



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA
DE MÉXICO

FACULTAD DE CIENCIAS

EMBRIOLOGÍA DE
Mammillaria dioica K. BRANDEGEE
(CACTACEAE)

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

BIÓLOGO

PRESENTA:

DANIEL SÁNCHEZ CARBAJAL



FACULTAD DE CIENCIAS
UNAM

TUTORA

DRA. SONIA VÁZQUEZ SANTANA

2007



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

Hoja de datos

1. Datos del alumno

Sánchez

Carbajal

Daniel

53 86 33 55

Universidad Nacional Autónoma de México

Facultad de Ciencias

Biología

098097807

2. Datos del tutor

Dra

Sonia

Vázquez

Santana

3. Datos del sinodal 1

Dr

Salvador

Arias

Montes

4. Datos del sinodal 2

M en C

Rosenda Margarita

Ponce

Salazar

5. Datos del sinodal 3

Dra

Silvia

Espinosa

Matías

6. Datos del sinodal 4

Dra

Margarita

Collazo

Ortega

7. Datos del trabajo escrito

Embriología de *Mammillaria dioica* K. Brandegees (Cactaceae)

52 pp

2007

RECONOCIMIENTOS

Este trabajo está dedicado a:

Mis padres, María Guadalupe y José Calixto, gracias por su amor, educación y apoyo.

Mis hermanos: Ángel, Gustavo y, especialmente, a Juan y Javier.

Ariana Istar, a quien quiero y admiro, porque ha sido esencial en esta parte de mi vida, ha estado conmigo en todo momento, regalándome sus miradas y sonrisas, consintiéndome; y que con sus palabras y anhelos me ha impulsado a trabajar y hacer siempre el mejor esfuerzo. Chiquita. . . ya sabes.

A Sonia por su paciencia y apoyo.

A mis amigos, especialmente a Ari I., Luis A., Gabi, Pedro D. y Chucho A.

Agradezco por su colaboración en este trabajo a:

Mis padres y hermanos.

Ariana Istar por su ayuda práctica e intelectual.

La Dra. Sonia Vázquez Santana por ser mi asesora y todo lo que ello implica.

La Dra. Margarita Collazo O. quien nos contacto con la gente adecuada para realizar el trabajo de campo y por su atenta revisión de este trabajo.

Al Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste, especialmente al Dr. José Luis León de la Luz por indicarme el mejor lugar y momento para realizar la colecta; al Dr. Ricardo Estrella; a Bruno Granados por darme alojamiento; a Poncho por su amabilidad y al M. en C. José Juan Pérez.

La Dra. Silvia Espinosa M. por su apoyo en el Microscopio Electrónico de Barrido y por las correcciones, apuntes y consejos hechos a este trabajo.

Al Dr. Salvador Arias M. por su atención y comentarios a este trabajo. A la M. en C. Margarita Ponce por ser mi maestra y por revisar este trabajo.

La Dr. Judith Márquez, Ricardo Wong y Anabel de Microcine.

Luis Antonio Salinas y Gabriela Ramírez.

La Universidad Nacional Autónoma de México.

El presente trabajo fue gestado y parcialmente realizado en el taller “Biología del desarrollo y función de las estructuras reproductoras en cactáceas”.

ÍNDICE

Resumen	1
Introducción	2
Antecedentes	4
Caracterización de la familia Pterostemonaceae	4
Estudios de la familia Pterostemonaceae	4
Estudios embriológicos de <i>Pterostemon</i>	5
Estudios embriológicos de las familias a las que ha pertenecido <i>Pterostemon</i>	6
Familia Saxifragaceae	6
Familia Grossulariaceae	8
Familia Escalloniaceae	9
Desarrollo de la semilla	9
Forma de la semilla	10
Embrión	10
Endospermo	11
Perispermo	12
Hipostasa y epistasas	12
Cubierta seminal	13
Descripción de <i>P. mexicanus</i>	14
Objetivos	15
Materiales y Métodos	16
Zona de colecta	16
Colecta y procesamiento del material	16
Microscopía Electrónica de Barrido	19
Inclusión en Paraplast	19
Inclusión en LRWhite	19
Germinación	22
Resultados	23
Micromorfología de la semilla	25
Desarrollo de la semilla	27
Descripción del óvulo	27
Desarrollo del embrión	28
Desarrollo del tejido de reserva	34
Desarrollo de la cubierta seminal	41
Germinación	45
Discusión	46
Conclusiones	51
Anexo. Cuadro comparativo de las características de los frutos y semillas de <i>P. mexicanus</i> y las familias Saxifragaceae, Grossulariaceae y Escalloniaceae	53
Bibliografía	55

RESUMEN

Mammillaria dioica es una de las especies de la familia Cactaceae que presenta flores unisexuales, se señala que su sistema reproductivo puede ser trioico o ginodioico, sin embargo las evidencias no han sido contundentes para demostrar su verdadera sexualidad. En este estudio se describe la embriología de *M. dioica*.

Se estudió una población de *M. dioica* de Baja California Sur, México, donde se encontraron dos morfos florales, uno bisexual y otro femenino, con una proporción de 67.5% y 32.5% respectivamente. Se colectaron flores en diferentes etapas de desarrollo y se procesaron mediante diversas técnicas de microscopía e histología.

La flor bisexual, al igual que la femenina, presenta un ovario con numerosos óvulos campilótrofos, bitégmicos y crasinucelados; el estilo y estigma están bien desarrollados. En la flor bisexual los estambres producen una gran cantidad de granos de polen. El desarrollo de la pared de la antera es de tipo monocotiledóneo, diferenciándose una epidermis, endotecio, capa media y tapete. Las tétradas de microsporas son tetraédricas y el grano de polen maduro es tricelular, con exina reticulada, tricolpado y altamente viable. La dehiscencia de la antera madura es longitudinal y extrosa.

En la flor femenina, las anteras se atrofian al iniciarse la meiosis de las células madres de las microsporas y en consecuencia no se forman granos de polen. El tapete muestra un desarrollo anormal, es biestratificado y el estrato interno desarrolla engrosamientos fibrosos en sus paredes celulares semejantes a las del endotecio; en la flor en antesis, las anteras se observan completamente colapsadas. En la presente investigación se observó por primera vez este fenotipo de esterilidad masculina, el cual, no había sido reportado para ninguna otra especie con flores unisexuales de la familia Cactaceae.

INTRODUCCIÓN

La familia Cactaceae incluye aproximadamente de 1500 a 1800 especies distribuidas en el continente americano, con centros de diversidad en las regiones áridas de Norteamérica y Sudamérica (Anderson, 2001).

Las flores de las cactáceas brotan de las aréolas (caracter morfológico distintivo de la familia Cactaceae) cercanas al ápice de los tallos o en sus costillas laterales. El receptáculo o pericarpelo envuelve al ovario y se extiende hacia arriba integrando un tubo con aréolas y escamas. En la parte superior del receptáculo se producen, en series espiraladas, los tépalos que integran el perianto; tienen simetría radiada, aunque existen algunos casos de zigomorfismo. Las flores son inferováricas (a excepción de algunas especies como *Pereskia aculeata*) y se encuentran hundidas en un tallo modificado (Bravo-Hollis y Sánchez-Mejorada, 1991; Anderson, 2001), son principalmente hermafroditas, sin embargo, hay plantas que por la atrofia del androceo o alguna parte del gineceo son funcionalmente unisexuales.

En las angiospermas, las flores muestran una gran diversidad en cuanto formas, tamaños y colores, no existe entre los seres vivos una estructura equivalente a las flores, que presente tanta diversidad (Barret, 2002). A pesar de esta diversidad, el 90% de las angiospermas producen flores bisexuales (hermafroditas), el otro 10%, ha evolucionado a la unisexualidad (Bawa y Beach, 1981; Ainsworth, 2000). Geber *et al.*, (1999) señalan que el dioicismo y otros sistemas de cruzamiento han surgido independientemente en muchas familias de angiospermas, y son encontrados en diversas floras alrededor del mundo.

La diversidad sexual en plantas se ha tratado de explicar desde un enfoque adaptativo, mediante los mecanismos que promueven la reproducción cruzada (alogamia) y que reducen la probabilidad de depresión por autogamia (Barret, 2002). Se considera que las flores hermafroditas han evolucionado por muchos mecanismos para promover la alogamia y evitar la depresión por endogamia. Existen muchas modificaciones florales para promover la polinización cruzada mediante mecanismos tales como la dicogamia, heterostilia, incompatibilidad sexual y la esterilidad unisexual (Dellaporta y Calderón-Urrea, 1993).

Aun cuando algunas plantas han separado los sexos en flores independientes para evitar la endogamia, Bawa (1980) y Bawa y Beach (1981) argumentan que la

evolución hacia el dioicismo no es dada enteramente por la presión de selección para incrementar la reproducción cruzada. Estos autores consideran que están involucrados otros factores ecológicos que pueden influir en la evolución hacia el dioicismo, tales como: la asignación de recursos para la función femenina o masculina, la selección sexual, la dispersión de las semillas, la polinización y la depredación.

Aunque se han reportado alrededor de 18 especies en la familia Cactaceae con flores unisexuales con un sistema de cruzamiento distinto al hermafrodita, son pocas las especies en las que se ha hecho un estudio embriológico que describa las etapas del desarrollo en las que se da el cambio a la unisexualidad (Strittmater *et al.*, 2002; Orozco, 2002, 2005; Núñez, 2004; Flores, 2005; Silva y Vázquez, com. pers.; Montero y Vázquez, com. pers.).

Mammillaria dioica K. Brandegees es un ejemplo dentro de la familia Cactaceae en la que se ha reportado un sistema de cruzamiento distinto al hermafrodita. Brandegees (1897), en la descripción original de la especie, refiere un sistema de cruzamiento trioico, mientras que Ganders y Kennedy (1978) describen un sistema de cruzamiento ginodioico para una población de esta especie. Sin embargo, no existe información precisa acerca de la unisexualidad de *M. dioica*, ya que en los trabajos en donde se hace referencia a esta característica (Brandegees, 1897; Lindsay y Dawson, 1952; Bemis *et al.*, 1972; Ganders y Kennedy, 1978) no existe una descripción clara de lo que ocurre en las poblaciones naturales, son informes cuya información está fragmentada.

Para una mejor comprensión de la diversidad sexual que ocurre en las plantas es necesario estudiar los mecanismos fisiológicos, de desarrollo y moleculares que determinan como ocurre la reproducción sexual y considerar por qué en algunas especies han evolucionado adaptaciones reproductivas particulares (Barret, 1998).

De acuerdo con la ya expuesto, el estudio del desarrollo floral y la embriología juegan un papel fundamental en el aporte de datos e interpretaciones y son un complemento directo de los estudios moleculares, ya que proporcionan información sobre el fenotipo, que es resultado de la expresión de los genes, ampliando así el conocimiento sobre la diversidad sexual en las plantas.

ANTECEDENTES

Mammillaria dioica

En *Mammillaria dioica* K. Brandegees (Fig. 1) el tallo es simple o cespitoso desde la base, cilíndrico, con el ápice redondeado, llega a medir hasta 35 cm de altura y hasta 10 cm de diámetro. Los tubérculos son cilíndricos, de consistencia firme, color verde-azulado, con jugo acuoso. Las axilas presentan tricomas y 5 a 15 cerdas tan largas como los tubérculos. Las aréolas son circulares, al principio con tricomas cortos, después desnudas. Tienen de 11 a 22 espinas radiales de de 5 a 8 mm de longitud, aciculares, rectas rígidas, blancas, algunas veces de color rosa, con la punta de tonos café hasta negra. Presenta de 1 a 4 espinas



Fig.1. *Mammillaria dioica*

centrales, de 8 a 15 mm de longitud, todas son gruesas y aciculares, rígidas y de color café oscuro, la espina inferior es más larga y ganchuda. Esta especie se encuentra distribuida en toda la Península de Baja California desde la región de Los Cabos, en las Islas Coronado, Todos Los Santos y Margarita, hasta Tijuana y el Condado de San Diego en California (Bravo-Hollis y Sánchez-Mejorada, 1991).

Mammillaria dioica posee flores infundibuliformes, incompletamente dioicas, de 10 a 30 mm de longitud; los segmentos del perianto son lanceolados, agudos o hasta acuminados, de color crema, con la franja media púrpura. Los filamentos son blancos y las anteras amarillas. El estilo es de color amarillo pálido, presenta 5 ó 6 lóbulos del estigma de color verde claro. El fruto es de ovoide hasta claviforme, de 10 a 25 mm de longitud, de color rojo, con el perianto seco persistente. Las semillas son obpiriformes, con el hilo lateral; testa finamente faveolada negra (Bravo-Hollis y Sánchez-Mejorada, 1991). Florece generalmente en septiembre por inducción de las lluvias (J. L. León, com. pers.). Sin embargo existen datos de floración para el mes de mayo (Lindsay y Dawson, 1952).

Brandegee (1897) describe a *Mammillaria dioica* y a la variedad *M. dioica* var. *insularis*, como casi dioicas; dicha variedad después fue reconocida como la especie *Mammillaria neopalmeri* Craig (Craig, 1945). Brandegees (1897) explica que muchas

plantas masculinas, con lóbulos del estigma imperfectos y poco divididos, raramente producen frutos, y los pocos que producen son muy delgados y con muy pocas semillas. Menciona que hay muchas plantas femeninas con flores muy pequeñas y con anteras completamente abortivas, que usualmente producen un tipo de frutos ovoides o claviformes de color rojo; otras plantas son hermafroditas y otras dioicas en todos sus grados. Apunta que es probable que otras especies de *Mammillaria* tengan la misma peculiaridad. No hace referencia al porcentaje de plantas con flores bisexuales o unisexuales en las poblaciones. Se desconoce el porcentaje de las plantas hermafroditas en la población, y se ignora por qué en todos los casos describe a *M. dioica* como especie dioica.

Lindsay y Dawson (1952) explican que la condición dioica en *M. dioica* no se observa frecuentemente, señalan que esta condición ocurre en otras especies como en *M. neopalmeri*, en donde fueron observadas flores hermafroditas y unisexuales, pero tampoco describen la frecuencia de cada uno de los morfos y si esta condición varía de población a población.

Las observaciones en plantas de una población de *M. dioica* en Anza Borrego *Desert State Park* en el sureste de San Diego, California, señalan que el sistema de cruzamiento en esa población es ginodioico (Ganders y Kennedy, 1978).

Parfitt (1985) realizó una revisión sobre el dioicismo en cactáceas norteamericanas, incluyó en su trabajo a *Mammillaria dioica*, *M. neopalmeri*, *Selenicereus innesii*, *Opuntia stenopetala*, *O. grandis* y *O. glaucescens*, aunque estas dos últimas especies son consideradas como sinonimias de *O. stenopetala* (Hunt, 1999). Parfitt (1985) concluye que la condición sexual verdadera de estas seis especies de cactáceas, ha sido malentendida por dos razones. Primero, por los datos inadecuados de las poblaciones que no permiten una evaluación precisa de la condición sexual. Segundo, por el poco cuidado en el uso del término dioico, que usualmente ha opacado la condición sexual verdadera aun cuando las especies o poblaciones fueran estudiadas adecuadamente.

Sistemas de cruzamiento en la familia Cactaceae

En la familia Cactaceae se ha documentado en algunas especies la presencia de flores unisexuales que forman parte de sistemas sexuales diferentes al hermafrodita. Las observaciones incluyen especies de tres de las cuatro subfamilias de Cactaceae; Pereskioideae, Opuntioideae y Cactoideae.

En la subfamilia Pereskioideae, se conocen cuatro especies con flores unisexuales. *Pereskia portulacifolia* De Candolle, presenta plantas con flores femeninas, plantas con flores masculinas y plantas con flores imperfectamente unisexuales, por lo que su sistema de cruzamiento podría ser subdioico, esta especie habita en Haití y República Dominicana (Leuenberger, 1986); la embriología de esta especie está siendo estudiada en el Laboratorio de Desarrollo en Plantas de la Facultad de Ciencias de la UNAM (Camacho y Vázquez, com. pers.). En *P. quisqueyana* Liogier, especie endémica del sudoeste de República Dominicana, se han detectado poblaciones dioicas (Leuenberger, 1986). Areces (1992) reporta a *P. marcanoi* Areces como la tercera especie dioica de República Dominicana. *P. zinniiflora* De Candolle planta endémica de Cuba, presenta plantas con flores femeninas y plantas con flores masculinas, con un sistema de cruzamiento dioico (Leuenberger, 1986).

En la subfamilia Opuntioideae, se han reportado seis especies con flores unisexuales. Es quizá en esta subfamilia en donde se ha hecho una mayor investigación en relación a su unisexualidad.

En Jamaica, Strittmatter *et al.* (2002) realizaron un estudio embriológico de una población de *Consolea spinosissima* (Mill) Lemaire, y observó la existencia de un sistema reproductor subdioico ya que observaron que la población presenta plantas con flores femeninas, plantas con flores masculinas y plantas con flores débilmente hermafroditas (flores de apariencia masculina, que llegan a producir semillas, aunque en menor proporción que las que producen las flores femeninas). Las flores femeninas tienen estambres con filamentos cortos y anteras colapsadas e indehiscentes sin polen, estas anteras presentan anomalías en el tapete; presentan un gineceo con lóbulos del estigma divergentes y ovarios llenos con óvulos bien desarrollados. Las flores masculinas poseen estambres más largos, con anteras dehiscentes y polen viable; el ovario, estilo y estigma están bien desarrollados, el ovario contiene numerosos óvulos, que se colapsan y permanecen así hasta la antesis, los lóbulos del estigma permanecen cerrados. La flor débilmente hermafrodita es superficialmente perfecta, sólo que los lóbulos del estigma presentan diferentes grados de divergencia.

Orozco (2002) trabajó el desarrollo embriológico de una población dioica de *Opuntia stenopetala* Engelman del centro de México; describió plantas con flores femeninas y plantas con flores masculinas. Las flores femeninas presentan estambres con filamentos cortos, anteras colapsadas e indehiscentes sin polen, tienen estigma,

estilo y un ovario lleno de óvulos. La flor masculina muestra estambres con filamentos más largos y anteras dehiscentes con granos de polen y presenta estilodios que carecen de estigma. La mayoría de las flores masculinas presentan un ovario pequeño con óvulos en la base que no completan su desarrollo, aunque existen morfos en donde el ovario no tiene óvulos o bien flores sin ovario. En esta especie también se han hecho estudios en los que se buscan posibles genes relacionados con la unisexualidad y la pérdida del estigma en las flores masculinas (Orozco, 2005). Asimismo se ha estudiado si la muerte celular programada es un evento que ocurre en esta especie como un mecanismo que lleva a la no funcionalidad del androceo (Flores, 2005) y a la no funcionalidad del gineceo (Montero y Vázquez, com. pers).

Opuntia robusta H. L., Wendland, en México, presenta poblaciones hermafroditas, poblaciones dioicas y trioicas (Del Castillo, 1986; Del Castillo y González-Espinosa, 1988). Esta especie está siendo estudiada embriológicamente en el Laboratorio de Desarrollo en Plantas de la Facultad de Ciencias, UNAM.

En *Opuntia quimilo* K. Schumann en Argentina, se observaron plantas con flores hermafroditas y plantas con flores femeninas, se describe un sistema de cruzamiento ginodioico, aunque no se mencionan los detalles de la organización floral (Díaz y Cocucci, 2003).

Opuntia sanfelipensis J. Rebman tiene plantas con flores femeninas y plantas con flores hermafroditas, es decir, presenta un sistema de cruzamiento ginodioico en poblaciones de Baja California, México (Rebman, 1998), las flores femeninas presentan estambres con filamentos cortos y anteras colapsadas, pero no se conocen más detalles al respecto. Rebman (1998) menciona que *Opuntia wolffi* (L. D. Benson) M. Baker presenta el mismo tipo de unisexualidad que *O. sanfelipensis*.

En la subfamilia Cactoideae, además de *Mammillaria dioica* y *M. neopalmeri*, se describió a *Mammillaria estebanensis* Lindsay como una planta con flores pseudodioicas (Lindsay, 1967; citado en Bravo-Hollis y Sánchez-Mejorada, 1991). Bemis *et al.* (1972) señalaron que existe esterilidad masculina en *M. estebanensis*, lo que al menos confirma la existencia de un morfo floral unisexual, el femenino; pero no refieren nada acerca del morfo floral masculino.

En el Desierto de Sonora, México, *Pachycereus pringlei* (S. Watson) Britton y Rose presenta cuatro morfos florales, a) plantas con flores hermafroditas, b) plantas

con flores completamente estériles (neutras), c) plantas con flores femeninas y d) plantas con flores masculinas. El sistema de cruzamiento puede ser trioico o ginodioico según la población (Fleming *et al.*, 1994, 1998). Núñez (2004) realizó un trabajo embriológico de una población trioica de *P. pringlei* y describió el desarrollo de las anteras en tres de los cuatro morfos (no trabajó las neutras). Las flores femeninas presentan anormalidades en diferentes etapas del desarrollo de la antera, desde la meiosis hasta la formación de polen. Las flores masculinas presentan un ovario, estilo y estigma bien desarrollado, pueden tener óvulos bien formados pero también existen funículos sin nucela ni tegumentos. Algunos otros óvulos presentan nucelas anormales pero desarrollan sacos embrionarios estructuralmente normales, incluso las semillas pueden formar embrión pero con irregularidades en la cubierta seminal.

