and inflorescences. Cambridge University Press. Cambridge. p : 139-150
- Webb C. 1999. Empirical Studies: Evolution and Maintenance of Dimorphic Breeding Systems. En: Geber M., T. Dawson y L. Delph (Eds.). Gender and Sexual Dimorphism in Flowering Plants. Springer Verlag. Heidelberg. p: 61-90
- Weeks S.C., B.R. Crosser, R. Bannett, M. Gray y N. Zucker. 2000. Maintenance of androdioecy in the freshwater shrimp, *Eulimnadia texana*:

estimates of inbreeding depression in two populations. *Evolution* 54(3): 878-887

- Weeks S.C., C. Benvenuto y S.K. Reed. 2006. When males and hermaphrodites coexist: a review of androdioecy in animals. *Integrative and Comparative Biology* 46 (4): 449-464
- Wolf D.E. y N. Takebayashi. 2004. Pollen limitation and the evolution of Androdioecy from Dioecy. *The American Naturalist* 163: 122-137.