

1 9 8 9

082071261

**UNIVERSIDAD DE GUADALAJARA**

**FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS**



“DIFERENCIACION DE LOS GAMETOFITOS MASCULINO Y FEMENINO EN PITAYO (*Stenocereus queretaroensis* (Weber.) Buxbaum) Y SU RELACION CON ASPECTOS EVOLUTIVOS”

**TESIS PROFESIONAL**

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE

LICENCIADO EN BIOLOGIA

P R E S E N T A

MARIA MAGDALENA ORTEGA CARRILLO

GUADALAJARA, JALISCO. 1993

#### AGRADECIMIENTOS:

A el Dr. Pimienta Barrios mi más profundo agradecimiento y respeto por su apoyo y magnífica asesoría brindada en todo momento en la dirección y escritura del presente trabajo.

Se agradece el apoyo financiero al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología y al Departamento de Investigación Científica y Superación Académica de la Universidad de Guadalajara al haber permitido la realización del proyecto "Domesticación del Pitayo" (D 112-904072).

A mis compañeras y amigas del Laboratorio de Fisiología y Anatomía Vegetal de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad de Guadalajara, en especial a mi compañera "Marce" por su valiosa colaboración y amistad, Aida y Ceci por su apoyo incondicional. También a Lucy, Sofia, Susanita, Jesica y Celia por haber hecho agradable mi estancia en el laboratorio al ser compañeras de trabajo ejemplares.

A la Bióloga Blanca catalina Ramírez de Robles por la revisión ortográfica y de redacción.

A mis sinodales: Biol. Miguel Angel Macias, M. C. Rafael Guzmán y al M.C. Martín Tena Meza, por su oportuna y asertada revisión

A la Q.F.B. Noemí Jiménez Reyes del Laboratorio de Palinología del Instituto de Botánica de la U de G. por las facilidades otorgadas en la toma de fotografías.

Al Ing. Miguel de Santiago Ramírez por su colaboración en la elaboración de las figuras.

A DIOS por darme la oportunidad de vivir esta experiencia .

A mis hermanos a quienes agradezco su ayuda y comprensión, aún a los que no están físicamente cerca de mí pero sí su corazón.

A la Sra. Georgina De la Vega por ser una persona maravillosa ya que sus palabras y su gran presencia siempre me acompañan.

A mis amigos que en todo momento me apoyaron y estuvieron cuando los necesite gracias...

**CONTENIDO.****PAG.**

1. INTRODUCCION	1
2. HIPOTESIS	3
3. OBJETIVOS	4
4. REVISION DE LITERATURA	5
4.1. Descripción de <i>Stenocereus queretaroensis</i> .	5
4.1.1. Descripción de la variedad hortícola "Mamey".	6
4.1.2. Clasificación taxonómica.	7
4.2. La Flor	8
4.3. Estructura y Desarrollo del Megasporangio y el Gametofito Femenino.	9
4.4. Estructura y Desarrollo del Microsporangio y el Gametofito Masculino.	21
4.5. Fase Progámica en Angiospermas.	27
4.6. Fecundación.	31
4.7. Aspectos Embriológicos Relacionados con Evolución.	32
5. MATERIALES Y METODOS	34
5.1. Descripción del Area de Estudio.	34
5.2. Material Vegetativo.	34
5.3. Toma de Muestras.	35
5.4. Estudio Anatómico de los Esporangios y Gametofitos	37
5.5. Identificación Histoquímica de Almidón y Lípidos en el Gametofito Masculino.	38
5.6. Interpretación y Análisis de los Resultados.	38
6. RESULTADOS Y DISCUSION	40
7. CONCLUSIONES	53
8. LITERATURA CITADA	54

INDICE DE FIGURAS	PAG.
Figura 1. Estadios de diferenciación de yemas florales y frutos de <i>Stenocereus queretaroensis</i> .	36
Figura 2. Esquema de los diferentes tipos de óvulos en angiospermas.	11
Figura 3. Representación esquemática de un óvulo tenuinucleado y de un óvulo crasinucleado.	14
Figura 4. Desarrollo de un óvulo en angiospermas, desde el inicio de formación del megasporocito, hasta el saco embrional.	17
Figura 5. Representación esquemática de los diferentes tipos de gametófito femenino en angiospermas.	18
Figura 6. Sección transversal en anteras de <i>Lilium</i> .	23
Figura 7. Origen y desarrollo del microsporangio en el estambre de <i>Vinca rosea</i> y desarrollo del gametófito masculino en angiospermas.	24
Figura 8. a) Megáspora funcional rodeada por una cavidad lisógena formada por la nucela. b) División de la megáspora nuclear. c) Óvulo mostrando la condición octanucleada. d) Óvulo maduro mostrando parte del aparato huevo.	44

- Figura 9.a) Células sinérgidas con núcleos y protoplasmas densos y hacia la célula central glóbulos de almidón.
- b) Célula huevo con prominente núcleo.
- c) Penetración porogámica del tubo polínico.