En dos poblaciones de *Echinocereus coccineus* Engelman de Nuevo México (E.U.A.) se observaron plantas con flores masculinas y plantas con flores femeninas, por lo tanto un sistema de cruzamiento dioico. En las flores femeninas existen óvulos, ovarios, estilos y estigmas bien formados, estas flores producen frutos, pero los estambres tienen filamentos cortos con anteras colapsadas que no producen polen; las flores masculinas son superficialmente hermafroditas, con óvulos, ovario, estilo y estigma bien formados, pero no son funcionales ya que no producen frutos; los estambres tienen anteras que producen polen (Hoffman, 1992).

Neobuxbaumia mezcalaensis (Bravo) Backeberg, en el Valle de Tehuacán, México, tiene un sistema de cruzamiento androdioico, ya que presenta plantas con flores hermafroditas y plantas con flores masculinas (Valiente-Banuet *et al.*, 1997), pero no se conocen los detalles de los morfos florales.

Selenicereus innesii Kimnach en la Isla San Vicente presenta plantas con flores hermafroditas y plantas con flores femeninas. En esta especie se menciona que las flores son completamente unisexuales y las femeninas no presentan vestigios del androceo, sin embargo los autores no presentan evidencias, lo cual es muy importante porque sería hasta ahora la única especie de la familia Cactaceae que muestre flores unisexuales desde el inicio del desarrollo (Kimnach, 1982) .

Se han reportado plantas con flores bisexuales y plantas con flores masculinas (androdioicismo) en algunas poblaciones de *Pachycereus fulviceps* (F. A. C. Weber ex Schumann) D. R. Hunt en Oaxaca, México (Arias, com. pers.). Se está realizando un

estudio embriológico para conocer el desarrollo de las flores masculinas (Vázquez, com. pers.), las poblaciones hermafroditas han sido estudiadas embriológicamente (Núñez, 2004) y no se encontraron indicios de unisexualidad floral.

Origen de flores unisexuales en las Angiospermas

De acuerdo a Mitchell y Diggle (2005), se conocen dos tipos morfológicos de flores unisexuales. El primer de ellos, flores tipo I, exhibe estructuras rudimentarias de los órganos masculinos en flores pistiladas (femeninas) o exhibe estructuras rudimentarias de órganos femeninos en flores estaminadas (masculinas). Este tipo floral es unisexual por *aborción*, ya que se inicia el desarrollo del androceo y del gineceo en todas las flores, pero se interrumpe el desarrollo en uno u otro órgano sexual. El otro tipo de flores unisexuales, flores tipo II, no presenta estructuras rudimentarias del sexo opuesto; este tipo de flor es unisexual por *supresión*, el meristemo floral sólo inicia la formación del gineceo o el androceo y nunca pasa por un estado hermafrodita (Fig. 2). Lo más común es que las flores sean bisexuales al inicio del desarrollo y después se dé la atrofia de alguno de los órganos sexuales para formar flores funcionalmente unisexuales (Lebel-Hardenack y Grant, 1997; Ainsworth, 2000).

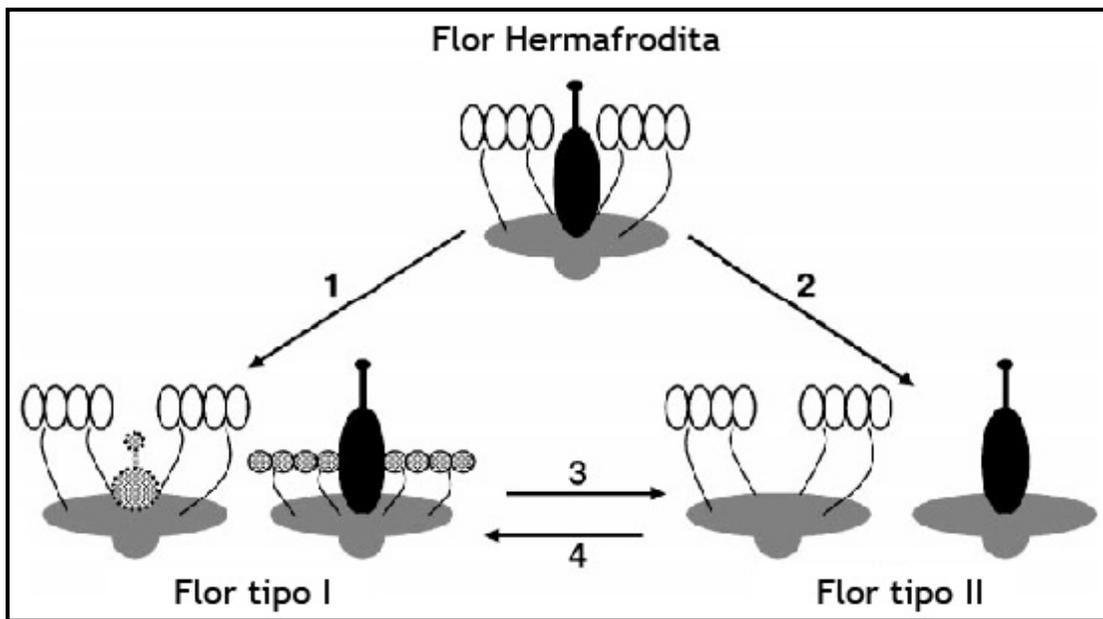


Fig. 2. Modos directos de modificación del desarrollo en flores hermafroditas para formar flores unisexuales: (1) esterilidad del androceo o gineceo post- iniciación, posiblemente seguido por la reducción de estos órganos, sin llegar a pérdida total del órgano (flores tipo I), y (2) Supresión del androceo o gineceo desde el meristemo floral (flores tipo II). Además, (3) la flor tipo II puede originarse a partir del tipo I y (4) la transición de la flor tipo II al tipo I puede ser posible cuando se restaura la fertilidad (Tomado de Mitchell y Diggle, 2005).

Posibles rutas para llegar al dioicismo

Existen tres posibles rutas para el dioicismo: a) directamente del hermafrodita, b) vía monoicismo y c) vía distilia. La evolución al dioicismo directamente de especies hermafroditas se considera improbable, ya que implica la aparición de dos mutaciones independientes, una para la esterilidad femenina y otra para la esterilidad masculina. Estas mutaciones deben establecerse simultáneamente, y los genes mutantes deben estar fuertemente ligados para evitar que aparezcan en la siguiente generación individuos hermafroditas o neutros (Lewis, 1942).

Es más probable que el dioicismo haya evolucionado, en el caso de un ancestro hermafrodita, a través del ginodioicismo (coexistencia de plantas femeninas y hermafroditas) o del androdioicismo (coexistencia de plantas masculinas y hermafroditas) como un estado intermedio, en ambos casos, la primera fase es el establecimiento de una simple mutación (Charlesworth y Charlesworth, 1978). El androdioicismo se considera una condición rara (Barret, 2002). Se ha postulado que el androdioicismo se derive del dioicismo, al recuperarse la función masculina y reemplazar a los individuos femeninos por hermafroditas (Liston *et al.*, 1990; Panel, 2002). El ginodioicismo es la condición más común, y es considerado la etapa intermedia más probable hacia el dioicismo (Charlesworth y Charlesworth, 1978). La evolución de una población ginodioica a una dioica requiere de una segunda mutación que cause esterilidad femenina en los individuos hermafroditas y generar individuos masculinos (Fig. 3).

La segunda ruta evolutiva para el dioicismo es a través del monoicismo. Aunque el monoicismo es más una modificación estructural que una separación genética, una población monoica puede evolucionar a una dioica, aunque el proceso no es claro (Charlesworth y Charlesworth, 1978). La tercera ruta posible es vía distilia, en donde los individuos hermafroditas son polimórficos en la posición de estilos y anteras. La distilia promueve la alogamia, y a menudo está asociada con auto-incompatibilidad. La especialización de algunos de los tipos puede llevar al dioicismo completo (Ainsworth, 2000).

Esterilidad masculina en plantas

La esterilidad masculina en plantas ha sido definida como una falla en la producción de anteras, polen, o gametos masculinos funcionales y predomina sobre la esterilidad femenina, se origina por mutaciones en genes nucleares y/o citoplásmicos.

La esterilidad masculina provoca la ausencia o malformación de los estambres y anteras; induce fallas en el desarrollo de los tejidos de la antera, una microsporogénesis anormal, formación de granos de polen deformes o inviables; o la formación de anteras indehiscentes con polen viable (Kaul, 1988).

La esterilidad masculina ha sido ampliamente documentada en poblaciones naturales de especies de plantas y su permanencia y dispersión en estas poblaciones han sido teóricamente demostradas como el primer paso en la evolución hacia el dioicismo a partir de ancestros hermafroditas (Charlesworth y Charlesworth, 1979). En términos generales se conocen dos tipos de esterilidad masculina, a) la esterilidad masculina nuclear, en donde las mutaciones ocurren en genes nucleares (Chaudhury, 1993) y b) la esterilidad masculina citoplásmica, en donde las mutaciones ocurren en genes mitocondriales (Mackenzie, 1991).

Es muy amplia la literatura que describe las mutantes naturales o inducidas que muestran esterilidad masculina, como los reportados por Sanders *et al.* (1999), quienes describen algunas características de mutantes de *Arabidopsis thaliana* que presentan anomalías en el desarrollo de la antera. De igual forma se han reportado dos mutantes con esterilidad masculina del maíz (*Zea mays*) (Chaubal *et al.*, 2000).

El caso de *Mammillaria dioica* resulta interesante porque se han reportado en poblaciones naturales, sistemas de cruzamiento diferentes al hermafrodita, pudiendo ser trioico o ginodioico, sin mencionar los detalles de estas condiciones sexuales, es por ello que la presente investigación se realizó para conocer los detalles embriológicos que llevan a la unisexualidad floral en uno de los dos morfos presentes en la población estudiada de Baja California Sur, México.

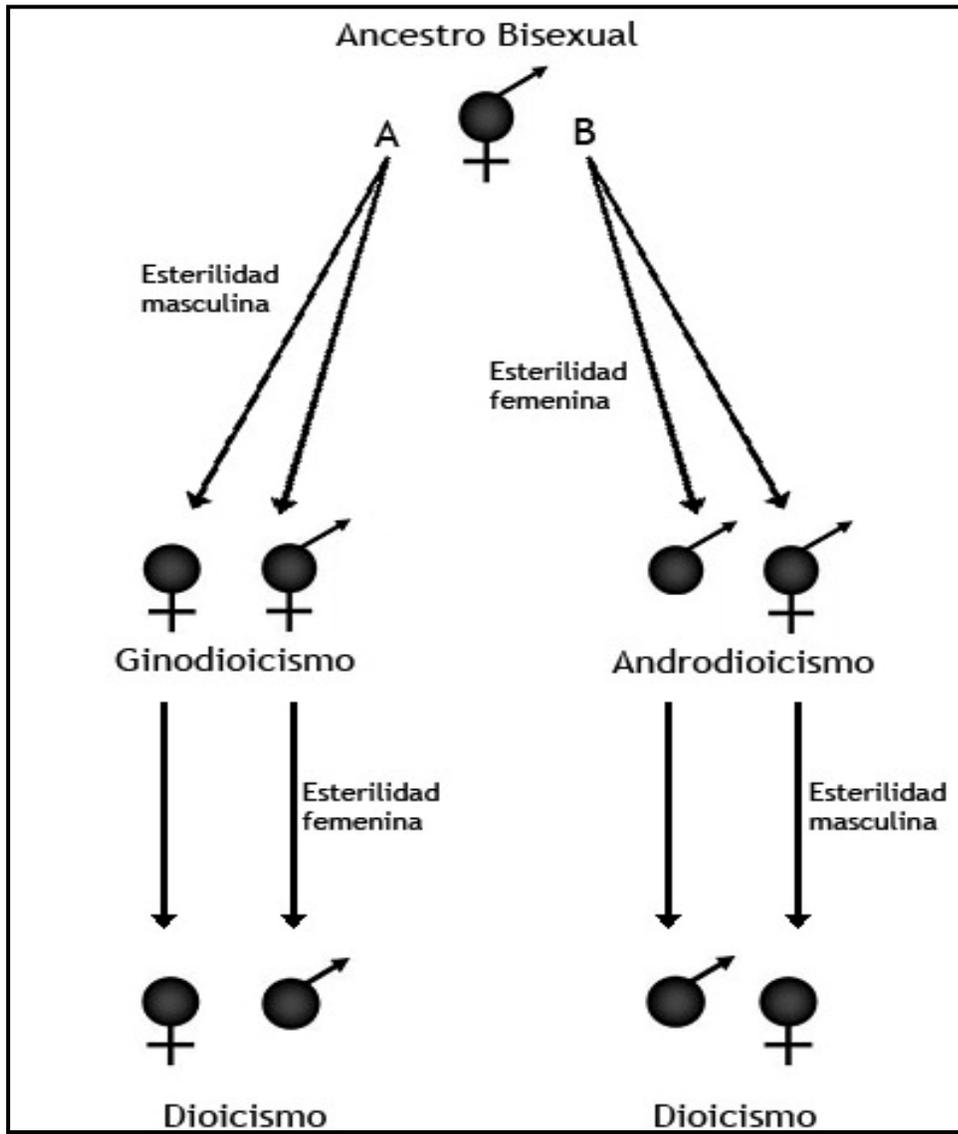


Fig. 3. Ruta al dioicismo a partir del hermafrodita (Charlesworth y Charlesworth, 1978).
 A) Vía Ginodioicismo B) Vía Androdioicismo.

OBJETIVOS

Objetivo general

Describir los morfos florales y la embriología de una población de *Mammillaria dioica* en Baja California Sur, México.

Objetivos particulares

1. Determinar el sistema de cruzamiento (sexado) de la población de *Mammillaria dioica*.
2. Conocer la estructura floral de los morfos sexuales presentes en la población estudiada.
3. Describir la embriología de *Mammillaria dioica*, incluyendo el desarrollo de la antera y del óvulo, la microesporogénesis, microgametogénesis, megaesporogénesis y megagametogénesis.
4. Indicar la etapa en el desarrollo floral en el cual se determina el sexo de la flor.

MATERIAL Y MÉTODOS

Área de estudio. El trabajo de campo se realizó en un predio conocido como El Comitán, ubicado al fondo de la Bahía de la Paz, a 17 km al oeste de la ciudad de La Paz, Baja California Sur, México (Figs. 4 y 5). Sus coordenadas geográficas generales son 24° 06' N y 110° 26' W. Este predio colinda con el Mar de Cortés y se ubica en una planicie costera aluvial. El clima de El Comitán es del tipo Bw (h') hw (e) (García, 1973), es decir muy árido, seco cálido con precipitación en invierno; la precipitación presenta una curva bimodal con picos en septiembre y enero. La vegetación de El Comitán corresponde a una comunidad árido-tropical (León de la Luz *et al.*, 1996).

Sexado de la población y colecta. Se colectaron flores en antesis y botones florales en distintas etapas de desarrollo de *Mammillaria dioica*, en el mes de septiembre de 2004. Se sexaron las plantas que presentaban flores en antesis. Las flores se disectaron longitudinalmente para determinar el sexo de las plantas de acuerdo a la presencia/ausencia de óvulos y polen. La planta se marcó con un anillo de plástico indicando el número y su sexo.

Fijación y procesamiento del material mediante técnicas histológicas. Parte del material biológico se fijó *in situ* en frascos con FAA (formaldehído, ácido acético, etanol 96% y agua) y el resto se transportó a las instalaciones del Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste (CIBNOR), ahí se disectó y fijó con glutaraldehído al 3 % + paraformaldehído al 1.5 % en amortiguador de s-colidina 0.1 M, pH 7.2, o bien en FAA. El material fijado se llevó al Laboratorio de Desarrollo en Plantas de la Facultad de Ciencias de la Universidad Nacional Autónoma de México. El material fijado en FAA se lavó con agua, mientras que el fijado en Glutaraldehído al 3% + Paraformaldehído al 2% se lavó con amortiguador de s-colidina. Ambos materiales se deshidrataron en una serie gradual de etanol y se incluyeron en paraplast y en la resina plástica LR-White. Del material incluido en paraplast se obtuvieron cortes de 8-10 μm con micrótomo de rotación y se tiñeron con safranina - verde rápido en metilcelosolve y se montaron en resina. Del material incluido en LR-White se obtuvieron cortes de 1-2 μm y se tiñeron con azul de toluidina (López *et al.*, 2005).

Preparación del material biológico para ser observado al microscopio electrónico de barrido. Del material fijado en FAA se seleccionaron algunos botones florales, flores en antesis, polen y semillas, los cuales se lavaron con agua corriente y se disectaron. Este material se deshidrató en una serie de etanoles graduales, hasta etanol al 100%. Se desecaron a punto crítico en una desecadora CPD-030 Bal-Tec y se cubrieron con una fina capa de oro en una ionizadora Denton Vacuum Desk-II. Se montaron en un portamuestras de aluminio con una cinta conductiva de carbón, se observaron y tomaron placas fotográficas en un microscopio electrónico de barrido Jeol JSM-5310LV con una aceleración de voltaje de 10-15 kV.

Las técnicas utilizadas se sintetizan en el diagrama de flujo de la figura 6.



Figuras 4 y 5. Área de estudio. 4. Mapa parcial de la Bahía de la Paz, Baja California Sur, México, enmarcado el predio “El Comitán”. 5. Predio “El Comitán”, enmarcado el sitio de colecta. La flecha señala el Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste (CIBNOR) (Mapas obtenidos con el software Google Eart 2005).

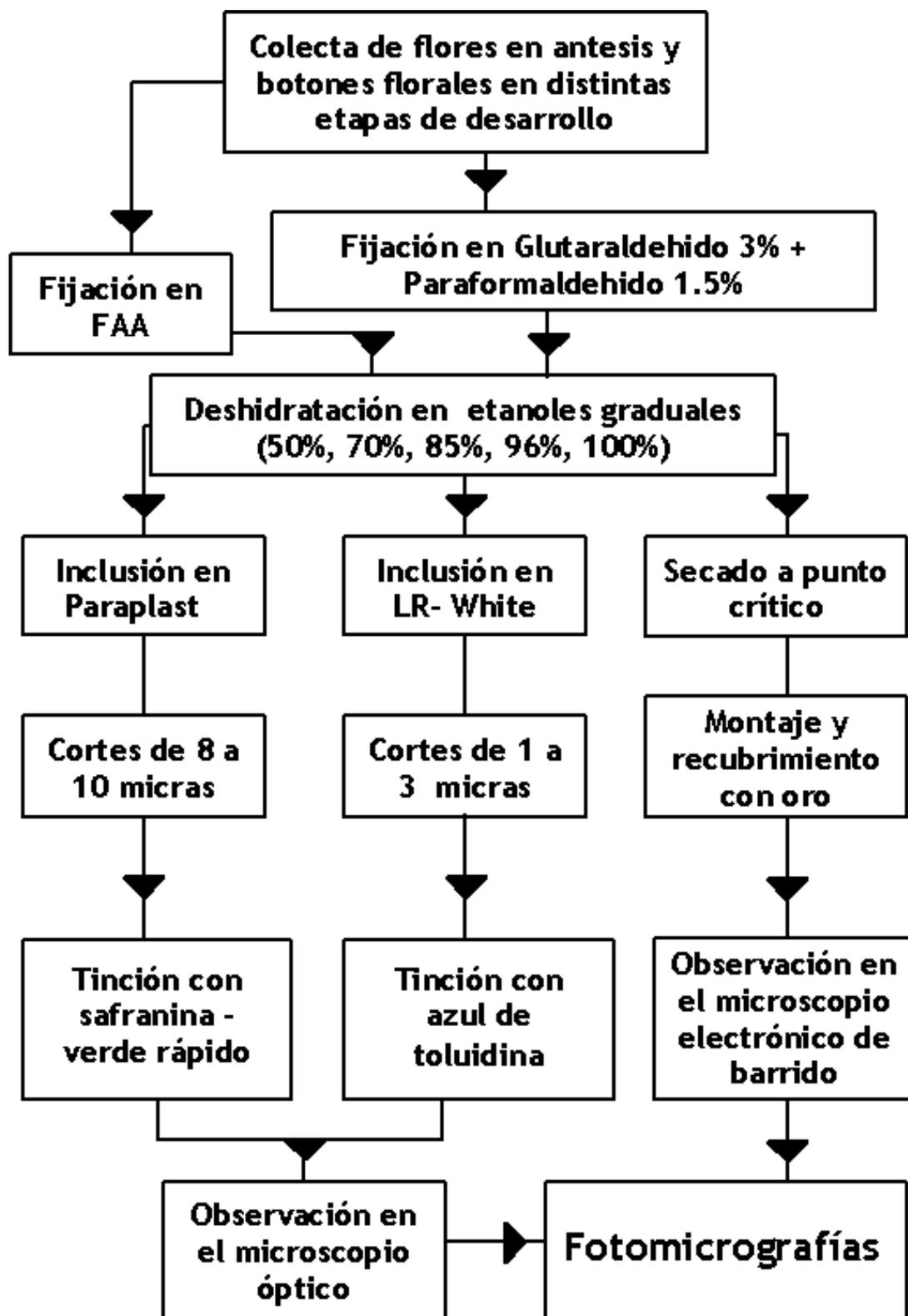


Fig. 6. Diagrama de flujo de los métodos utilizados

RESULTADOS

Sexado de la población de *Mammillaria dioica* en la localidad El Comitán y establecimiento del sistema reproductivo

Se sexaron solo 40 plantas de *Mammillaria dioica* en el periodo comprendido entre el 23 y el 27 de septiembre de 2004, debido a que muy pocas plantas se encontraban en floración. Se observaron dos morfos florales, uno bisexual (Figs. 7 y 9) y otro femenino (Figs. 8 y 10). De las 40 plantas sexadas, 27 (67.5 %) fueron plantas con flores bisexuales y 13 plantas (32.5 %) presentaron flores femeninas. Es importante señalar que ambos morfos producen frutos con semillas. Concluido el sexado se observó que la población de *M. dioica* de El Comitán resultó ser ginodioica.

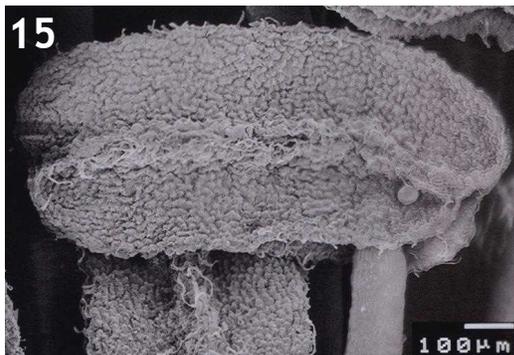
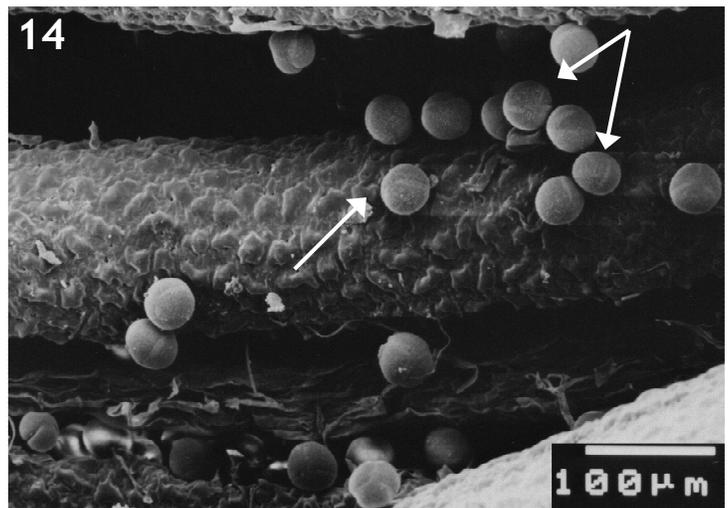
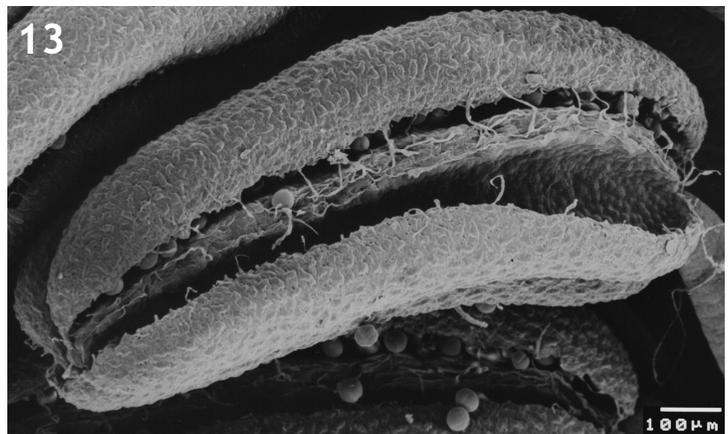
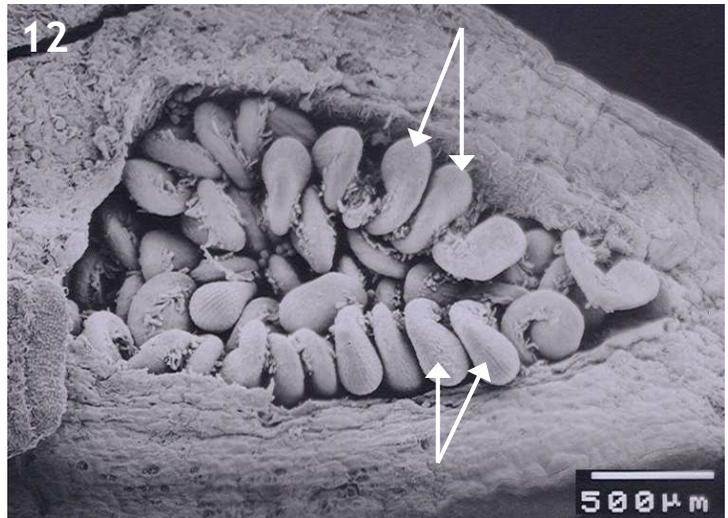
Morfología floral

La flor bisexual. Este morfo presenta en antesis un gineceo con ovario, estilo y estigma bien desarrollados (Figs. 7 y 9); la cámara del ovario está llena de óvulos (Figs. 11 y 12). El androceo tiene estambres con anteras dehiscentes de color amarillo que producen gran cantidad de granos de polen (Figs. 7, 9, 13 y 14). El estigma es papiloso y está compuesto de 4 a 7 lóbulos estigmáticos (Figs. 16 y 17). Las papilas son alargadas pluricelulares (Figs. 18 y 19). El estilo es hueco a la altura donde se inserta el estigma. Alrededor del canal estilar se presenta el tejido de transmisión (Fig. 20). El canal estilar se reduce hasta cerrarse casi completamente desde la región media del estilo y hasta la inserción de éste con el ovario, constituyendo un estilo sólido (Fig. 21).

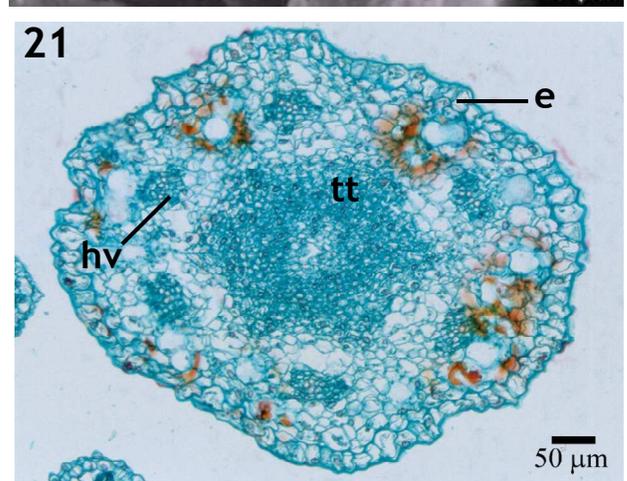
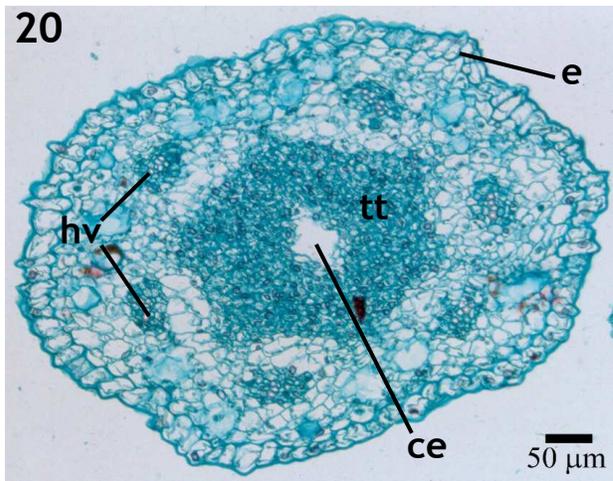
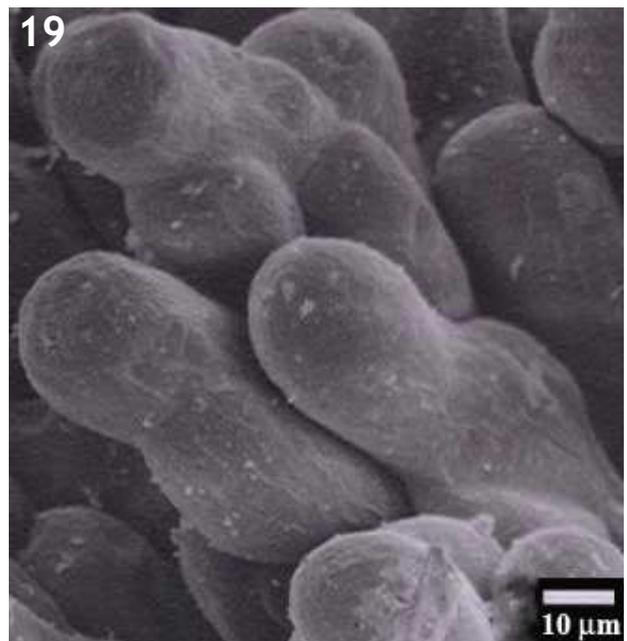
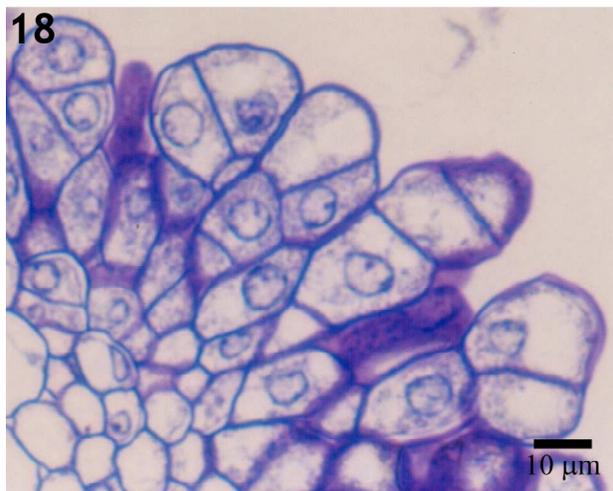
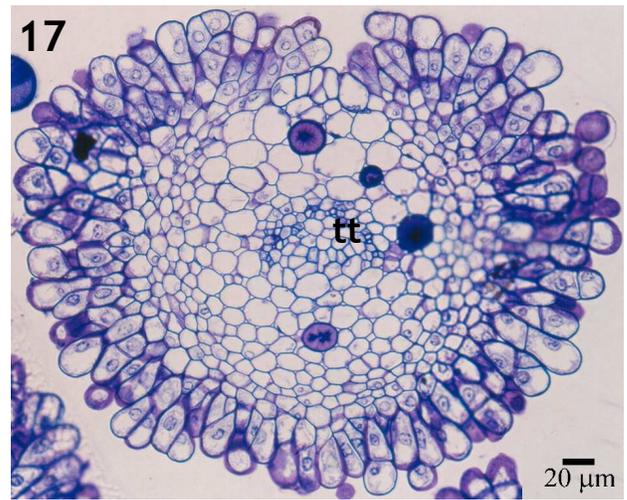
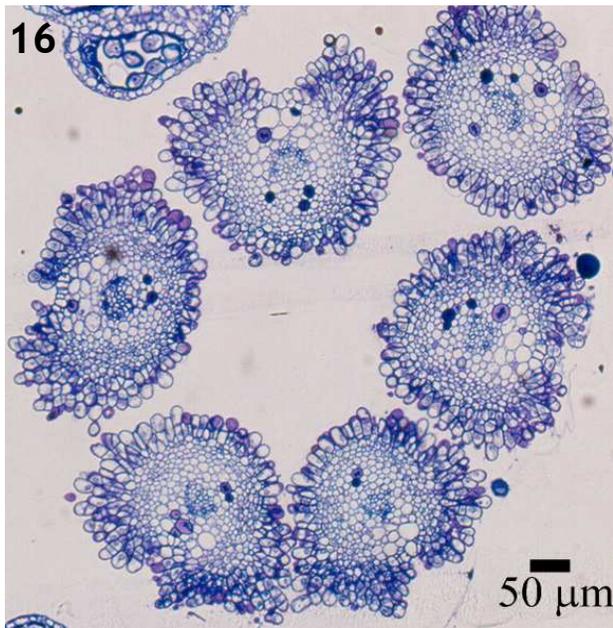
La flor femenina. En antesis presenta un gineceo con ovario, estilo y estigma bien formados semejante al de la flor bisexual (Figs. 8, 10 y 22); la cámara del ovario está llena de óvulos (Figs. 22 y 23). El androceo se encuentra atrofiado. Tiene estambres con anteras indehiscentes y colapsadas que no producen polen (Figs. 10 y 22). Los filamentos se observan colapsados en la zona de la unión con la antera muestran un adelgazamiento en la parte apical, no se observó tejido colapsado en la parte media y basal del filamento (Fig. 24).



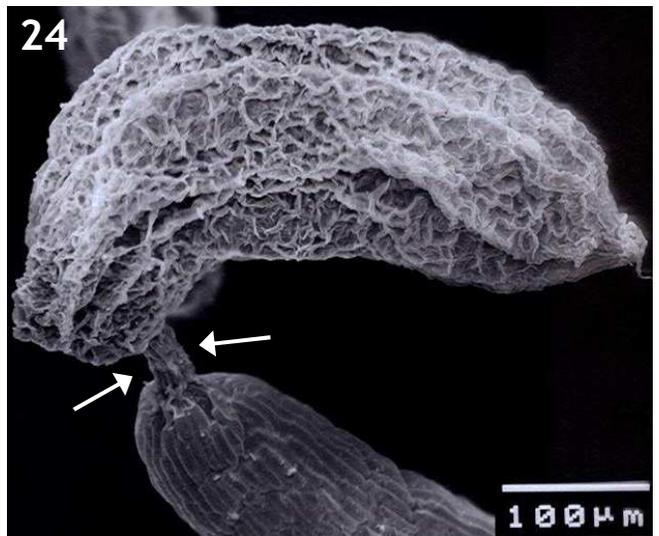
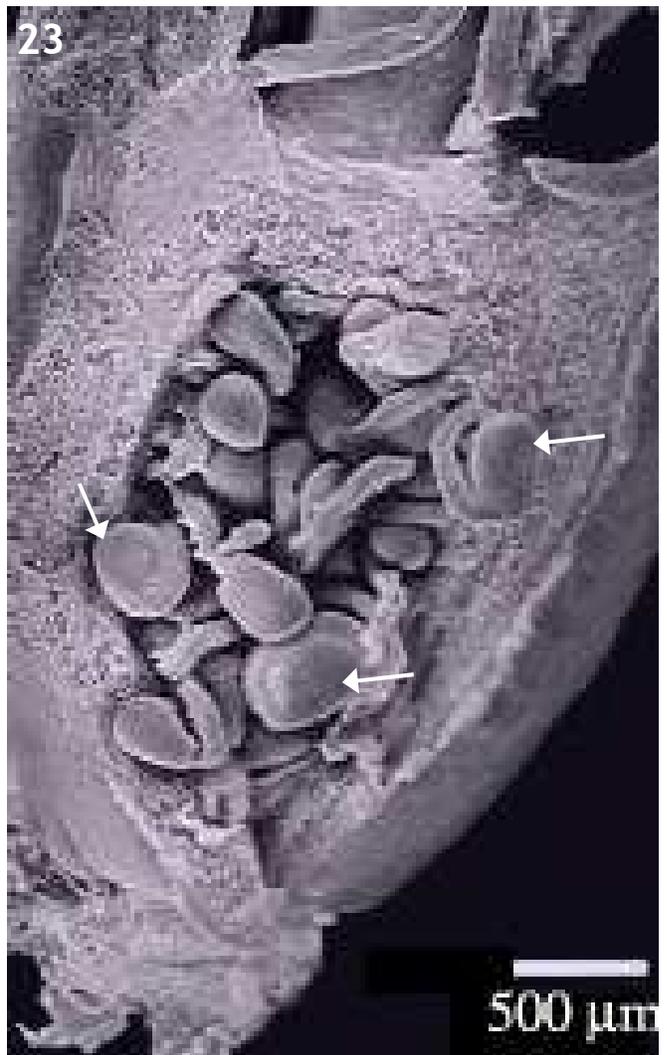
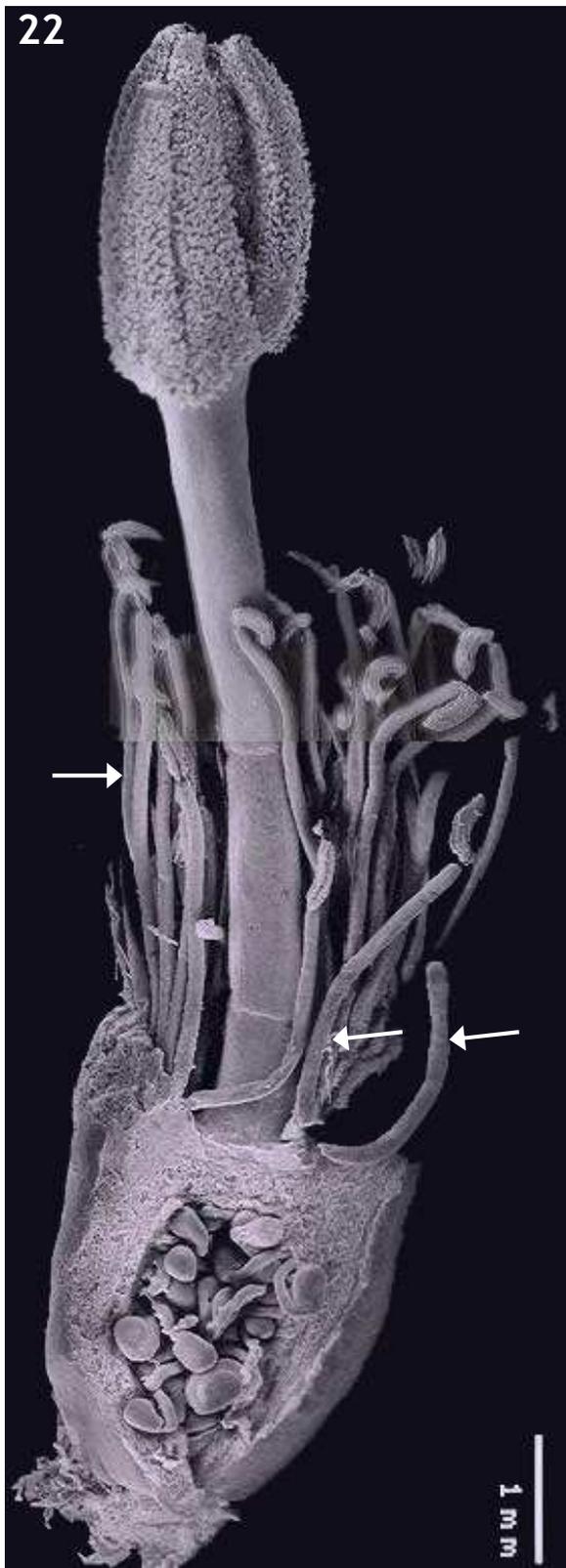
Figuras 7 - 10. Flores de *Mammillaria dioica*. 7. Flor bisexual vista de frente, mostrando polen (flecha). 8. Flor femenina vista de frente. 9. Flor bisexual disectada mostrando las anteras amarillas con polen (flecha) y ovario (cabeza de flecha). 10. Flor femenina disectada, la flecha indica las anteras un ligeramante amarillas y atrofiadas; la cabeza de flecha muestra los óvulos.



Figuras 11 - 14. Morfología de la flor bisexual en antesis. 11. Vista panorámica de la flor bisexual. 12. Acercamiento del ovario mostrando numerosos óvulos (flechas). 13. Antera dehiscente. 14. Acercamiento de anteras con granos de polen (flechas). 15. Antera completamente abierta, donde los granos de polen se han caído.



Figuras 16-21. Estigma y estilo. 16. Corte transversal del estigma, se observan 6 lóbulos estigmáticos. 17. Corte transversal de un lóbulo del estigma papiloso. 18. Acercamiento a las papilas pluricelulares. 19. Acercamiento a la superficie papilosa de un lóbulo estigmático. 20. Corte transversal del estilo cercana al estigma, mostrando canal estilar, tejido de transmisión, haces vasculares, córtex y epidermis externa. 21. Corte transversal del estilo cercano a la zona de inserción al ovario. ce: canal estilar, e: epidermis, hv: haz vascular, tt: tejido de transmisión.



Figuras 22 - 24. Morfología de la flor femenina en antesis. 22. Vista panorámica de la flor femenina, se muestran los filamentos de los estambres (flechas). 23. Acercamiento al ovario mostrando numerosos óvulos (flechas). 24. Acercamiento al estambre se observa la antera colapsada y el sitio de unión al filamento colapsado (flechas).

Desarrollo del óvulo

Tanto en la flor bisexual como en la femenina el desarrollo del óvulo es similar. De la pared interna del ovario surgen los primordios nucleares (Figs. 25 y 26). Este tejido nucelar indiferenciado aumenta su tamaño conforme avanza el desarrollo del botón floral. Debido a que en la zona de la cálaza o parte dorsal del primordio ovular suceden más divisiones celulares que en la parte ventral, el primordio comienza a curvarse teniendo un crecimiento asimétrico.