47

- Figura 10.a) Componentes de la pared del microsporangio.
- b) Tétrade de tipo isobilateral.
- c) Microspora mostrando núcleos prominentes de la célula vegetativa y vestigios de tapete.

50

Cuadro 1. Características florales y embriológicas  
relacionadas con aspectos evolutivos de  
angiospermas.



## 1. INTRODUCCION

En los estados de la región occidental de México se encuentran diversas especies de la familia Cactaceae, que producen frutos comestibles, conocidos vulgarmente como "pitayas" (Gates, 1957; Gates, 1958; UNAM, anónimo, 1989; Gibson, 1990).

En los estados de Jalisco, Michoacán, Guanajuato y Querétaro la especie más importante es *Stenocereus queretaroensis*, la cual se encuentra en condición silvestre y cultivada (Bravo, 1978b; Gibson, 1990). Estudios preliminares han revelado que ambos tipos de poblaciones de *Stenocereus queretaroensis* presentan una amplia variación de atributos fenológicos variables (periodos de floración y maduración de frutos), así como en la forma y el color de los frutos (Lomeli y Pimienta 1993 ; Salcedo y Arreola, 1991). En el estado de Jalisco, particularmente en los municipios de Chapala, Cd. Guzmán, Sayula, Autlán, Atoyac, Techaluta, San Martín de Bolaños y en cañadas aledañas a Guadalajara, es donde se localiza la mayor variabilidad de *Stenocereus queretaroensis* (Arreola, 1990).

Este trabajo forma parte de un proyecto de investigación en pitayo orientado a evaluar esta variación a través de un estudio biosistemático, en el cual se pretende estudiar aspectos de genética, embriología, anatomía, ecología y evolución (Vovides, 1966). En este trabajo se planea llevar a cabo la

caracterización embriológica de *Stenocereus queretaroensis*, a través de la observación y descripción de la fase haploide de los gametófitos masculino (grano de polen) y femenino (saco embrional). Estas observaciones se utilizarán para establecer embriológicamente a *Stenocereus queretaroensis* en una escala evolutiva determinada, utilizando conceptos modernos descritos por Grayum (1991).

## 2. HIPOTESIS.

El estudio y descripción histológica e histoquímica de los gametófitos (femenino y masculino) y de los esporangios (microesporangio y megasporangio) de *Stenocereus queretaroensis*, permitirá situar a esta especie en una escala evolutiva.

### 3. OBJETIVOS.

1. Describir el desarrollo histológico de los gametófitos masculino y femenino.
2. Describir el desarrollo anatómico del microsporangio y megasporangio en *Stenocereus queretaroensis*
3. Determinar el grado evolutivo de *Stenocereus queretaroensis* tomando como base atributos histológicos e histoquímicos, que se presentan durante la diferenciación de los esporangios y gametófitos masculino y femenino.

#### 4. REVISION DE LITERATURA.

##### 4.1. Descripción de *Stenocereus queretaroensis*.

La planta es arborescente, candelabriforme, con tronco bien definido, de cinco a seis m de alto o más, tronco leñoso como de un m de alto y tres cm de diámetro o más, de color verde y a veces con tinto rojizo, (Bravo, 1978). El conjunto de ramas forma una copa muy amplia, a veces como de cuatro m de diámetro. Costillas prominentes de seis a 8 cm separadas en amplios intervalos. Aréolas distantes entre sí como de un cm con fieltro color café oscuro, casi negro y glandulosas. Posee de seis a 9 espinas radiales, como de tres cm de largo, las inferiores como de 3 cm de largo, gruesas aciculares y desiguales. Espinas centrales de 2 a 4, gruesas como de 4 cm de largo. Flores a los lados de las ramas pero hacia la extremidad, infundibuliforme, de 10 a 12 cm de largo (Sanchez, 1984).

Su estructura floral aparenta ser uniforme, con periantio simple. Contiene un ovario unilocular con estilo simple, presenta una zona pedicelar corta, la pericarpelar es proporcional al tamaño del ovario y la receptacular se alarga hacia arriba adquiriendo forma de campana o tubo, desarrollándose en su cara interna los estambres y en la externa los órganos foliares, las flores abundan en el cuarto superior del brazo (aproximadamente los primeros 25 cm del ápice de la base) y son de color blanco. Los estambres son abundantes,

presentan cámara nectarial, los óvulos son numerosos, las anteras de color crema y el estilo son de la misma longitud que el tubo y al mismo nivel de los estambres (Bravo, 1978).