En la epidermis nucelar se producen divisiones periclinales y anticlinales que originan el tegumento interno. Por debajo de la epidermis nucelar se diferencia una célula de mayor tamaño, la célula arquesporial (Fig. 27), la cual se divide periclinamente y origina a la célula parietal (en posición subepidérmica) y a la célula madre de la megaspora (Fig. 28).

El primordio del óvulo continúa creciendo y la curvatura de éste se hace más pronunciada (Fig. 29). La célula madre de la megaspora aumenta de tamaño, el tegumento interno crece, y por arriba de éste, a partir de la epidermis nucelar surge el tegumento externo (Fig. 30).

La célula madre de la megaspora entra en meiosis y después de la primera división forma una diada (Fig. 31), en la que la célula que está en posición micropilar comienza a degenerar sin presentar la meiosis II, mientras que la célula calazal completa la meiosis II dando como resultado dos núcleos haploides, por lo que se observa una triada lineal (Fig. 32). La célula que se encuentra hacia la cálaza corresponde a la megaspora funcional y dará origen al saco embrionario (Fig. 33).

El primordio de óvulo aumenta significativamente de tamaño, se observa que el tegumento externo ha crecido y el tegumento interno rebasa la longitud de la nucela. La megaspora funcional ha aumentado de tamaño, presenta un núcleo conspicuo y se prepara para entrar en mitosis y originar el saco embrionario (Fig. 34).

La primera división mitótica del núcleo de la megaspora origina un núcleo hacia la cálaza y otro hacia el micrópilo separados por una gran vacuola (Figs. 35 y 36). No se observaron las siguientes divisiones mitóticas que originan el saco embrionario pero se infiere que el desarrollo puede ser del tipo Polygonum por el número de núcleos de megaspora que le da origen y por el número de núcleos finales. Ambos tegumentos son biestratificados, aunque el tegumento interno es pluriestratificado en la zona

micropilar (Fig. 35). La célula parietal antes mencionada sufre divisiones celulares y origina una nucela masiva que rodea al saco embrionario (Fig. 36).

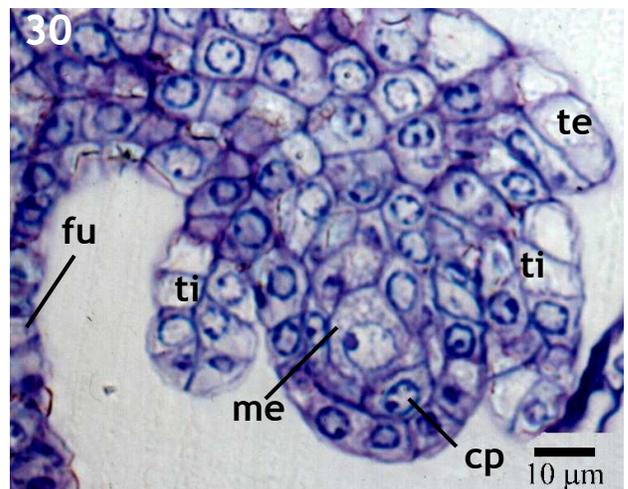
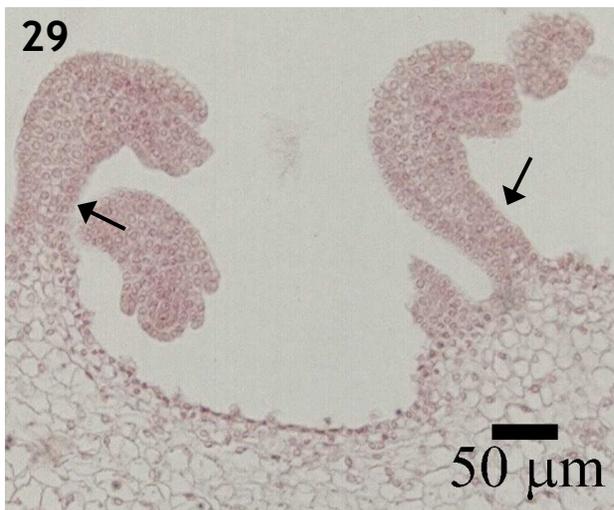
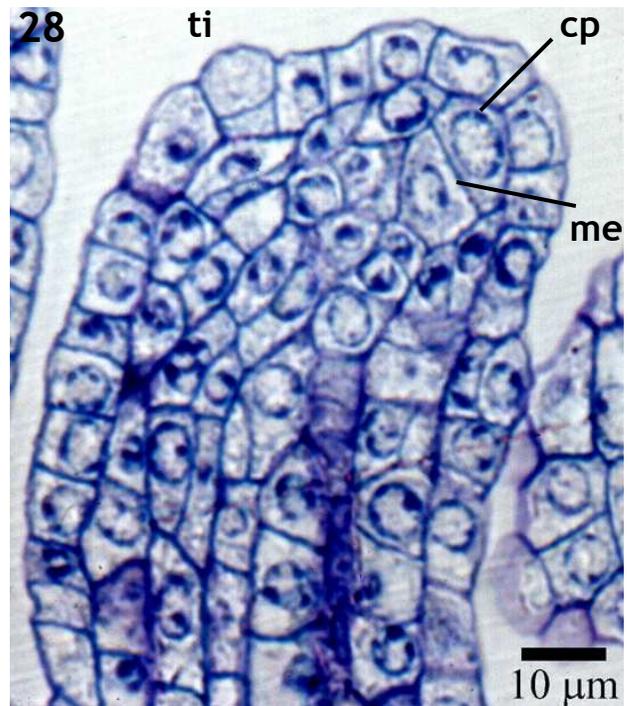
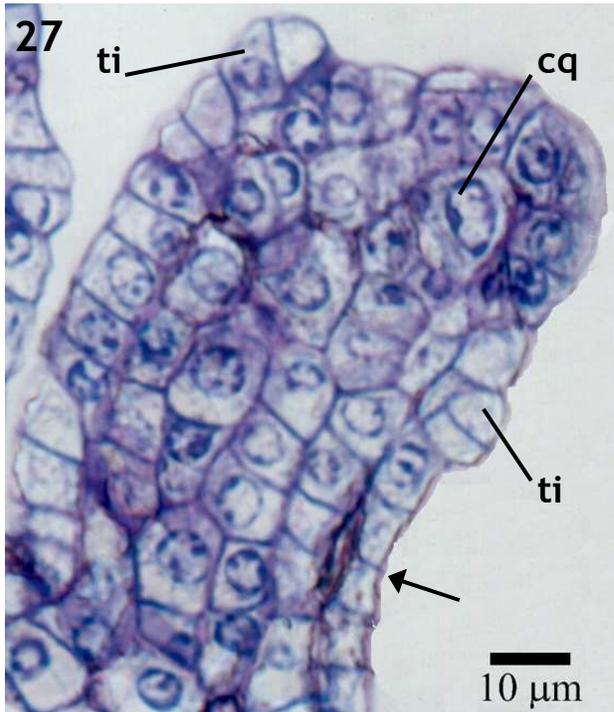
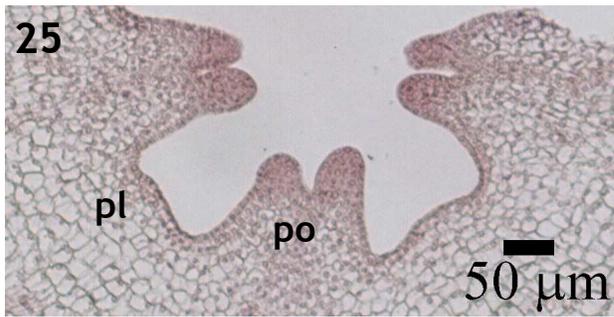
Las células que forman el saco embrionario de una flor en preantesis son dos sinérgidas, la ovocélula y la célula central con dos núcleos polares; las antípodas no pudieron observarse debido a que son efímeras.

Las sinérgidas son grandes con forma de pera y presentan un aparato filiforme conspicuo, su núcleo se encuentra hacia la zona micropilar y la vacuola hacia la zona calazal (Fig. 37). Las sinérgidas y la ovocélula forman el aparato del huevo en el extremo micropilar (Fig. 38). La ovocélula se localiza lateralmente a las sinérgidas y supera su longitud. Adyacente a la ovocélula se observa a la célula central con los núcleos polares (Fig. 39) y una gran cantidad de granos de almidón (Figs. 37 y 38).

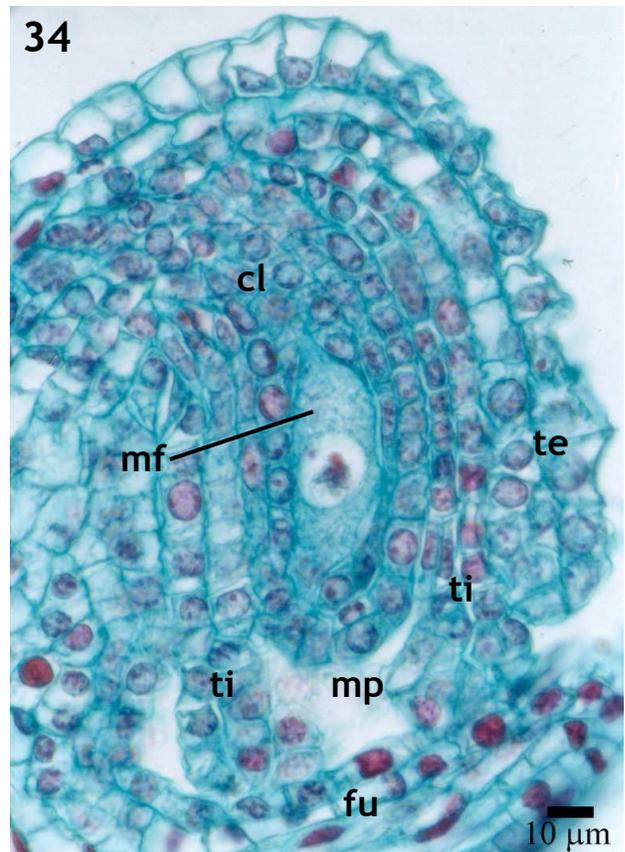
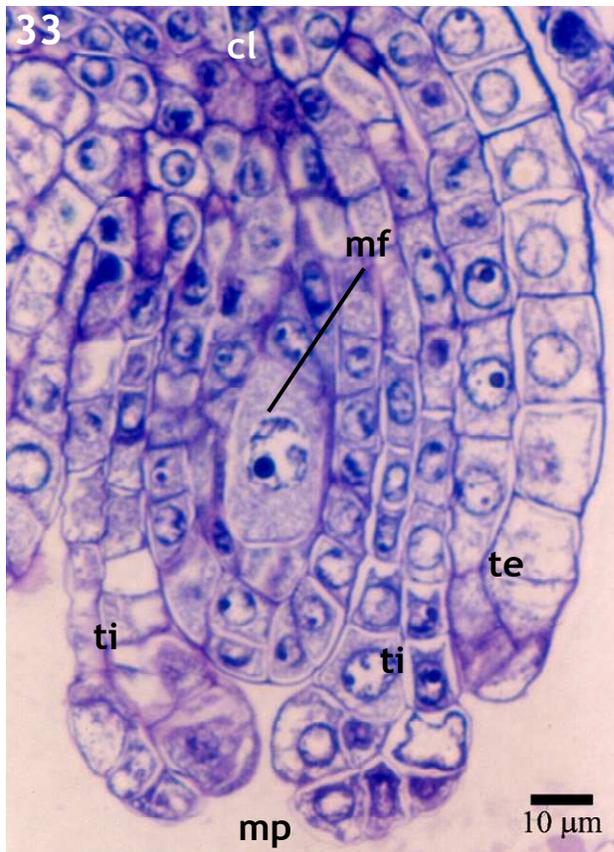
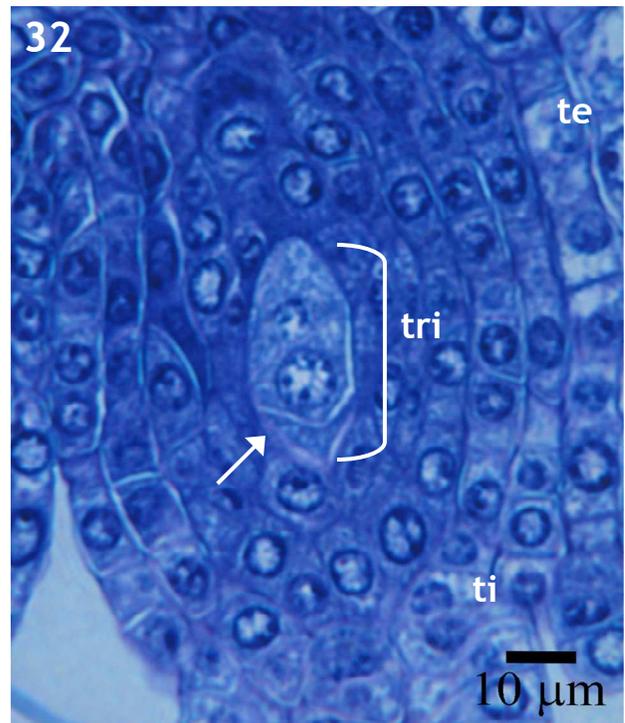
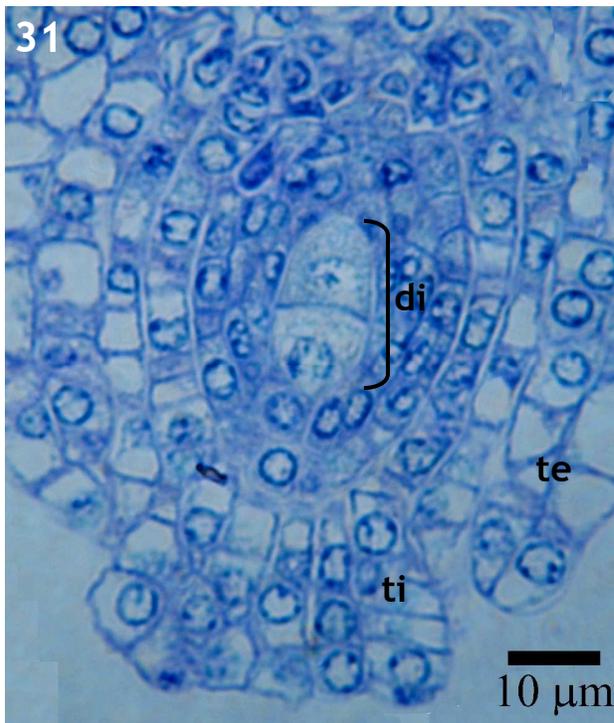
El óvulo maduro de *Mammillaria dioica* es campilótropo, crasinucelado, bitégmico, y endóstomo, es decir, el micrópilo está formado por el tegumento interno (Fig. 40). El funículo es largo y en su parte ventral presenta tricomas que durante la antesis están en íntimo contacto con el micrópilo, posiblemente funcionen como un obturador (Fig. 41 y 42).

En flores en antesis algunos óvulos maduros muestran evidencias de fecundación como: restos del tubo polínico en la zona micropilar, dentro del saco embrionario se observan las sinérgidas en degeneración (Fig. 44), el cigoto y la división del núcleo primario del endospermo (Fig. 45).

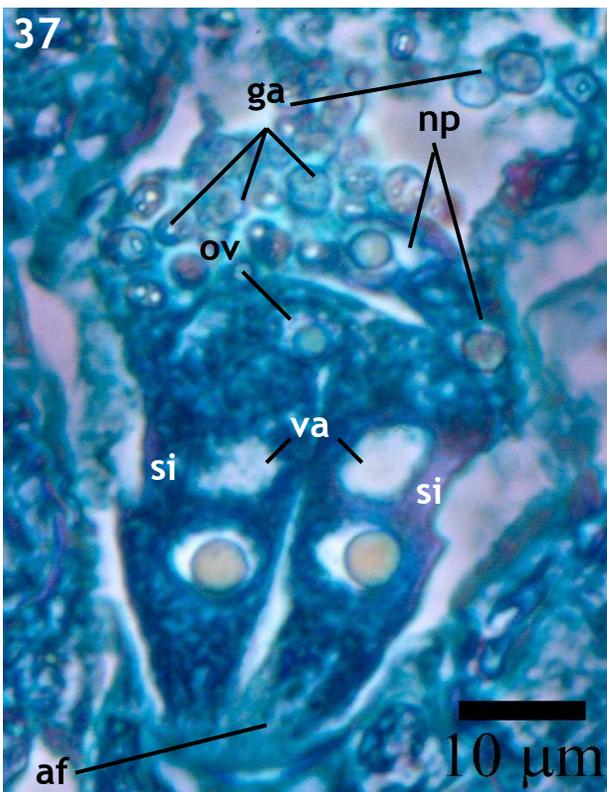
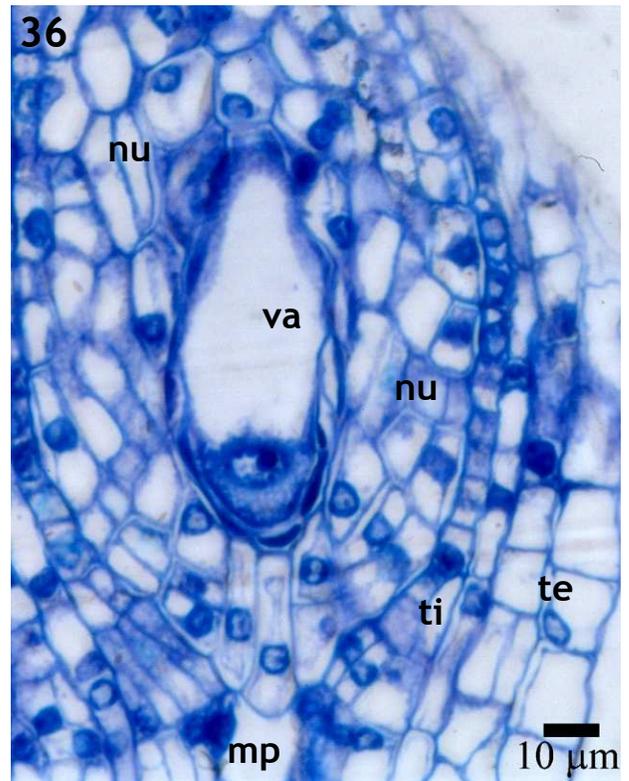
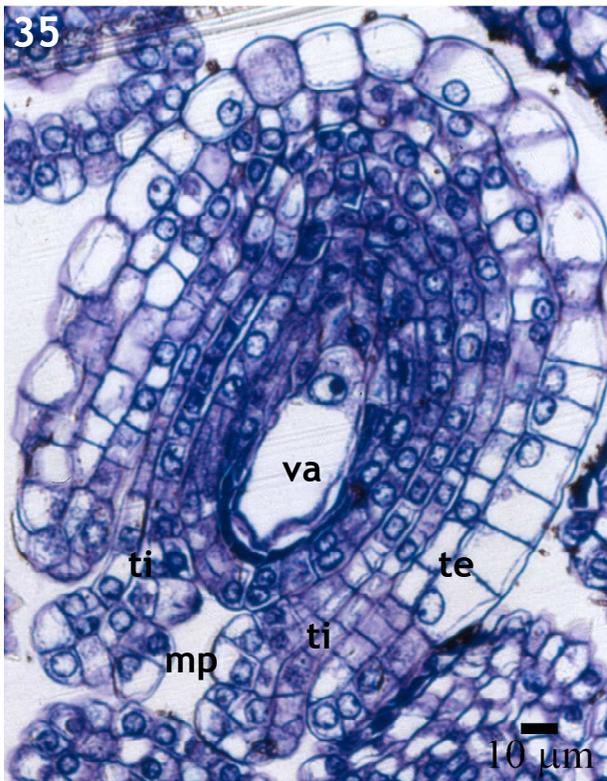
La semilla de *M. dioica*, según la terminología propuesta por Barthlott y Hunt (2000) es circular y pequeña, de color café oscuro, presenta un relieve cóncavo y un micrópilo disyunto. El tamaño de las células disminuye al acercarse a la región hilo-micropilar (Figs. 46 y 47).



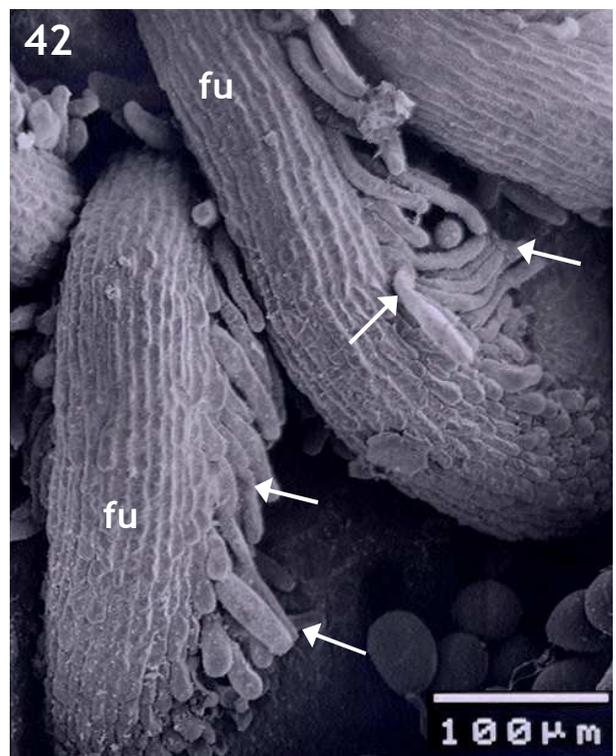
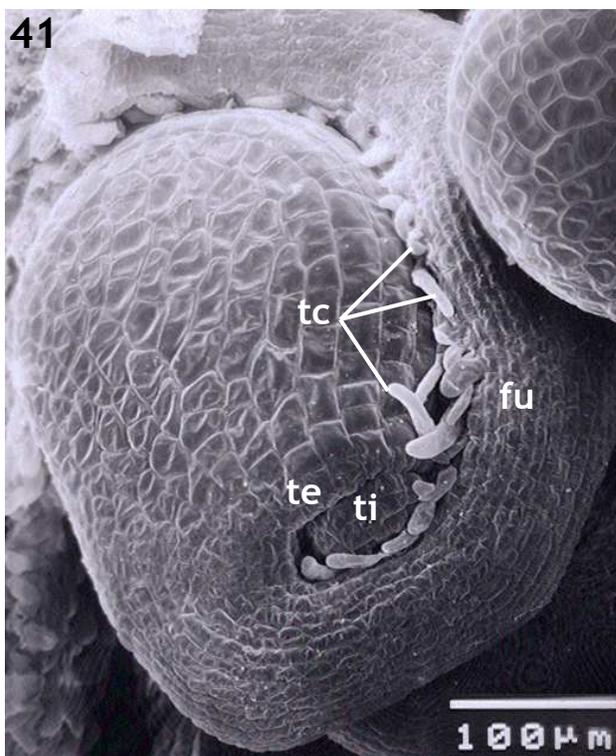
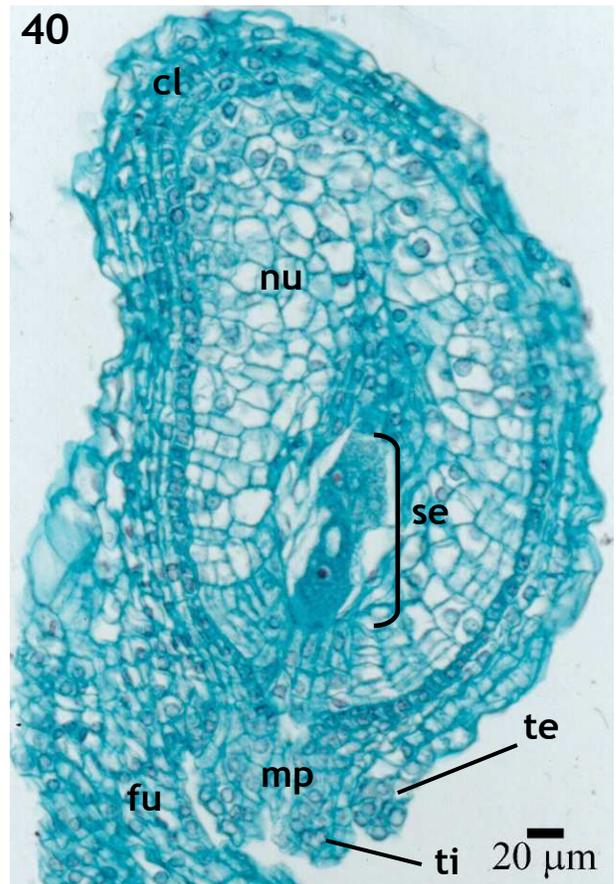
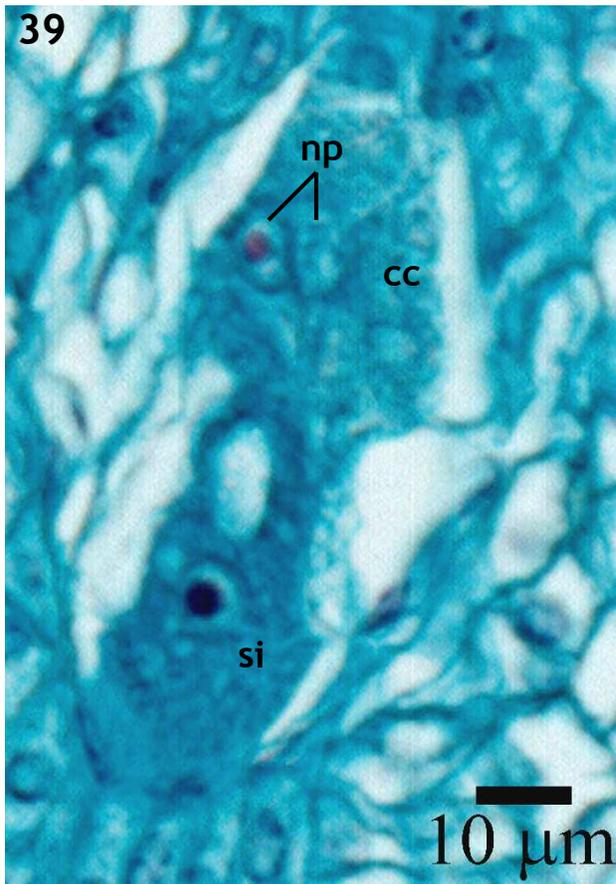
Figuras 25 - 30. Desarrollo del óvulo. 25. Corte transversal de ovario, se observa la placentación parietal de los primordios de óvulos. 26. Corte longitudinal de primordio de óvulo. 27. Corte longitudinal de óvulo, se muestra la célula arquesporial y el inicio de la curvatura del óvulo (flecha). 28. Corte longitudinal de óvulo, se observa a la célula parietal y la célula madre de la megaspora. 29. Corte transversal de ovario, se muestra la curvatura de los primordios de óvulos y alargamiento funicular (flechas). 30. Corte longitudinal de óvulo. cp: célula parietal, cq: célula arquesporial, e: epidermis, fu: funículo, me: célula madre de la megaspora, pl: placenta, po: primordios de óvulos, te: tegumento externo, ti: tegumento interno.



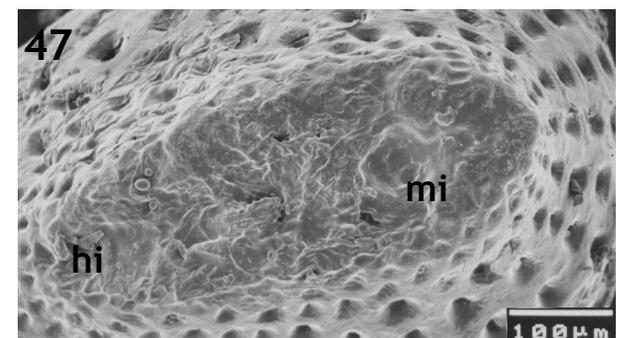
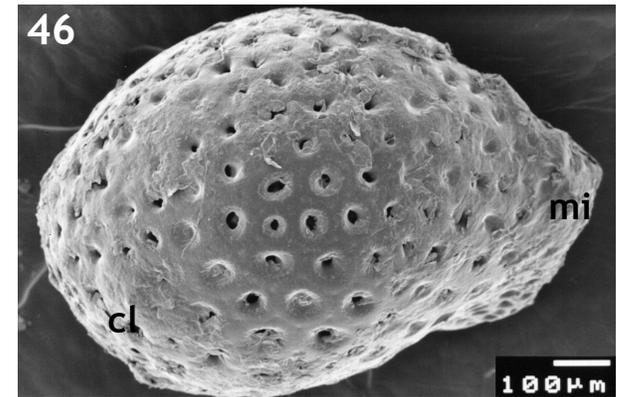
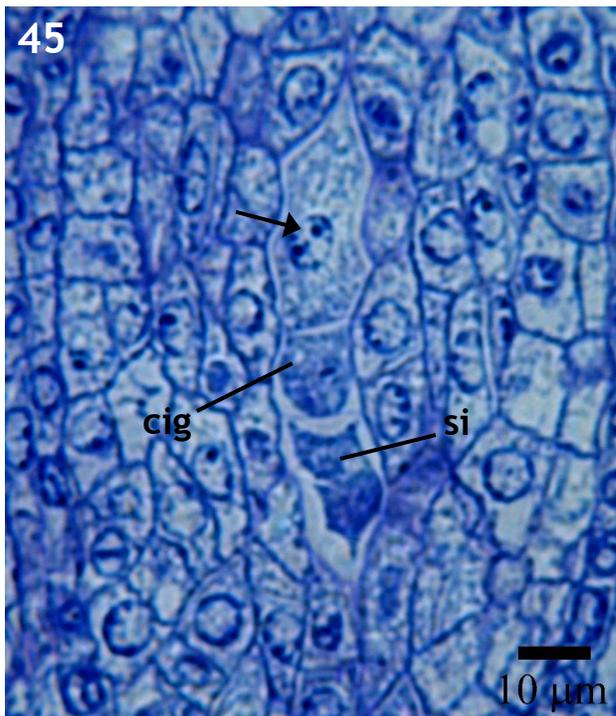
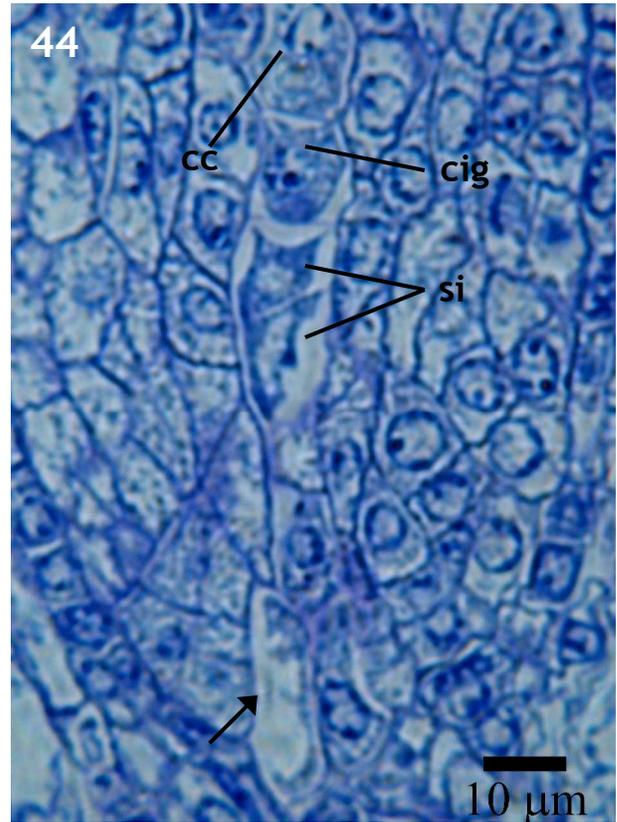
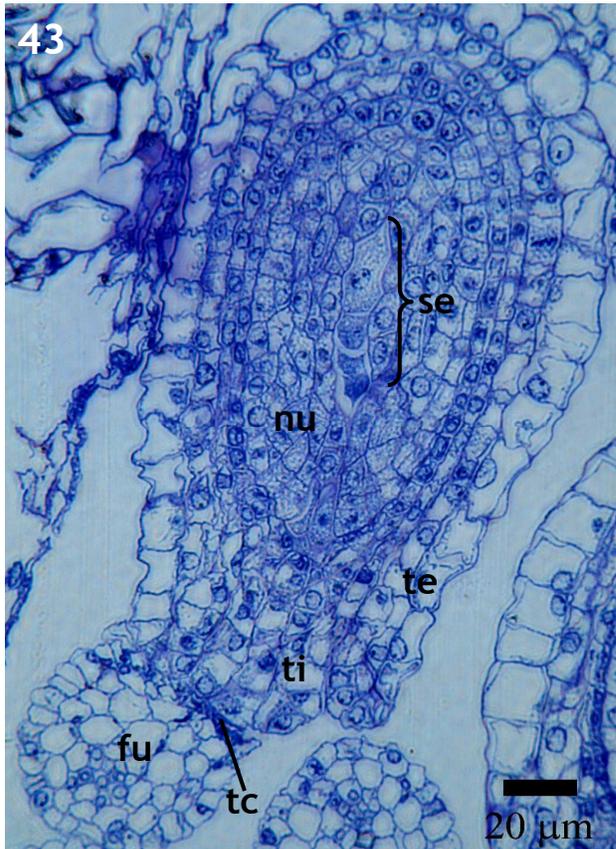
Figuras 31 - 34. Desarrollo de óvulo y megasporogénesis. 31. Corte longitudinal de óvulo, se observa la diada producto de la primera división meiótica de la célula madre de la megaspora. 32. Corte longitudinal de óvulo, se observa la triada lineal y la degeneración de la célula en posición micropilar (flecha). 33. Corte longitudinal de óvulo, se observa la megaspora funcional. 34. Corte longitudinal de óvulo, se muestra la megaspora funcional que se prepara para entrar en mitosis. cl: cálaza, di: diada de megasporas, fu: funículo, mf: megaspora funcional, mp: micrópilo, te: tegumento externo, ti: tegumento interno, tri: triada.



Figuras 35 - 38. Desarrollo del óvulo. 35. Corte longitudinal de óvulo, se observa un núcleo en posición calazal, resultado de la primera división mitótica. 36. Corte longitudinal de óvulo, se observa un núcleo en posición micropilar resultado de la primera división mitótica. 37. Corte longitudinal de óvulo, se observa el saco embrionario mostrando las sinérgidas en forma de pera con un aparato filiforme conspicuo. 38. Corte longitudinal de óvulo mostrando el aparato del huevo. ga: granos de almidón, mp: micrópilo, np: núcleos polares, nu: nucela, ov: ovocélula, si: sinérgida, te: tegumento externo, ti: tegumento interno, va: vacuola.



Figuras 39 - 42 Morfología del óvulo maduro. 39. Corte longitudinal de óvulo, se observa a la célula central del saco embrionario. 40. Corte longitudinal de óvulo. 41. Acercamiento a un óvulo maduro. 42. Acercamiento al funículo del óvulo, se observan numerosos tricomas (flechas). cc: célula central, cl: cálaza, fu: funículo, mp: micrópilo, np: núcleos polares, nu: nucela, se: saco embrionario, si: sinérgida, tc: tricomas, te: tegumento externo, ti: tegumento interno.



Figuras 43 - 45. Óvulo maduro. 43. Vista panorámica de un óvulo fecundado. 44. Acercamiento al saco embrionario, se observan restos de tubo polínico en el micrópilo (flecha). 45. Acercamiento al saco embrionario, se muestra la primera división del núcleo primario del endospermo (flecha). **Figuras 46 y 47. Micromorfología de la semilla.** 46. Vista lateral de la semilla. 47. Acercamiento a la zona hilo-micropilar. cc: célula central, cl: calaza, fu: funículo, hi: hilo, mp: micrópilo, nu: nucela, se: saco embrionario, si: sinérgida, te: tegumento externo, ti: tegumento interno, tc: tricomas.

Desarrollo de la antera en la flor bisexual

La etapa más temprana de desarrollo que se observó muestra anteras bitecas y tetraesporangiadas (Fig. 48). La antera joven está formada por la epidermis, una capa parietal primaria y el tejido esporógeno. Desde esta etapa el tejido conectivo presenta drusas (Fig. 49).

La capa parietal primaria tiene una división periclinal, originando la capa parietal secundaria externa y la capa parietal secundaria interna (Fig. 50). La célula parietal secundaria externa deriva en el endotecio y la célula parietal secundaria interna se divide periclinalmente y origina dos capas de células: la capa media y el tapete (Fig. 51), de esta manera el desarrollo de la pared de la antera de *Mammillaria dioica* corresponde al tipo monocotiledóneo según la clasificación de Davis (1966).

La pared de la antera en un estado premeiótico queda compuesta por cuatro capas uniestratificadas: epidermis, endotecio, capa media y tapete. Dentro de cada lóculo se encuentran las células madre de la microsporas (Fig. 51).

Las células madre de la microspora se rodean de una pared de calosa, presentan un citoplasma denso y núcleos evidentes (Fig. 52). Las células del tapete comienzan a aumentar de tamaño, tienen una forma cúbica y presentan un citoplasma denso, en esta etapa, algunas células del tapete presentan cariocinesis, pero sin citocinesis, de tal manera que las células son binucleadas. La capa media comienza a adelgazarse (Fig. 53).

Rodeadas de calosa las células madre de las microsporas entran a meiosis, las paredes celulares se forman al terminar ésta, es decir, ocurre una citocinesis simultánea (Fig. 54). La meiosis origina tétradas tetraédricas, en esta etapa el tapete es binucleado y se observa con un citoplasma denso (Fig. 55). Las tétradas de microsporas se separan al degradarse la pared de calosa quedando microsporas libres, las cuales crecen rápidamente.

Durante la diferenciación de la microspora, la pared de ésta se engrosa, el citoplasma tiene una gran cantidad de vacuolas, que después coalescen y forman una sola (Fig. 56).

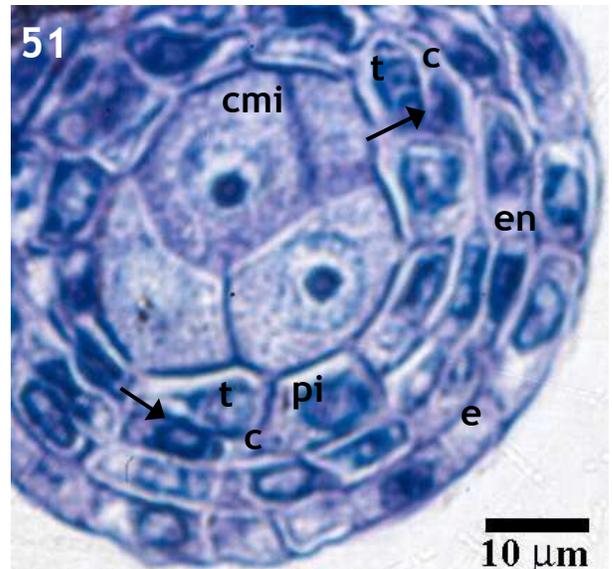
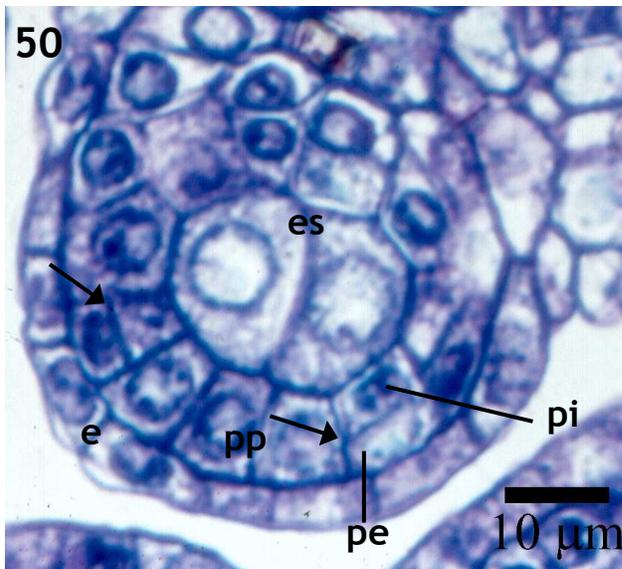
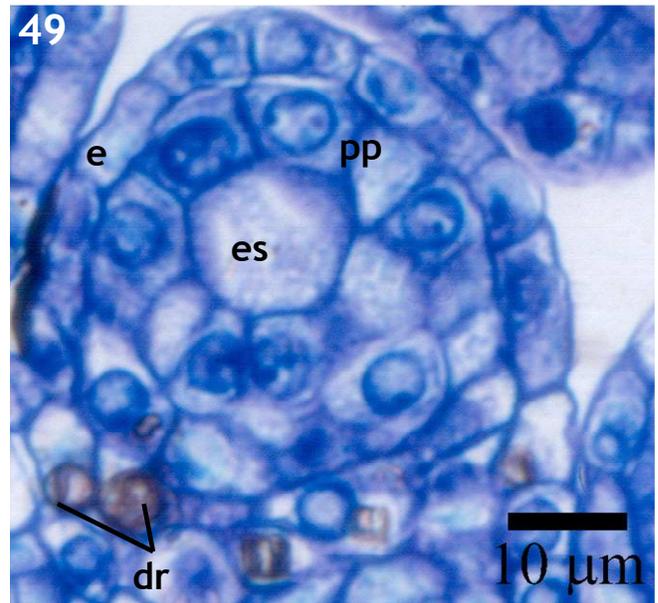
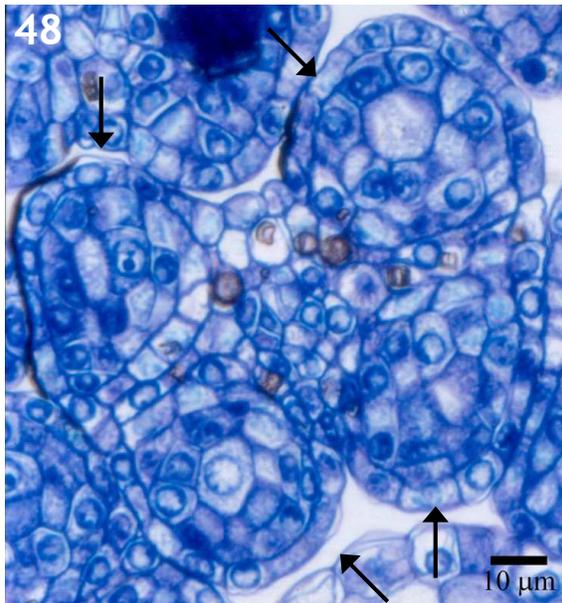
Dentro del lóculo de la antera se observa una gran cantidad de cuerpos de Ubich con material proveniente del tapete, el cual es de tipo secretor (Fig. 57).