La base floral es de color verdoso, su pericarpelo es de forma casi globosa u oblonga y es triangular, con láminas rojizas de dos a tres mm de longitud (Gibson, 1990).

El fruto es globoso y hasta ovoide como de seis cm de largo. Aréolas con lana amarillenta y numerosas espinas largas del mismo color que se desprenden cuando el fruto ya está maduro (Bravo, 1978). La cáscara o pericarpio es más o menos delgado y generalmente suave, de pulpa jugosa y muy azucarada; generalmente de color rojo purpúreo, pero puede ser blanca con tintes más o menos rosados o amarillentos, rara vez verdosos, contiene numerosas semillas generalmente pequeñas, de forma periforme de colores negras o castaño oscuras (Sánchez, 1984).

*Stenocereus queretaroensis* se caracteriza por sus aréolas oscuras. Es cultivado por su fruto comestible, que es conocido con el nombre de "pitayo de querétaro".

#### 4.1.1. Descripción de la variedad hortícola "Mamey".

Las plantas representativas de esta variedad presentan brazos robustos de 16-20 cm de diámetro; generalmente con sólo tres espinas centrales, en

ocasiones cinco radiales y una central de características aciculares, negras y caducas; aréolas prominentes, de morenas a oscuras. La flor es muy larga de 12-14 cm de longitud y el fruto es muy grande casi siempre mayor de 8 cm de diámetro, de forma obovada, con pulpa de color rojo (Salcedo y Arreola, 1991).

#### 4.1.2. Clasificación taxonómica.

La familia Cactaceae comprende a las subfamilias Pereskioideae, Opuntioideae y Cereoideas (Bravo, 1978), aunque en las recientes clasificaciones Cereoideae se encuentra como Cactoideae (Sanchez, 1984). La clasificación taxonomica utilizada por Cronquist, 1978 de *Stenocereus queretaroensis* es:

Reino	Vegetal
Subreino	Embryobiontes
División	Magnoliophyta
Clase	Magnoliopsida
Orden	Cactales
Familia	Cactaceae
Subfamilia	Cactoideae
Tribu	Pachycereae
Subtribu	Stenocereiae
Género	<i>Stenocereus</i>
Especie	<i>queretaroensis</i>
Nombre común	"pitayo de queretaro"

1. The first part of the document is a list of names and addresses.

2. The second part of the document is a list of names and addresses.

3. The third part of the document is a list of names and addresses.

4. The fourth part of the document is a list of names and addresses.

5. The fifth part of the document is a list of names and addresses.

6. The sixth part of the document is a list of names and addresses.

7. The seventh part of the document is a list of names and addresses.

8. The eighth part of the document is a list of names and addresses.

9. The ninth part of the document is a list of names and addresses.

10. The tenth part of the document is a list of names and addresses.

11. The eleventh part of the document is a list of names and addresses.

12. The twelfth part of the document is a list of names and addresses.

13. The thirteenth part of the document is a list of names and addresses.

14. The fourteenth part of the document is a list of names and addresses.

15. The fifteenth part of the document is a list of names and addresses.

16. The sixteenth part of the document is a list of names and addresses.

17. The seventeenth part of the document is a list of names and addresses.

18. The eighteenth part of the document is a list of names and addresses.

19. The nineteenth part of the document is a list of names and addresses.

20. The twentieth part of the document is a list of names and addresses.

21. The twenty-first part of the document is a list of names and addresses.

22. The twenty-second part of the document is a list of names and addresses.

23. The twenty-third part of the document is a list of names and addresses.

24. The twenty-fourth part of the document is a list of names and addresses.

25. The twenty-fifth part of the document is a list of names and addresses.

26. The twenty-sixth part of the document is a list of names and addresses.

27. The twenty-seventh part of the document is a list of names and addresses.

28. The twenty-eighth part of the document is a list of names and addresses.

29. The twenty-ninth part of the document is a list of names and addresses.

30. The thirtieth part of the document is a list of names and addresses.



#### 4.2. La Flor.

La estructura de la flor facilita los procesos importantes de la diferenciación, maduración y singamia de los gametos masculinos y femeninos (Células reproductivas haploides) (Rost et al. 1985).