En la pared de la antera la epidermis y el endotecio se alargan, la capa media se ha degradado completamente y sólo quedan pocos restos del tapete. El endotecio forma engrosamientos fibrosos en forma de barra (Fig. 58).

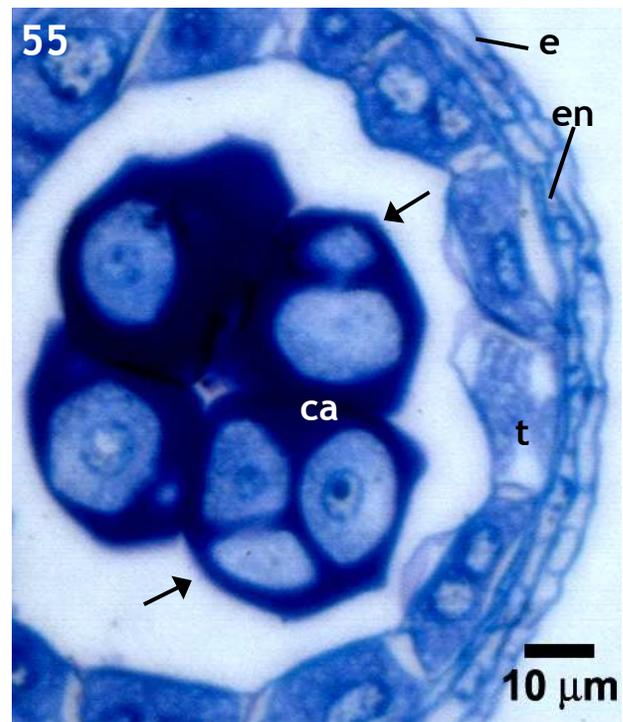
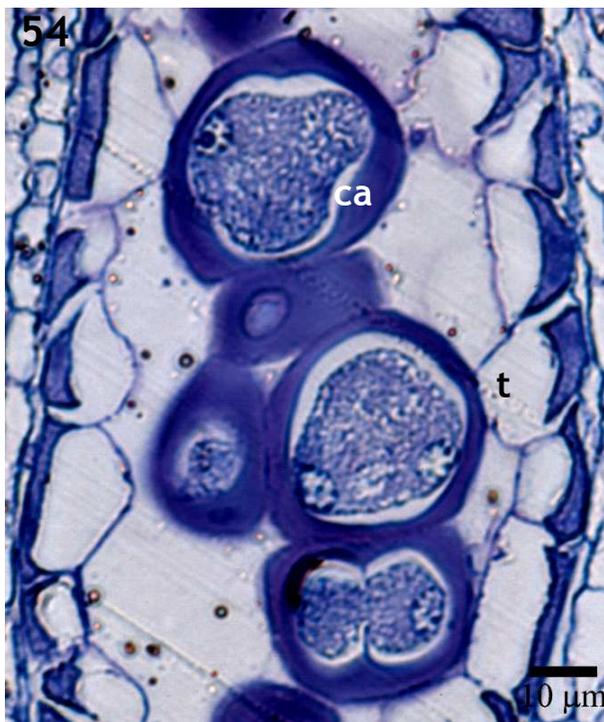
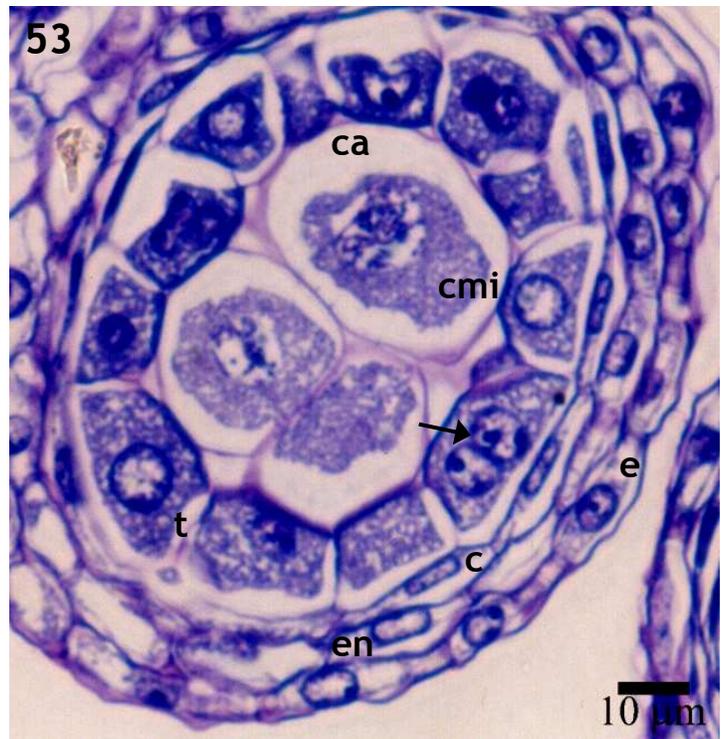
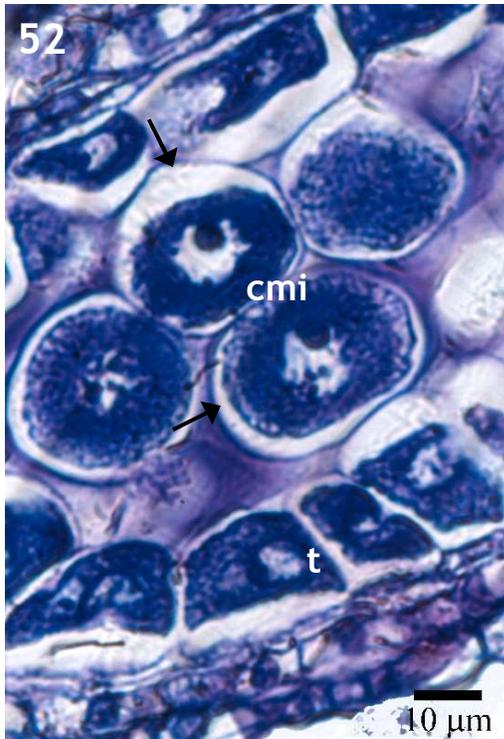
Antes de la antesis, en la pared de la antera solo se observa a la epidermis y el endotecio, los cuales se encuentran adelgazados en la zona del estomio (Fig. 59). Al momento de la antesis, el septo de la antera situado entre los dos microsporangios de cada lóbulo se rompe.

La microspora sufre una división asimétrica que origina una célula vegetativa grande y una célula generatriz de menor tamaño, convirtiéndose en un grano de polen joven (Fig. 60). Antes de la dehiscencia de la antera, en el grano de polen, la célula generatriz se divide mitóticamente originando las dos células espermáticas, por lo que los granos de polen son liberados en etapa tricolpado (Fig. 61).

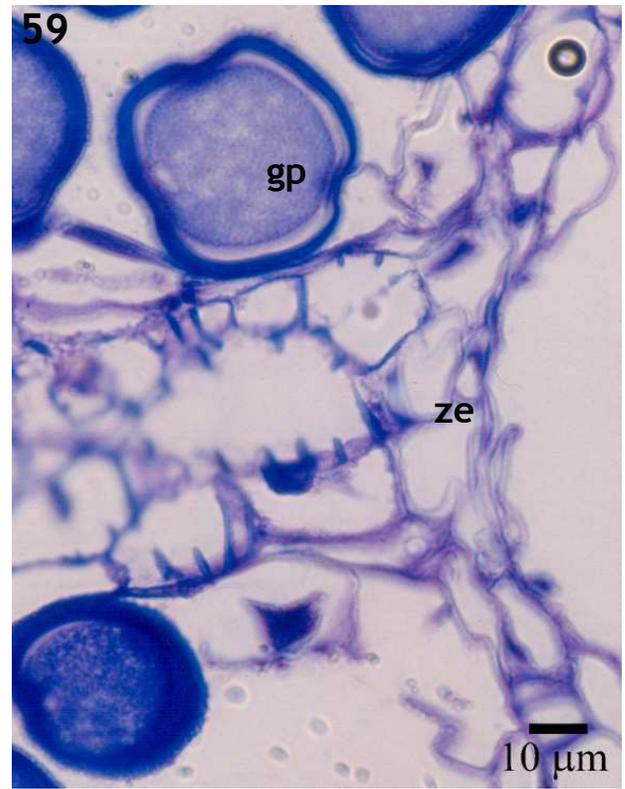
El grano de polen maduro es esférico, con exina reticulada y generalmente tricolpado (Fig. 62), aunque se observaron algunos tetracolpados (Fig. 63).



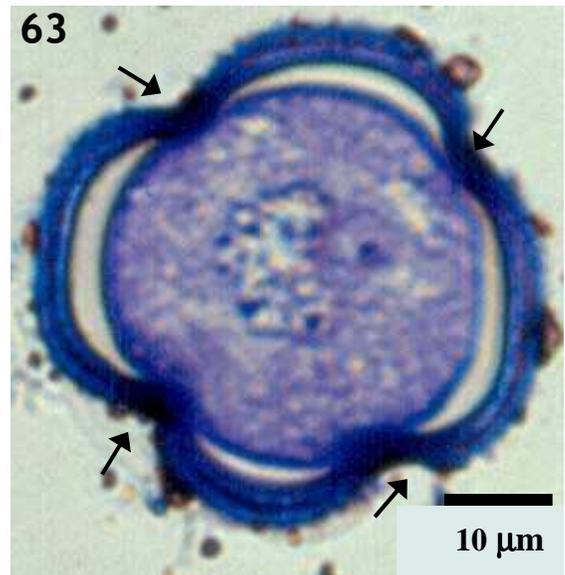
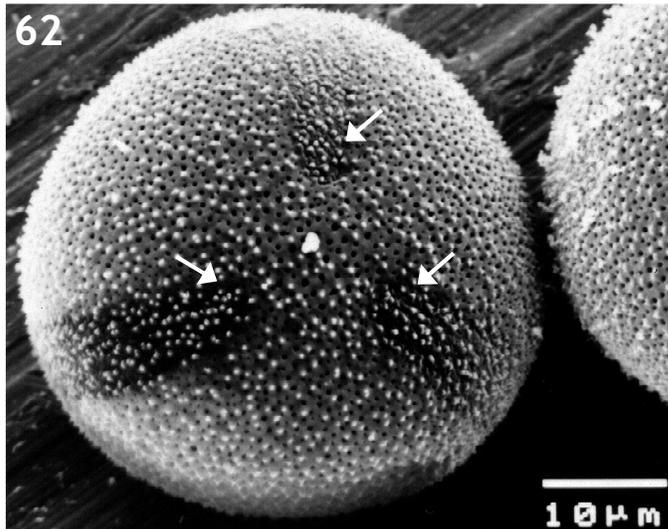
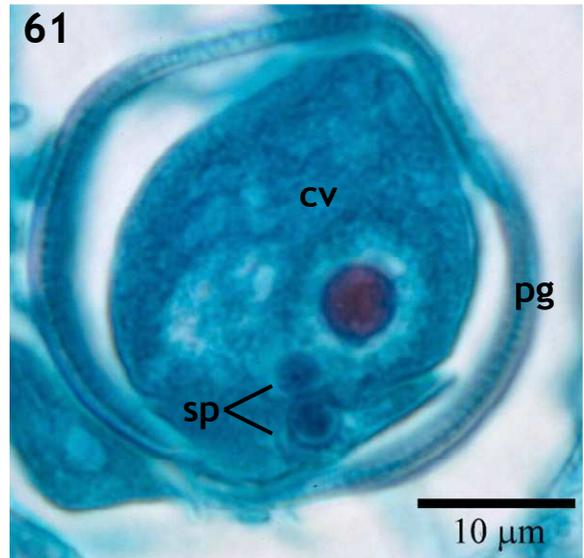
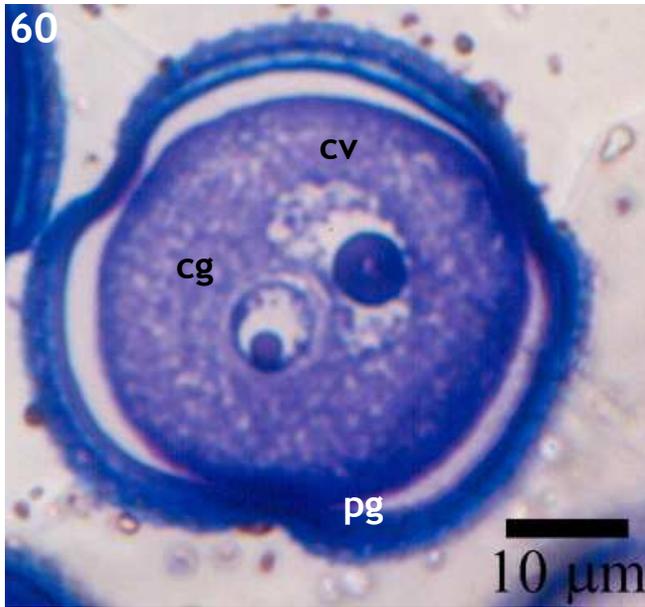
Figuras 48 - 51. Desarrollo de la pared de la antera, cortes transversales. 48. Antera biteca y tetraesporangiada, las flechas señalan cada microsporangio. 49. Pared de la antera mostrando la epidermis, la capa parietal primaria y el tejido esporógeno. 50. División periclinal de la capa parietal primaria (flechas) de la antera. 51. División periclinal de la capa parietal secundaria interna (flechas). c: capa media, cmi: célula madre de la microspora, e: epidermis, en: endotecio, es: tejido esporógeno, pe: célula parietal secundaria externa, pi: célula parietal secundaria interna, pp: capa parietal primaria, t: tapete.



Figuras 52 - 55. Microsporogénesis, cortes transversales de anteras. 52. Células madre de la microspora rodeadas por calosa (flechas). 53. Corte transversal de antera, muestra la cariocinesis en las células del tapete (flecha). 54. Citocinesis simultánea en las células madre de las microsporas. 55. Corte transversal de antera, se observan las tétradas tetraédricas de microsporas (flechas). c: capa media, ca: calosa, cmi: célula madre de las microsporas, e: epidermis, en: endotecio, t: tapete.



Figuras 56 - 59. Diferenciación de la pared de la anteras y maduración del grano de polen.
 56. Granos de polen con varias vacuolas que coalescerán y formarán una sola (flecha).
 57. Corte transversal de antera que muestra los cuerpos de Ubich con material proveniente del tapete (flechas).
 58. Corte transversal de antera, se observa endotecio con engrosamientos en barra (flechas) y restos del tapete (cabezas de flechas).
 59. Acercamiento a la zona del estomio.
 e: epidermis, en: endotecio, gp: grano de polen, t: tapete, va: vacuola, ze: zona del estomio



Figuras 60 - 63. Microgametogénesis y morfología del grano de polen. 60. Grano polen bicelular, se muestra la célula vegetativa y la célula generatriz. 61. Grano de polen tricolpado con la célula vegetativa y dos células espermáticas. 62. Vista polar de grano de polen esférico y tricolpado, las flechas señalan los colpos. 63. Grano de polen tetracolpado, las flechas señalan los colpos. **cg:** célula generatriz, **cv:** célula vegetativa **pg:** pared del polen, **sp:** células espermáticas.

Esterilidad masculina en flores femeninas

En las flores femeninas, el desarrollo de la pared de la antera es aparentemente normal hasta la etapa premeiótica, presenta el mismo desarrollo observado en las flores bisexuales, es decir, observamos una pared de la antera con cuatro capas uniestratificadas: epidermis, endotecio, capa media y tapete (Fig. 64). Después, la pared de la antera presenta ciertas particularidades en su desarrollo que llevan a la esterilidad masculina.

Una vez que se han diferenciado las cuatro capas uniestratificadas, la pared de la antera presenta un crecimiento anormal, la epidermis se alarga en sentido anticlinal, mientras que el endotecio y la capa media aumentan su tamaño. El cambio más evidente se observa en el tapete, este tejido aumenta considerablemente su volumen a tal grado que invade el lóculo de la antera (Fig. 65), éstas tienen una división periclinal, formando un tapete biestratificado. Con este tapete biestratificado se conforma una pared de la antera con cinco estratos que contrastan con los cuatro que constituyen la pared de la antera de las flores bisexuales (Fig. 66).

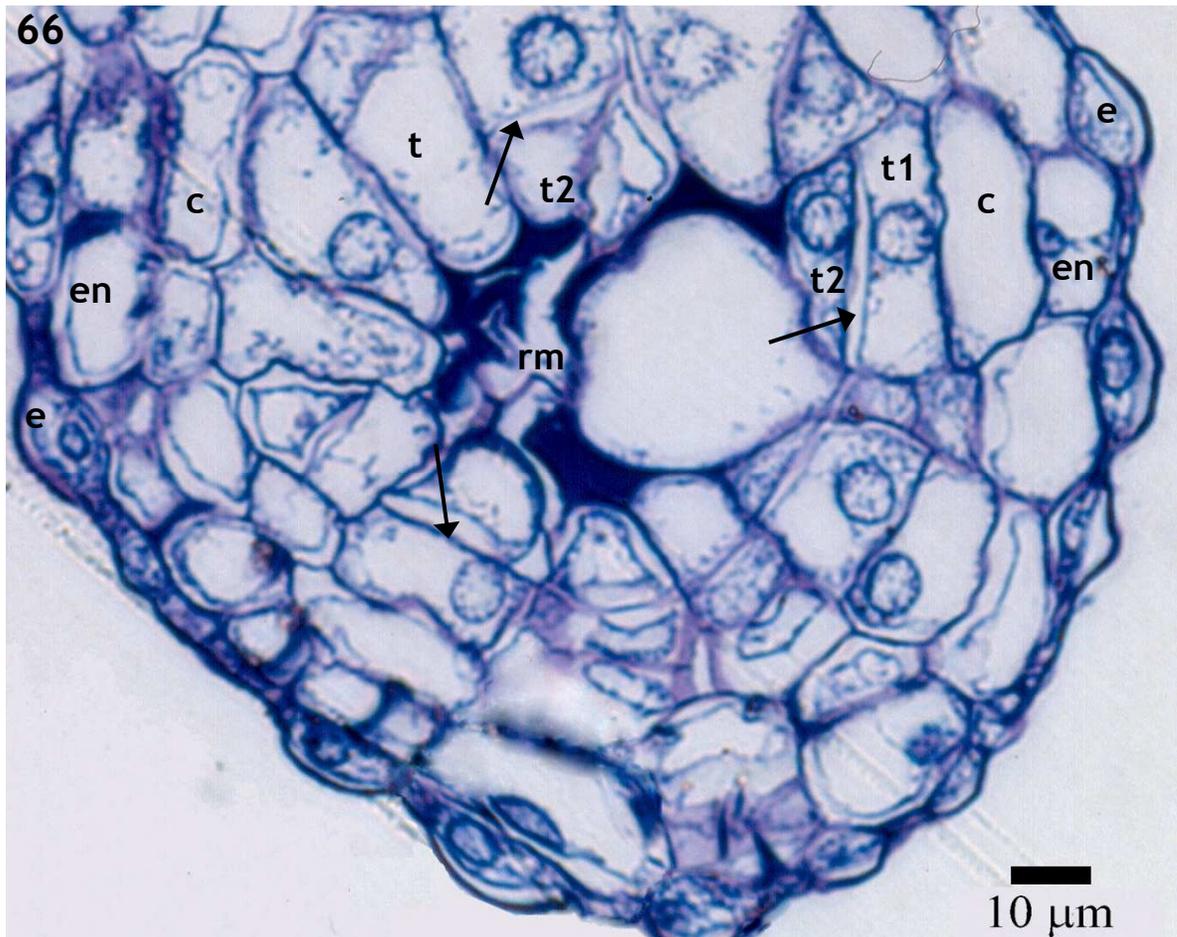
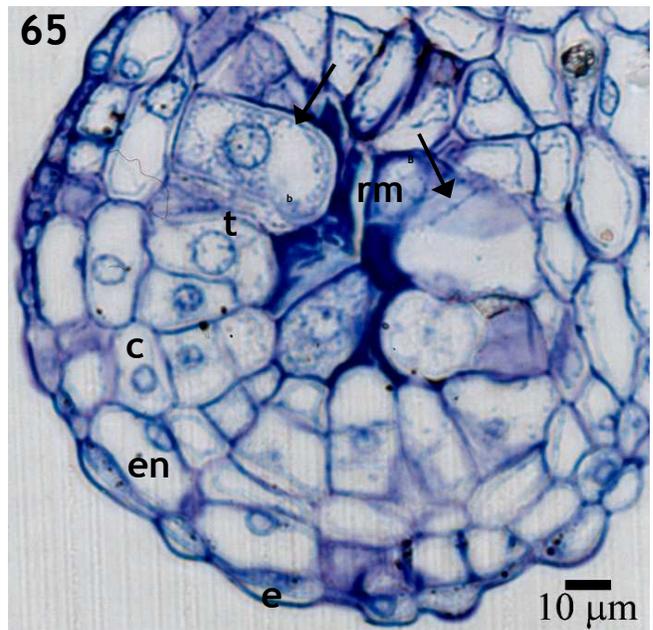
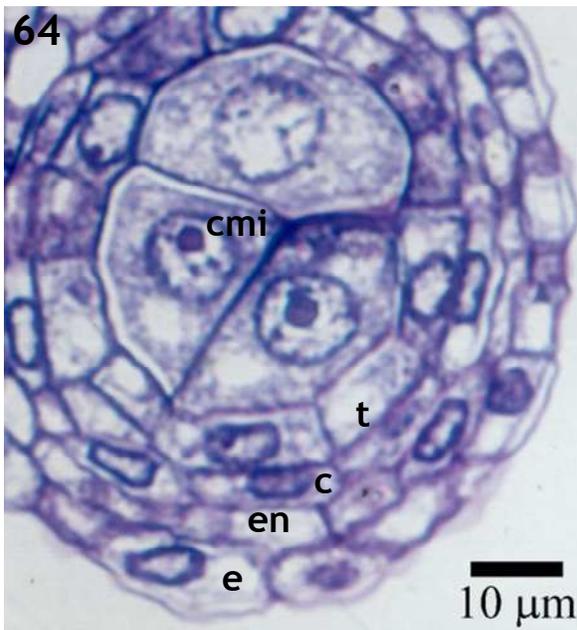
En la pared de la antera los tejidos continúan diferenciándose. El endotecio forma engrosamientos fibrosos en forma de barra, la capa media se adelgaza hasta que degenera completamente; en el tapete, el estrato interno aumenta de tamaño y el estrato externo comienza a colapsarse, posteriormente, ambos estratos pierden su contenido celular (Figs. 67 y 68).

En el lóculo de la antera la mayoría de las células madre de las microsporas degeneran, sin embargo, algunas de ellas (muy raras) continúan su desarrollo e inician la meiosis, la etapa de la meiosis más avanzada que se observó fue la metafase I, sin embargo, estas células se colapsan y degeneran, ya que no se observaron etapas desarrollo posteriores a la meiosis I de las células madres de las microsporas.

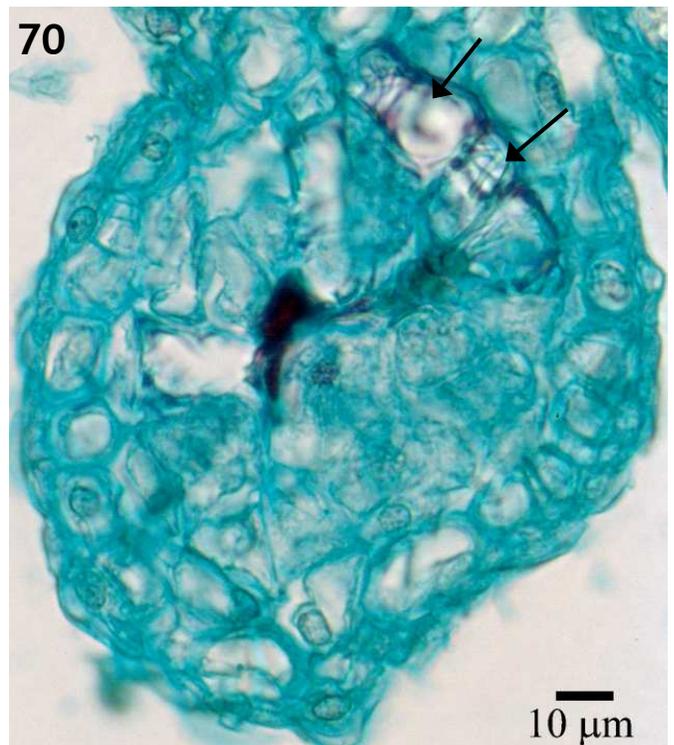
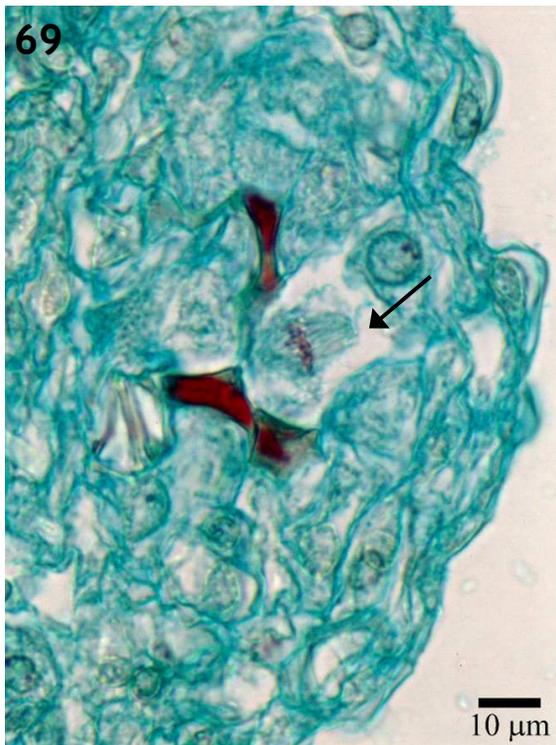
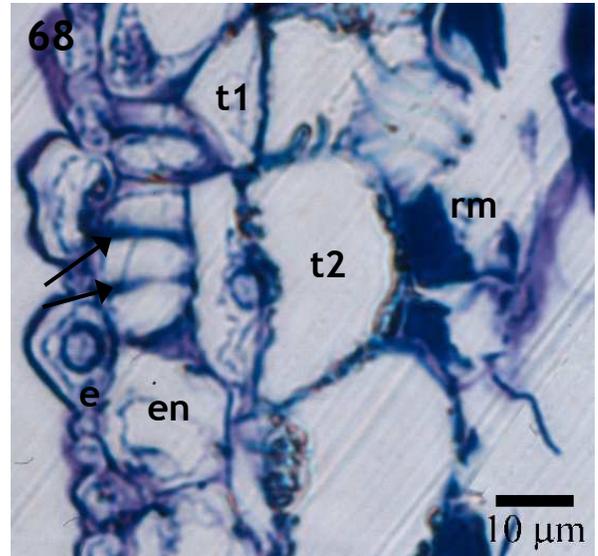
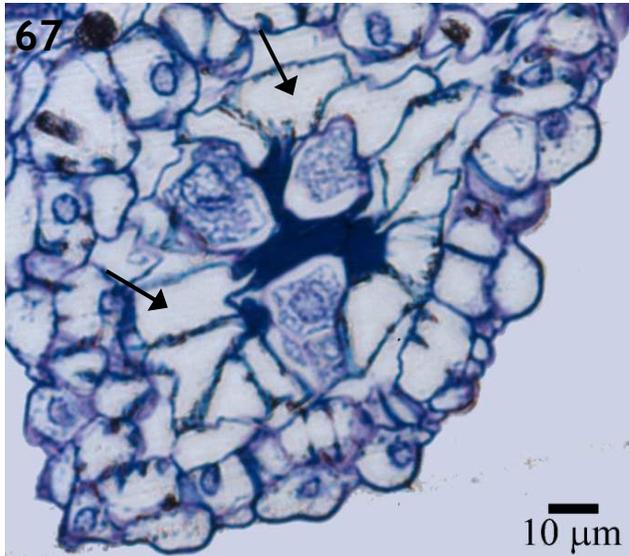
El estrato interno del tapete desarrolla engrosamientos fibrosos (Fig. 70), sus células son cúbicas y ocupan el espacio del lóculo, son de mayor tamaño y con engrosamientos mayores que los del endotecio, y se tiñen más densamente que este último (Fig. 71).

Estos engrosamientos no tienen un orden definido, son de apariencia espiralada, se tiñen intensamente en rojo con la tinción de safranina - verde rápido, a diferencia de la tinción con azul de toluidina que no los hace tan evidentes (Figs. 71 y 72).

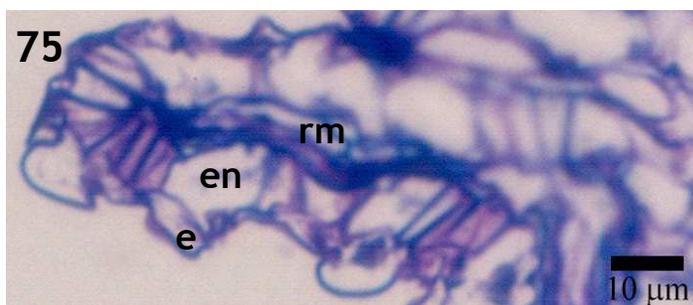
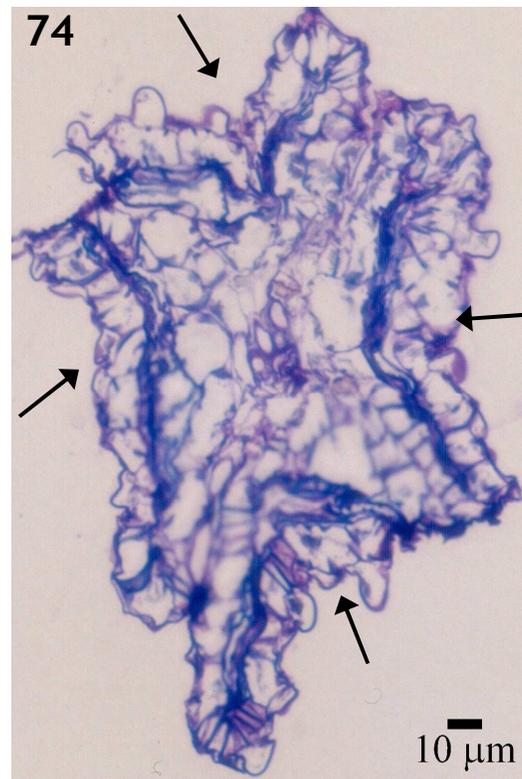
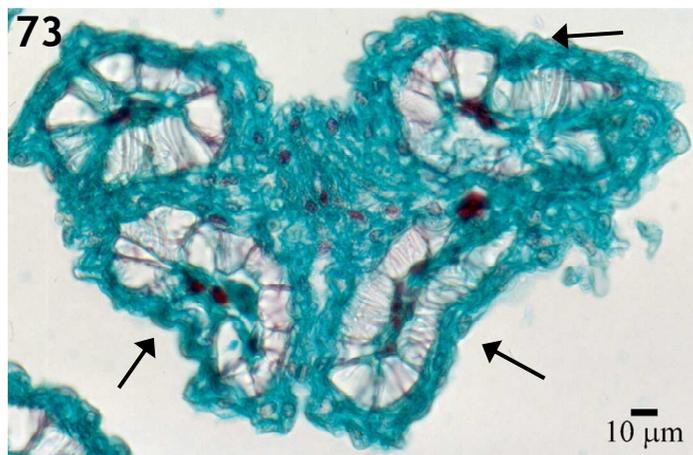
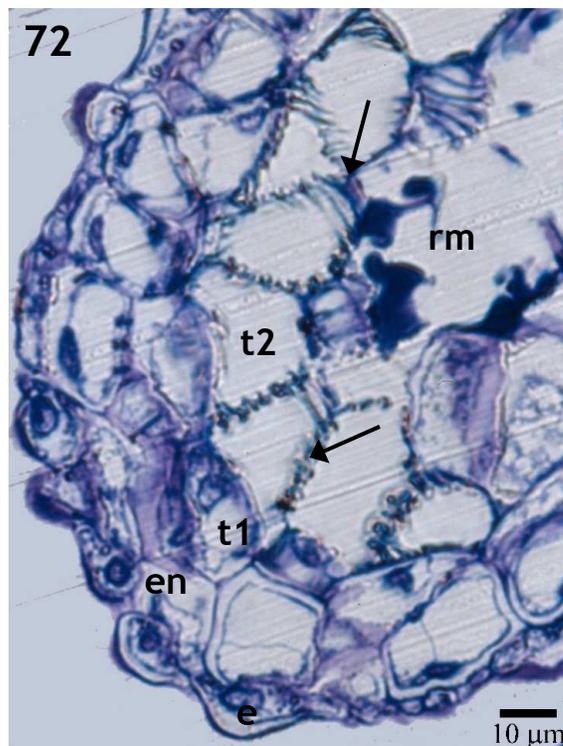
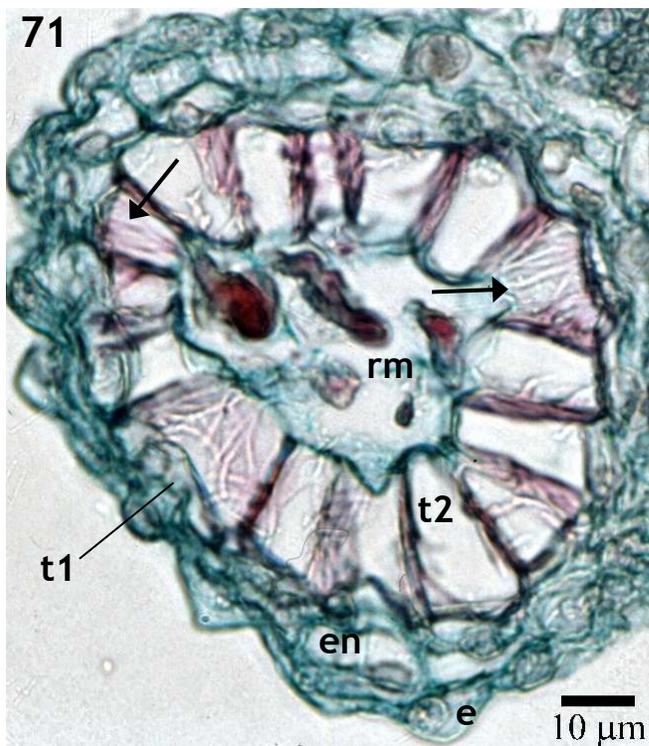
Estas anteras con engrosamientos fibrosos en el endotecio y en el tapete comienzan a colapsarse (Fig. 73). En la antesis, la antera se encuentra totalmente colapsada, con una epidermis delgada y deformada, el endotecio se observa con engrosamientos fibrosos en forma de barra, el tapete biestratificado se colapsa, aunque se logran observar algunos restos del tapete interno con engrosamientos. Dentro del lóculo de la antera solo se observan remanentes de las células madres de las microsporas. Las anteras colapsadas son indehiscentes (Figs. 74 y 75).



Figuras 64 - 66. Cortes transversales de anteras de flores femeninas. 64. Microsporangio con desarrollo normal hasta células madres de la microspora y pared de la antera con cuatro capas uniestratificadas. Fig. 65. Invasión del lóculo de la antera por el crecimiento anormal de las células del tapete (flechas). Fig. 66. División periclinal de las células del tapete (flechas). c: capa media, cmi: célula madre de la microspora, e: epidermis, en: endotecio, rm: restos de células madre de la microspora t: tapete, t1: tapete externo, t2: tapete interno.



Figuras 67 - 70. Cortes transversales de anteras de flores femeninas. 67. Tapete biestratificado sin contenido citoplasmático (flechas). 68. Engrosamientos en forma de barra del endotecio (flecha). 69. Célula madre de las microsporas en metafase I (flecha). 70. Engrosamientos fibrosos en el tapete interno (flechas). e: epidermis, en: endotecio, rm: restos de células madre de la microspora, t1: tapete externo, t2: tapete interno.



Figuras 71 - 75. Cortes transversales de anteras de flores femeninas. 71. Anteras con engrosamientos en todo el estrato del tapete interno (flechas), tinción con safranina-verde rápido. 72. Anteras con engrosamientos en todo el estrato del tapete interno (flechas), tinción con azul de toluidina. 73. Microsporangios colapsados (flechas). 74. Antera en preantesis con los cuatro microsporangios totalmente colapsados (flechas). 75. Acercamiento de un microsporangio colapsado. e: epidermis, en: endoteco, rm: restos de las células madre de las megasporas, t1: tapete externo, t2: tapete interno.

DISCUSIÓN

Sistema de cruzamiento de *Mammillaria dioica* en El Comitán

La población de *Mammillaria dioica* de la localidad El Comitán, presenta dos morfos florales, uno bisexual y otro femenino, no se encontró en esta población el morfo floral masculino descrito por Brandege (1897), el cual, de acuerdo con la autora, presenta estilos imperfectos sin división de los lóbulos del estigma, esto sugiere que tal vez existen otras poblaciones diferentes a las ginodioicas donde se presente la esterilidad femenina. Otra población similar a la de El Comitán es la descrita por Ganders y Kennedy (1978), quienes también describen los morfos florales bisexual y femenino en una población de San Diego, California. De acuerdo con estos autores las flores femeninas presentan anteras sin granos de polen, sin embargo no se muestran los detalles morfológicos de estas estructuras.

Por otro parte, Lindsay y Dawson (1952), señalan que la condición dioica en la especie no es comúnmente observada, sin embargo no aportan más datos acerca de la de los morfos florales observados y su frecuencia. Lo más probable es que como argumenta Parfitt (1985), *M. dioica* puede tener sistemas de cruzamiento trioico o ginodioico difiriendo de una población a otra.

Embriología de *Mammillaria dioica*

Desarrollo del óvulo

En *Mammillaria dioica* los primordios de óvulo tienen placentación parietal como sucede en la mayoría de las cactáceas, a excepción de las especies del género *Pereskia* con ovario súpero que presentan una placentación axilar (Boke, 1963 y Bravo-Hollis y Sánchez-Mejorada, 1991).

La megasporogénesis y la megagametogénesis en *M. dioica*, presentan características descritas para otras especies de cactáceas: tegumentos de origen dérmico, triada lineal de megasporas, en donde la megaspora en posición calazal es la funcional y desarrolla un saco embrionario de tipo Polygonum. (Johri *et al.*, 1992; Engleman, 1960; Hernández y García, 1991; Jiménez, 2002; Núñez, 2004; Parada, 2004).

En *Mammillaria dioica*, así como en *M. san-angelensis* y *M. haageana* (Parada, 2004) y en el resto de las cactáceas (Johri *et al.*, 1992), el saco embrionario está

conformado por dos sinérgidas, la ovocélula, la célula central binucleada y las antípodas que son efímeras. Hasta el momento solo Hernández y García (1991) reportan que en *M. rhodantha* y *M. compressa* las antípodas desaparecen hasta la fecundación.

Tanto en *M. dioica* como en *M. san-angelensis* y *M. haageana* (Parada, 2004) en el aparato del huevo, las sinérgidas presentan un núcleo grande orientado hacia la calaza y una vacuola orientada hacia el micrópilo y un aparato filiforme conspicuo. La ovocélula se encuentra lateralmente a las sinérgidas.

Los óvulos de *M. dioica* son crasinucelados, bitégmicos, con tegumentos biestratificados, solo el tegumento interno es pluriestratificado en la región micropilar, formando un micrópilo endóstomo, estas características también han sido observados en *M. compressa* y *M. rodhantha* (Hernández y García, 1991); en *M. haageana* y *M. san-angelensis* (Parada 2004) y en otras especies de la familia (Engelman, 1960; Jiménez, 2002; Orozco, 2002; Núñez, 2004).

Se han reportado óvulos anátropos, hemianátropos y campilótropos en las cactáceas (Johri *et al.*, 1992), los óvulos de *M. dioica* son campilótropos al igual que en *M. compressa* y *M. rodhantha* (Hernández y García, 1991), así como los de *M. haageana* y *M. san-angelensis* (Parada 2004).

Aunque en *M. dioica* no se observaron tubos polínicos creciendo a través de los tricomas de la parte ventral del funículo, es probable que estos tengan la función de un obturador ya que durante la anthesis de la flor se encuentran en íntimo contacto con el micrópilo. Al respecto Johri *et al.* (1992) señala que en las cactáceas, la superficie interna del funículo esta cubierta de papilas; particularmente en *M. san-angelensis* y *M. haageana*, se describe como un obturador a las células alargadas en la zona ventral del funículo (Parada, 2004).

Desarrollo de la antera

En las flores bisexuales de *Mammillaria dioica*, el desarrollo de la pared de la antera de tipo monocotiledóneo con 4 capas uniestratificadas, citocinesis simultánea en las células madre de la microspora, tapete binucleado de tipo secretor, pared de la antera madura en donde persisten la epidermis y el endotecio, este último con engrosamientos fibrosos en forma de barra. Estas características han sido observadas

en diversas especies de la familia (Jiménez, 2002; Orozco, 2002; Núñez, 2004; Parada, 2004).

En *M. dioica* sólo se observaron tétradas de microsporas de tipo tetraédricas a diferencia de *M. san-angelensis* y *M. haageana* que presentan dos tipos: tétradas tetraédricas y decusadas, aunque estas últimas fueron escasas (Parada, 2004).

El grano de polen en *M. dioica* se libera en etapa tricelular, es globoso, con exina reticulada y generalmente tricolpado, aunque se observaron algunos granos de polen tetracolpados; en *M. dioica* no se observaron pericolpados como los que se reportan en *M. san-angelensis* y *M. haageana* (Parada, 2004).