Una flor típica tiene cuatro clases de hojas modificadas sépalos, pétalos, estambres (androceo) y carpelos (gineceo); que se encuentran adheridos al receptáculo. Los sépalos forman las hojas florales más externas y generalmente son de color verde además cubren y protegen las partes internas de la flor. Al conjunto de sépalos se le denomina cáliz.

Los pétalos son la segunda clase de hojas florales, de colores llamativos, lo cual les sirve para atraer a los insectos o aves para facilitar la polinización; los pétalos generalmente se presentan en igual número que los sépalos y también están dispuestos en un espiral cerrado que parecen formar un círculo. Los pétalos se encuentran adheridos más hacia el centro de la flor. Al conjunto de pétalos se le denomina corola (Cronquist, 1987).

El androceo es la estructura masculina de la flor que generalmente está formada por estambres que se componen de un filamento y una antera que en su interior desarrolla los gametos masculinos.

El gineceo puede estar compuesto de un carpelo (Pistilo simple) o varios individuales que pueden estar fusionados (flor sincárpica) ó libres (Foster y Gifford,

1974; Esau, 1976), entre los que se encuentra el ovario, que es una parte basal fértil (Esau, 1976) formada de parénquima y tejido vascular, en la epidermis posee una superficie externa cutinizada (Dormis, 1961 citado por Esau, 1976); su forma es la de una porción filamentosa que une al óvulo con el estigma (Ting, 1982).

Las distintas partes que constituyen a la flor se encuentran colocadas a varios niveles; cuando el gineceo se sitúa en el receptáculo floral por encima de los puntos de origen del periantio y del androceo, se dice que es un ovario súpero y cuando se sitúa por debajo de los puntos de unión aparentes de las partes del periantio y los estambres, es un ovario infero (Rost *et al.* 1985).

#### 4.3. Estructura y Desarrollo del Megasporangio y el Gametófito femenino.

El primordio ovular se origina a través de la placenta como protuberancia cónica en un ápice redondeado (Esau, 1976). El óvulo es integrado con la pared del ovario, a través de la placenta que es un tejido especial, y es designada como parietal, axilar y central. Es parietal cuando las placentas se localizan sobre la pared del ovario, en el caso de la placentación axilar las placentas se forman en el eje del ovario, el cual tiene varios lóculos. Por último mencionamos a la placentación central, que es menos frecuente, caracterizándose porque los óvulos se sitúan en el eje de un ovario con un sólo lóculo (Rost *et al.* 1985).

El óvulo ha sido clasificado dependiendo de su posición, tomando en cuenta lo revestido del micrópilo con el punto de unión del funículo (Foster y Gifford, 1974). Los tipos más comunes de óvulos son: ortótropo, anátropo, circinótropo, anfitrópo, campilótropo y hemianátropo los cuales se describen a continuación apoyándose en las descripciones de Archibald (1939); Flores (1973); Foster y Gifford (1974).

Los óvulo de tipo ortótropo y anátropo son considerados como los tipos básicos. El primero es erecto y desprovisto de curvatura, por consecuencia la cálaza y el micrópilo distal son observados en forma recta. El tipo anátropo, que es el más común en las angiospermas, es invertido en su posición como resultado de una curvatura del funículo de aproximadamente  $180^\circ$ , de tal manera que el eje longitudinal de la nucela es paralelo a el eje funicular, quedando finalmente el micrópilo apuntando hacia la placenta. En el óvulo hemianátropo, el grado de curvatura es intermedio entre el óvulo ortótropo y el anátropo. El óvulo campilótropo presenta curvatura de los tegumentos y de la nucela y el micrópilo es dirigido hacia la base del funículo. El óvulo anfitropo, se caracteriza por presentar curvatura muy grande, lo cual provoca que el óvulo tome una forma arrifionada; finalmente el óvulo circinótropo, que es el más frecuente en *Opuntia* sp., se caracteriza porque el funículo envuelve al óvulo en forma espiral, debido a que da un giro y medio alrededor de éste. Esto da origen a la

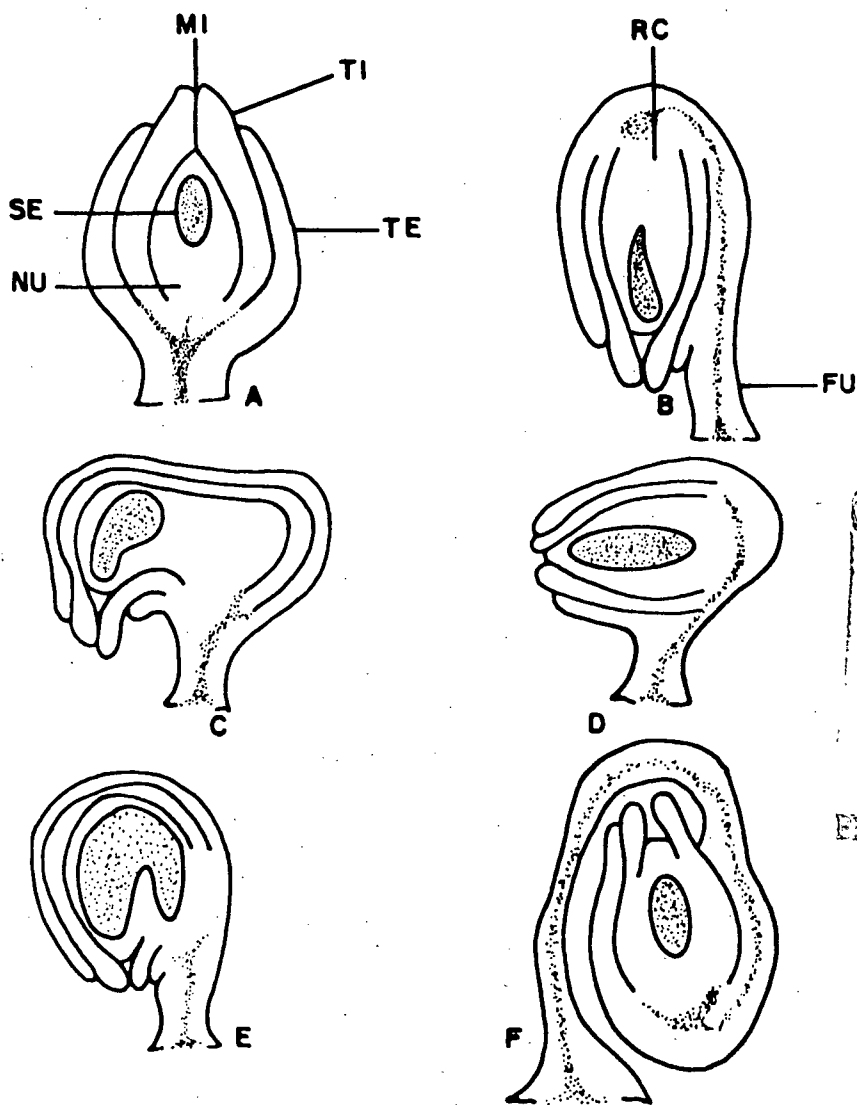


FIGURA 2. Esquema de diferentes tipos de óvulos de angiospermas. A, Ortótropo; B, Anátropo; C, Campilótropo; D, Hemianátropo; E, Anfítropo; Sporne, (1974) citado por Foster y Gifford (1974). F, Circinótropo (Archivald, 1974). Te, tegumento externo; TI, tegumento interno; MI, micrópilo; Nu, nucela; SE, saco embrional; Fu, funículo; RC, región calazal.

cobertura funicular, que posteriormente contribuye a la formación de la porción comestible del fruto (Pimienta y Engleman, 1985) (Figuras 2A-F).

El óvulo es el lugar de formación de las megásporas y el desarrollo del saco embrional a partir de una megáspora que se diferencia de la nucela que es un cuerpo central formado de células vegetativas y esporógenas (Esau, 1976) que convierten el rico plasma (Kapil y Vasil, 1963) y hacen de las células nucelares potenciales megasporocitos (Foster y Gifford, 1974).