Sistemas de cruzamiento y esterilidad masculina en la familia Cactaceae

En la familia Cactaceae se han reportado flores unisexuales en sólo 18 especies. La información acerca de su unisexualidad es escasa y existen pocas descripciones de los cambios morfológicos que sufre la flor durante su desarrollo para derivar en una flor unisexual. En estos últimos años, se han estudiado diversas especies desde el punto de vista embriológico, en donde se han descrito algunas alteraciones en el desarrollo de la flor que la llevan a la unisexualidad (Strittmatter *et al.*, 2002, Orozco, 2002, 2005; Núñez, 2004; Flores, 2005; Silva y Vázquez, com. pers.; Montero y Vázquez, com. pers.)

Sin embargo, especies de la familia Cactaceae que muestran flores unisexuales de las cuales no existe mayor información del desarrollo floral son: *Pereskia portulacifolia*, *P. quisqueyana*, *P. zinniiflora* (Leuenberger, 1986), y *P. marcanoi* (Areces, 1992), *Opuntia quimilo* (Díaz y Cocucci, 2003), *O. wolffi* (Rebman, 1998), *Mammillaria neopalmeri* (Lindsay y Dawson, 1952), *Neobuxbaumia mezcalaensis* (Valiente-Banuet *et al.*, 1997) y *Pachycereus fulviceps* (S. Arias, com. pers.). Con el propósito de conocer desde un enfoque embriológico los procesos que llevan a la unisexualidad actualmente se están estudiando las especies: *P. portulacifolia*, *O. robusta*, *O. stenopetala* y *N. mezcalaensis* (Vázquez, com. pers.).

Los filamentos de los estambres de las flores femeninas de *Mammillaria dioica* no son necesariamente de menor tamaño que los observados en las flores bisexuales, a diferencia de las flores femeninas de *Echinocereus coccineus* (Hoffman, 1992), *O. sanfelipensis* (Rebman, 1998) y *O. robusta* (Silva y Vázquez, com. pers), en donde si se

ha observado estambres cortos con respecto a su otro morfo floral. Además, en *M. dioica* se observó un colapso del filamento en la zona de unión con la antera. Los filamentos cortos y el colapso mencionado se han observado en *Consolea spinosissima* (Strittmatter *et al.*, 2002) y *O. stenopetala* (Orozco, 2002), sin embargo, en estas dos últimas especies, se ha observado también un colapso menor en el resto del filamento, lo cual no sucede en *M. dioica*.

En *M. dioica* las anteras maduras de las flores femeninas están marchitas o colapsadas, no forman granos de polen y son indehiscentes; de igual forma Hoffman (1992), Rebman (1998), Strittmatter *et al.* (2002), Orozco (2002) y Silva y Vázquez (com. pers.) reportan en *E. coccineus*, *O. sanfelipensis*, *C. spinosissima* *O. stenopetala* y *O. robusta* respectivamente, las mismas características en las anteras de las flores femeninas. Contrario a lo que sucede en las flores unisexuales de otras especies de la familia Cactaceae, en la flor femenina de *Selenicereus innesii* existe una ausencia total de estambres (Kinnach, 1982).

Tanto en *M. dioica*, como en *C. spinosissima* (Strittmatter *et al.*, 2002) y *O. stenopetala* (Orozco, 2002) la pared de la antera en las flores femeninas presenta anomalías en el tapete y el desarrollo de la antera se detiene al iniciarse la meiosis; a diferencia de las flores femeninas de *O. robusta* (Silva y Vázquez, com.pers.) y *Pachycereus pringlei* (Núñez, 2004) en donde el desarrollo de la antera supera la etapa de meiosis. En *O. robusta* se observan tétradas de microsporas, en esta etapa, la antera comienza a colapsarse; en *P. pringlei* se forman granos de polen, aunque gran parte de ellos no son viables, ya que se encuentran hipertrofiados o con una pared discontinua.

Las observaciones realizadas en *M. dioica* en cuanto a la esterilidad masculina de las flores femeninas, nos permite distinguir ciertas diferencias con lo que se ha encontrado en *C. spinosissima* (Strittmatter *et al.*, 2002) y *O. stenopetala* (Orozco, 2002). Tanto en *M. dioica*, como en *C. spinosissima* y *O. stenopetala* existen anomalías en el tapete de las anteras de las flores femeninas; en *M. dioica* la presencia de un tapete que invade el lóculo de la antera y presenta una división periclinal, formando un tapete biestratificado con engrosamientos fibrosos en el estrato interno, la hacen única, ya que en *C. spinosissima* y en *O. stenopetala*, el tapete se vacuoliza de manera conspicua y degenera al iniciarse la meiosis. Conjuntando los datos embriológicos y moleculares, Flores (2005) ha reportado muerte celular programada en el tapete de las anteras de las flores femeninas de

O. stenopetala. El endotecio en las flores femeninas de *M. dioica* continua su desarrollo y forma engrosamientos fibrosos en forma de barra, lo cual difiere a lo observado reportado en *C. spinosissima* y *O. stenopetala* en donde el endotecio no desarrolla engrosamientos fibrosos. Aunque para las tres especies se reporta que la células madres de las microsporas comienzan a degenerar al iniciarse la meiosis, en *M. dioica* las células madre de la microspora no superan la metafase I, mientras que en *C. spinosissima* y *O. stenopetala* éstas no avanzan más allá de la profase I, no obstante, en *C. spinosissima* se han observado algunas tétradas de microsporas anormales que posteriormente degeneran. La degeneración de las células madres de las microsporas por la existencia de anomalías en el tapete, sugiere que existe una coordinación en el desarrollo del tapete y las células madres de las microsporas.

Bemis *et al.* (1972) al estudiar la esterilidad masculina en *M. estebanensis*, señalan que el tapete llevó a cabo una división celular adicional y es persistente, lo cual evita el desarrollo normal del polen, indican que existe la formación de granos de polen pero debido a que la pared de la antera falló en la dehiscencia estos no fueron liberados, sin embargo, no presentan evidencias. Apuntan que un patrón similar fue observado en *M. dioica*. A pesar de que en este trabajo se observó la división adicional del tapete, nunca se observaron granos de polen, ni restos de ellos.

Esterilidad masculina en *Mammillaria dioica*

La falla en la producción de anteras, polen, o gametos masculinos funcionales, es conocida como esterilidad masculina (Kaul, 1988). En *Mammillaria dioica* existen anomalías y fallas en el desarrollo de la antera y por lo tanto se ve afectada la producción de polen.

Las características particulares del fenotipo estéril detectado en *M. dioica* no se ha observado en la familia Cactaceae. Un fenotipo de esterilidad masculina similar al de *M. dioica*, en cuanto a que las células madre de las microsporas degeneran en meiosis temprana, ha sido reportado en *Arabidopsis thaliana* (Sanders *et al.* 1999), sin embargo, las características específicas del desarrollo de la pared de la antera es muy diferente.

En *M. dioica* la presencia de un tapete biestratificado y la degeneración de las células madres de las microsporas al iniciarse la meiosis coinciden con lo observado por Chaubal *et al.* (2000) en los mutantes ms23 y ms32 del maíz, sin embargo, en estas mutantes ninguno de los dos estratos de tapete desarrolla engrosamientos

fibrosos como los observados en las anteras con esterilidad masculina de las flores femeninas de *M. dioica*.

A partir de este análisis embriológico no se puede clasificar el tipo de esterilidad masculina, de acuerdo a su origen genético, es decir, esterilidad masculina citoplásmica (Chaudhury, 1993) o esterilidad masculina nuclear (Mackenzie, 1991) por lo que sería conveniente abrir o continuar con esta línea de investigación.

Origen de la unisexualidad de *Mammillaria dioica*

De acuerdo con la clasificación del origen de flores unisexuales propuesto por Mitchell y Diggle (2005), la flor femenina de *Mammillaria dioica* es de tipo I, lo cual coincide con lo observado en las especies unisexuales de la familia Cactaceae en donde se encuentran diferentes grados de atrofiaciones de las estructuras reproductivas masculinas y/o femeninas. En las flores femeninas se desarrollan estambres, pero tienen anteras que han perdido su función; en las flores masculinas se forman órganos femeninos, pero exhiben distintos grados de atrofia del gineceo, perdiendo su función. Sólo la especie ginodioica *Selenicereus innesii* presenta una flor femenina del tipo II, en donde no presentan estructuras rudimentarias del androceo (Kimnach, 1982). A pesar de la descripción dada por el autor no existen evidencias contundentes de que no hay vestigios de los órganos atrofiados sería necesario hacer estudios de tipo embriológico o estructural para determinar si las flores son unisexuales desde el inicio de su formación.

La condición ginodioica en algunas poblaciones de *M. dioica* es posiblemente la etapa intermedia hacia el dioicismo de la especie. Es factible que la dioicia descrita por Brandegee (1897) y Lindsay y Dawson (1952) se haya originado a partir de un ancestro hermafrodita vía ginodioicismo, esto de acuerdo con las rutas hacia el dioicismo indicadas por Ainsworth (2000) y las teorías propuestas por Charlesworth y Charlesworth (1978), en donde se señalan que la evolución del dioicismo directamente de un ancestro hermafrodita, es más probable a través del ginodioicismo.

En la familia Cactaceae, la unisexualidad ha surgido en especies distribuidas en distintas regiones del continente americano y muchas de estas especies no tienen una relación filogenética cercana. La presente investigación, los trabajos embriológicos (Strittmatter *et al.*, 2002, Orozco, 2002, Núñez, 2004, Flores, 2005; Silva y Vázquez, com. pers.) y otros estudios (Bemis *et al.* 1972; Kimnach, 1982; Hoffman, 1992) realizados en especies de cactáceas con flores unisexuales, permiten sugerir que los

procesos que llevan a la esterilidad femenina o masculina han aparecido y evolucionado en la familia de manera independiente, ya que se han observado diferencias significativas en estos procesos, por lo que es probable que las nuevas investigaciones sobre la embriología y el desarrollo floral de las especies de cactáceas unisexuales no estudiadas, o con poca información, describan procesos distintos a los ya observados, los cuales han llevado a las especies hacia un sistema de cruzamiento distinto al hermafrodita.

CONCLUSIONES

La población de *Mammillaria dioica* estudiada en el predio de El Comitán, presenta dos morfos florales, uno bisexual y otro femenino, por lo que su sistema de cruzamiento es ginodioico.

Las flores bisexual y femenina de *M. dioica* presentan un óvulo campilótropo, bitégmico, crasinucelado y endóstomo. El saco embrionario es de tipo Polygonum, presenta antípodas efímeras y contiene granos de almidón; en las flores bisexuales la pared de la antera está compuesta por cuatro capas uniestratificadas: epidermis, endotecio, capa media y tapete; su desarrollo es de tipo monocotiledóneo. Presenta tétradas de microsporas de tipo tetraédrico. El grano de polen maduro es globular, con exina reticulada, tricolpado y son liberados en etapa tricelular. Las características embriológicas observadas son constantes con las demás cactáceas estudiadas.

En las flores femeninas de *M. dioica*, el desarrollo de la antera y la formación de los granos de polen se detienen al iniciarse la meiosis de las células madres de las microsporas, las cuales degeneran.

En las flores femeninas el tapete anormal aumenta considerablemente su tamaño y tiene una división periclinal, formando un tapete biestratificado, el estrato externo degenera y el interno desarrolla engrosamientos fibrosos en sus paredes celulares similares a las del endotecio.

En antesis, las anteras de la flor femenina de *M. dioica*, se encuentran colapsadas y son indehiscentes.

Este fenotipo de esterilidad masculina no ha sido observado en otras cactáceas y tampoco ha sido descrito para alguna otra familia de angiospermas.

BIBLIOGRAFÍA

- Ainsworth C. 2000. Boys and girls come out to play: the molecular biology of dioecious plants. *Annals of Botany* **86**: 211-221.
- Anderson E. 2001. *The cactus family*. Timber Press, Portland.
- Areces M. 1992. *Pereskia marcanoi*, a new species of *Pereskia* from Hispaniola. *Brittonia* **44** (4): 423 - 428.
- Barret S. 1998. The evolution of mating strategies in flowering plants. *Trends in Plant Science* **3**: 335- 341.
- Barret S. 2002. The evolution of plant sexual diversity. *Nature* **3**: 274- 284.
- Barthlott W. y D. R. Hunt. 2000. Seed-diversity in the Cactaceae: subfamily Cactoideae. *Succulent Plant Research* **5**: 1-173.
- Bawa K. 1980. Evolution of dioecy in flowering plants. *Annual Review of Ecology and Systematics* **11**: 15-39.
- Bawa, K. y J. Beach. 1981. Evolution of sexual systems in flowering plants. *Annals of the Missouri Botanical Garden* **68**:254-274.
- Bemis P. W., J. W. Berry y A. J. Deutschman. 1972. Observations on male sterile Mammillariae. *Cactus and Succulents Journal* **44**: 256.
- Boke N. H. 1963. The genus *Pereskia* in Mexico. *Cactus and Succulents Journal* **35**: 3-10.
- Brandegee K. 1897. Notes on Cactae. I. Cactae of Baja California. *Erythea* **5**: 11-123.
- Bravo-Hollis H. y Sánchez Mejorada H. 1991. *Las Cactáceas de México*. Vol. 1 y 3. Universidad Nacional Autónoma de México. México.
- Chaudhury A. 1993. Nuclear genes controlling male fertility. *The Plant Cell* **5**: 1277 - 1283.
- Charlesworth B. y D. Charlesworth. 1978. A model for the evolution of dioecy and gynodioecy. *American Naturalist* **112**: 975- 997.
- Charlesworth B y D. Charlesworth. 1979. Population genetics of partial male sterility and the evolution of monoecy and dioecy. *Heredity* **41**: 137- 154.
- Chaubal R., C. Zanella, M. Trimnell, T. Fox, M. Albertsen y P. Bedinger. 2000. Two male-sterile mutants of *Zea mays* (Poaceae) with an extra cell division in the anther wall. *American Journal of Botany* **87** (8): 1193- 1201.
- Craig R. 1945. *The Mammillaria handbook*. Abbey Garden Press, Pasadena California.
- Davis G. L. 1966. *Systematic embryology of Angiosperms*. John Wiley and Sons. EUA.

- Del Castillo R. F. 1986. La selección natural de los sistemas de cruzamiento de *Opuntia robusta*. Tesis de Maestría. Enseñanza e Investigación en Ciencias Agrícolas, Centro de Botánica. Chapingo, México.
- Del Castillo R. y M. González-Espinosa. 1988. Una interpretación evolutiva del polimorfismo sexual de *Opuntia robusta* (Cactaceae). *Agrociencia* 71: 185-196.
- Dellaporta S. y A. Calderón-Urrea. 1993. Sex determination in flowering plants. *The Plant Cell* 5: 1241-1251.
- Díaz L y A. A. Cocucci. 2003. Functional gynodioecy in *Opuntia quimilo* (Cactaceae), a tree cactus pollinated by bees and hummingbirds. *Plant Biology Stuttgart* 5 (5): 531- 539.
- Engleman E. 1960. Ovule and seed morphology of certain cacti. *American Journal of Botany* 47: 460-467.
- Fleming T. H., S. L. Buchmann y M. D. Tuttle. 1994. Reproductive biology and relative fitness in a trioecious cactus, *Pachycereus pringlei* (Cactaceae). *American Journal of Botany* 79: 1382-1388.
- Fleming T. H., S. Maurice y J. L. Hamrick. 1998. Geographic variation in the breeding system and the evolutionary stability of trioecy in *Pachycereus pringlei* (Cactaceae). *Evolutionary Ecology* 12: 279 - 289.
- Flores L. 2005. Esterilidad masculina en *Opuntia stenopetala* (Cactaceae). Tesis de Maestría. Facultad de Ciencias. UNAM. México.
- Ganders E. R. y H. Kennedy. 1978. Gynodioecy in *Mammillaria dioica* (Cactaceae). *Madroño* 25: 234.
- García, E. 1973. *Modificaciones al sistema de clasificación climática de Koeppen*. 2a. ed. Instituto de Geografía, Universidad Nacional Autónoma de México. México, D.F.
- Geber M. A., T. E. Dawson y L. F. Delph. 1999. *Gender and sexual dimorphism in flowering plants*. Springer-Verlag Berlin Heidelberg. Alemania.
- Hernández, G. y E. García. 1991. Anatomía comparada de óvulos y semillas de dos especies del género *Mammillaria* (Cactaceae). *Boletín de la Sociedad Botánica de México* 51: 25-38.
- Hoffman M. T. 1992. Functional dioecy in *Echinocereus coccineus* (Cactaceae): breeding system, sex ratios and geographic range of floral dimorphism. *American Journal of Botany* 79: 1382-1388.
- Hunt D. R. (Comp.). 1999. *CITES Cactaceae Checklist*. Royal Botanic Gardens Kew and International Organization for Succulent Plant Study. Londres.
- Jiménez K. 2002. Embriología de *Pereskia lychnidiflora* (De Candolle, 1828) Cactaceae. Tesis de Licenciatura. Facultad de Ciencias, UNAM. México.
- Johri B. M., K. B. Ambegaokar y P. S. Srivastava. 1992. *Comparative embryology of angiosperms*. Vol 1. Springer - Verlag Berlin Heidelberg. Germany. 614 pp.

- Kaul M. 1988. Male Sterility in higher plants. *Monographs on Theoretical and Applied genetics*. Vol. 10. Springer- Verlag. Berlin.
- Kimnach M. 1982. *Selenicereus innesii*, an aberrant new species from the West Indies. *Cactus and Succulent Journal* **54**: 3-7.
- Lebel-Hardenack S. y S. Grant. 1997. Genetics of sex determination in flowering plants. *Trends in Plant Science* **2**:130-13.
- León de la Luz, R. Coria y M. Cruz. 1996. Fenología floral de una comunidad árido-tropical de Baja California Sur, México. *Acta Botánica Mexicana* **35**: 45-64.
- Leuenberger B. E. 1986. *Pereskia* (Cactaceae). *Memoirs of the New York Botanical Garden* **41**: 141.
- Lewis D. 1942. The evolution of sex in flowering plants. *Biological Reviews* **17**: 46-67.
- Lindsay G. y E. Y. Dawson. 1952. Mammillarias of the Islands of Northwestern Baja California, México. *Cactus and Succulent Journal* **24**: 76-84.
- Liston A., L. Rieseberg y T. Elias. 1990. Functional androdioecy in the flowering plant *Datisca glomerata*. *Nature* **334**: 641-642.
- López M., J. Márquez y G. Murguía. 2005. Técnicas para el estudio del desarrollo en angiospermas. Las prensas de Ciencias. Facultad de Ciencias. UNAM.
- Mackenzie S. A. 1991. Identification of a sterility-inducing cytoplasm in a fertile accession line of *Phaseolus vulgaris* L. *Genetics* **127**: 411- 416.
- Mitchell C. y P. Diggle. 2005. The evolution of unisexual flowers: morphological and functional convergent results from diverse developmental transitions. *American Journal of Botany* **92** (7): 1068-1076.
- Núñez C. 2004. Cactáceas columnares de México: estudio embriológico comparativo de cinco especies de la tribu Pachycereae. Tesis de Doctorado. Facultad de Ciencias. UNAM, México.
- Orozco G. 2002. Sistema reproductivo de *Opuntia stenopetala* Engelman (Cactaceae). Tesis de Licenciatura. Facultad de Ciencias. UNAM. México.
- Orozco G. 2005. Clonación de *TSL* en *STY* en *Opuntia stenopetala*. Dos genes asociados al desarrollo del estilo y estigma. Tesis de Maestría. Facultad de Ciencias. UNAM. México.
- Panel J. 2002. The evolution and maintenance of androdioecy. *Annual Review of Ecology and Systematics* **33**:397-425.
- Parada D. 2004. Estudio comparativo de las estructuras reproductoras de *Mammillaria san-angelensis* Sánchez Mejorada y *Mammillaria haageana* Pfeiffer (Cactaceae). Tesis de Licenciatura. Facultad de Ciencias. UNAM. México.
- Parfitt B. D. 1985. Dioecy in North American Cactaceae: a review. *SIDA* **11** (2): 200-206.
- Rebman J. 1998. A new cholla (Cactaceae) from Baja California, México. *Haseltonia* **6**: 17-21.

- Sanders P. M., A. Q. Bui, K. Weterings, K. N. McIntire, Y-C. Hsu, P. Y. Lee, M. T. Troung, T. P. Beals y R. B Golberg. 1999. Anther developmental defects in *Arabidopsis thaliana* male-sterile mutants. *Sexual Plant Reproduction* **11**: 297-322.
- Strittmatter L. I., V. Negrón-Ortíz y R. J. Hickey. 2002. Subdioecy in *Consolea spinosissima* (Cactaceae): breeding system and embryological studies. *American Journal of Botany* **89**: 1373-1387.
- Valiente-Banuet A., A. Rojas, M. del Coro y P. Dávila. 1997. Pollination biology of two columnar cacti (*Neobuxbaumia mezcalaensis* and *Neobuxbaumia macrocephala*) in Tehuacan Valley, Central Mexico. *American Journal of Botany* **84**:452-455.

Software citado

- Macrovision Corporation. 2005. Google Eart, version 4.0.2091 (Beta).