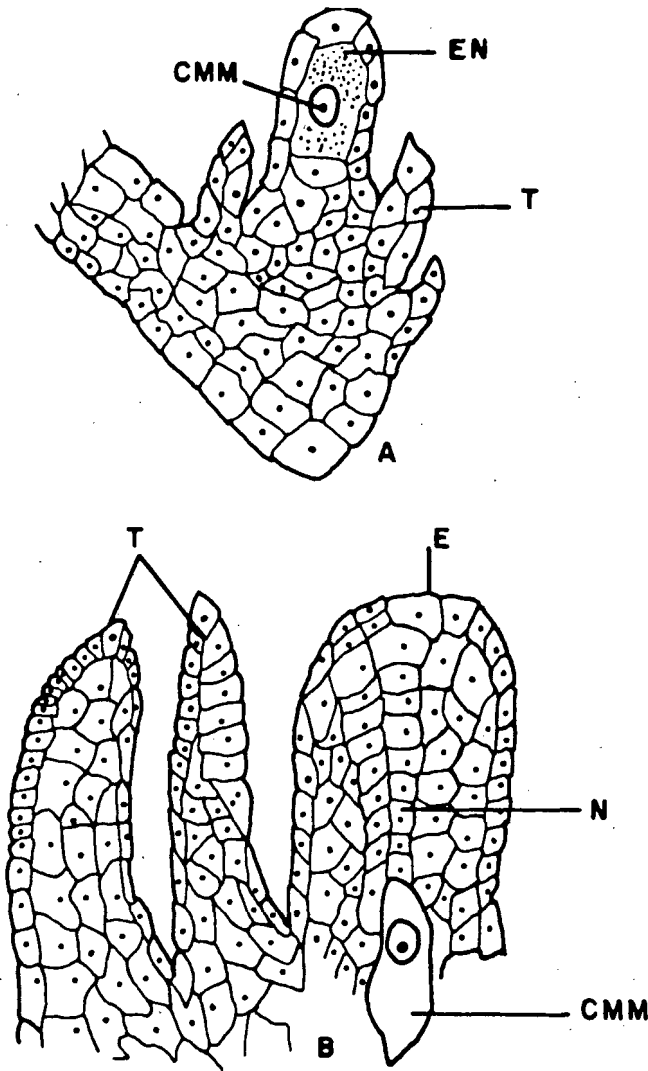
Por lo común únicamente un megasporocito funcional se diferencia en el óvulo y su posición final está correlacionada con el tamaño y la organización celular de la nucela. Los términos tenuinucelado y crasinucelado, son empleados para designar dos tipos contrastantes de organización nucelar. El tipo tenuinucelado se caracteriza porque el megasporocito se origina directamente de una célula hipodermal localizada en la región apical de la nucela, la cual consiste de una capa epidermal y pocas células internas no esporógenas; por otro lado el tipo crasinucelado, que se caracteriza por una mayor o menor predominancia hipodérmica inicial, la que inicialmente se divide periclinalmente en una célula parietal externa y en una célula esporógena interna que posteriormente funciona como el megasporocito, mientras las células parietales por medio de posteriores divisiones forman muchas capas de células, que de forma indirecta dan origen al megasporocito que por último se

observa embebido dentro de un tipo masivo de nucela (Figuras 3A, B).

La estructura que une a la placenta con el óvulo es el funículo que consiste de una conexión libre de células parenquimatosas, atravesada en el centro por un cordón vascular que se extiende hasta la región de la cálaza y en algunos casos penetra los tegumentos (Kapil y Vasil, 1963; Jhori y Bhatnagar, 1973; Cronquist, 1987).

De las células externas de la cúpula del óvulo se desarrollan los tegumentos en una o dos capas, cuya función principal es la de proteger el gametófito femenino (Rost *et al.* 1985). El número de tegumentos varía, siendo esta variación una característica de óvulos de un mismo género, familia u orden (Maheshwari, 1950 citado por Kapil y Vasil, 1963).

En gimnospermas los óvulos son unitegmentados (un solo tegumento) y en angiospermas la situación es variable pero la mayoría de las familias presentan óvulos bitegmentados (dos tegumentos) que resultan del desarrollo de primordios independientes (Kelkal, 1958a, b citado por Kapil y Vasil, 1963) que se inician por divisiones periclinales en la epidermis, cuando el saco embrional inicia su diferenciación. Su desarrollo posterior delimita la nucela (Esau, 1977). Existen patrones comunes de venación en los tegumentos de angiospermas. La presencia de venas vascularizadas en los tegumentos puede ser de significancia fisiológica durante el proceso de maduración del óvulo en la semilla. En un



**FIGURA 3.** Representación esquemática de un óvulo tenuinucelado A) y de un óvulo crasinucelado B) mostrando la célula madre de la megáspora (CMM), la cual en el caso primero se encuentra debajo de la epidermis nucelar (EN) y en el segundo caso esta profundamente inmersa en la nucela (N). T, tegumentos; E, epidermis (Adaptado por Foster y Gifford, 1974).

óvulo bitegumentado la vascularidad es restringida sólo a los tegumentos externos y en muy pocos casos se ha observado vascularización en los dos tegumentos (e.g. *Ricinus*, *Jatropha*, *Delechampia*, *Aleuritres*) (Foster y Gifford, 1974).

La cálaza es la región donde convergen los tegumentos y el funículo con el eje de la nucela (Tiagi, 1954; Engleman, 1960). Esta región no está claramente definida y es difícil establecer un límite de su extensión en el megasporangio (Esau, 1977); aunque la presencia de células con taninos y cutículas nucelares y calazales ayudan a distinguir a la cálaza por su forma cónica (Carrillo y Engleman, 1991) (Figura 2B).

En la ontogenia temprana del óvulo una o algunas células del ápice de la nucela alargada se vuelven diferentes en estructura y reacciones de tinción, estas células son potenciales megasporocitos. En cada uno de ellos puede producirse una tétrade de megásporas haploides (Foster y Gifford, 1974). Por regla general tres de esas células, las que se encuentran del lado del micrópilo degeneran y desaparecen, en tanto la más alejada aumenta de tamaño (Rost *et al.* 1985), produciendo un gametófito femenino mediante una serie de divisiones mitóticas (Cronquist, 1987).

Kapil y Bhatnagar (1981) citados por Haig (1990), mencionan que la megáspora funcional usualmente ocupa una posición ventajosa en el saco embrional al estar en contacto con el tejido nucelar, mientras que las



megásporas no funcionales están frecuentemente rodeadas por una pared de calosa, que bloquea el suministro de nutrimentos maternos, provocando con esto que las megásporas tengan un corto período de vida.

El gametófito femenino maduro en angiospermas es denominado saco embrional. El tipo más común es el polygonum que consta de ocho núcleos, aunque es importante mencionar que encontramos gran variabilidad de sacos embrionales (Cronquist, 1987) (Figura 5). En el tipo polygonum, la megáspora orientada hacia la cálaza es la que da origen al saco embrional. Esta pasa por tres divisiones mitóticas transversales en forma sucesivas dando así origen a cuatro núcleos en la porción micrópilar y cuatro en la región de la cálaza. Uno de los núcleos de cada polo es orientado hacia el centro del saco embrional, de forma que quedan tres núcleos en cada polo y dos cerca del centro. Los tres núcleos localizados en la porción más alejada del micrópilo se diferencian como células antipodales; los núcleos que se localizan en el centro formarán la célula central o binucleada. Una de las células diferenciadas en el extremo micrópilar es el huevo (también llamada oosfera), las otras dos son las células sinérgidas (Diboll y Larson, 1986 y Cronquist, 1987) (Figura 4).

Con frecuencia es difícil diferenciar las células sinérgidas de la célula huevo, por lo que a este conjunto se le denomina aparato ovulífero (Buttrose y Sedgley, 1979; Rost et al. 1985). Las Sinérgidas presentan un alto

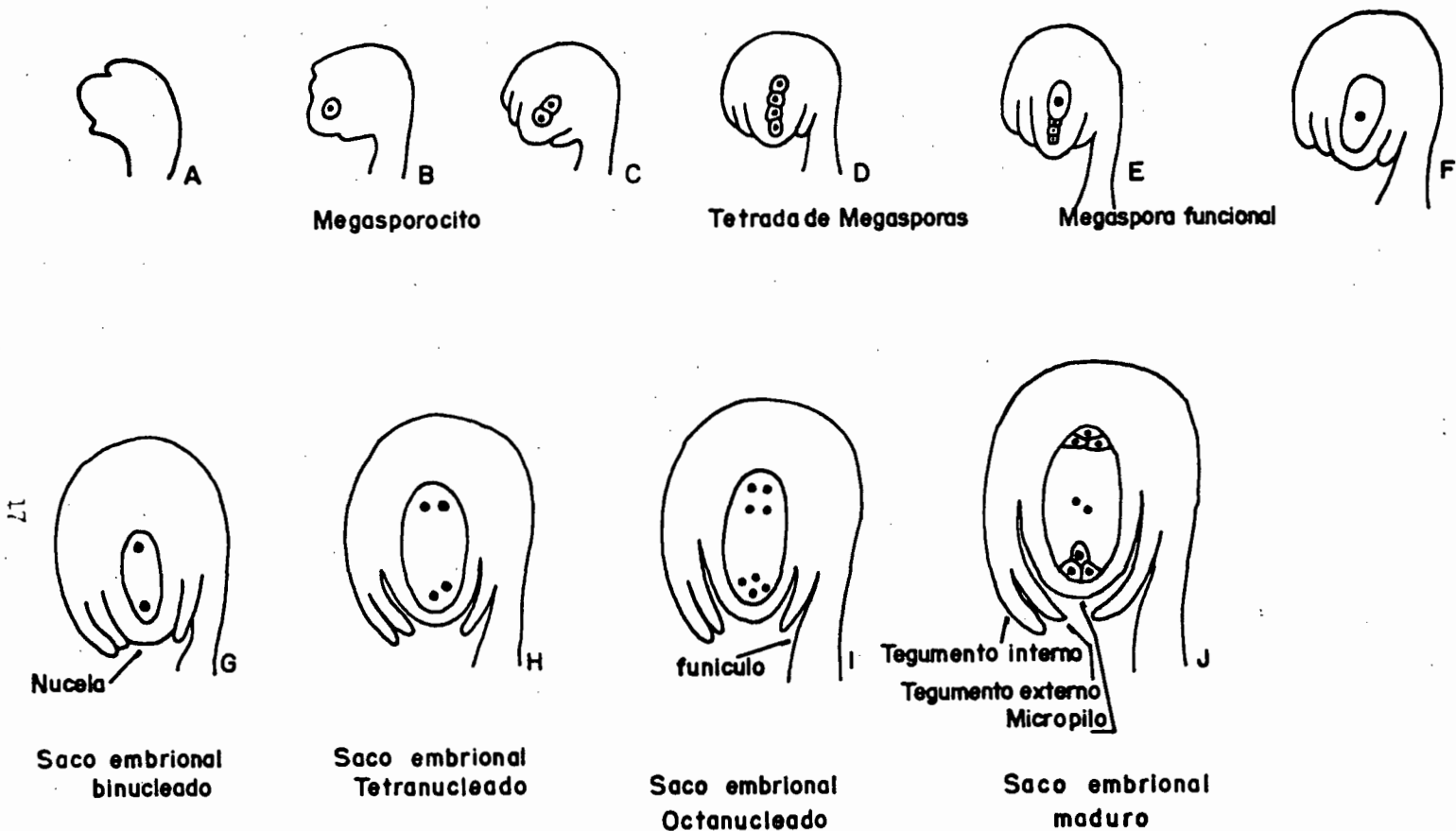
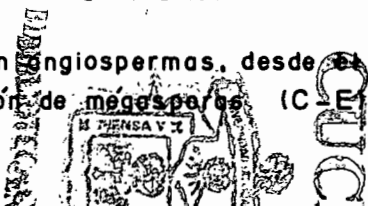


FIGURA 4. Desarrollo de un óvulo en angiospermas, desde el inicio de la formación de tegumen-  
tos y un megasporocito (A,B), formación de megasporas (C-E) y los sucesivos estadios en desa-  
rrollo del saco embrional (F-J).



TIPO	MEGASPOROGENESIS			MEGAGAMETOGENESIS			
	CMM	DIV. I	DIV. II	DIV. III	DIV. IV	DIV. V	GFM
Polygonum							
Oenothera							
Allium							
Peperomia							
Pennisetum							
Drusa							
Fritillaria							
Plumbago							
Plumbago							
Adoxa							

FIGURA 5. Representación esquemática de los diferentes tipos de gametófito femenino en angiospermas. CMM, célula madre de las megásporas; GFM, gametófito femenino maduro (Maheshwari, 1950 citado por Niembro, 1988).

grado de diferenciación y complejidad, además de presentar una alta actividad metabólica durante la formación del aparato filiforme. Del lado del micrópilo estas células tienden a ser estrechamente triangulares y su apariencia en algunos casos sugiere que están en un proceso de degeneración. Cada sinérgida es limitada por una membrana. Las paredes de estas células son espesas en la región de las sinérgidas, pero éstas se adelgazan en la región de la cálaza (Jensen, 1965; Esau, 1977).

Las sinérgidas son consideradas como células de transferencia ("transfer cells") y se les ha asignado funciones de absorción, almacenamiento y transporte, desde la nucela hasta el huevo o embrión y endospermo desarrollados. En algodón se ha observado que una de las dos sinérgidas muestra senescencia antes o al momento de la penetración del tubo polínico, lo cual se asocia con altos contenidos de polisacáridos insolubles, un nivel bajo de RNA y proteínas. La segunda sinérgida puede persistir por algunos días más (Jensen, 1965; Prasad 1987).

La célula huevo varía enormemente en tamaño y estructura, pero usualmente presenta una vacuola grande del lado del micrópilo (Esau, 1977). El citoplasma es escaso y se encuentra polarizado en el lado de la cálaza (Johri y Bhatnagar, 1973; Arbeloa y Herrero, 1991). La célula huevo tiene características importantes debido a la gran actividad que posee y a la presencia de una gran cantidad de cuerpos de golgi. Al fusionarse la célula

huevo con uno de los núcleos espermáticos del grano de polen da origen al cigoto y posteriormente al embrión (Niembro, 1988).

La célula central o célula binucleada posee dos largosnúcleos o un núcleo fusionado y una larga vacuola (Esau, 1977) y es localizada casi en la parte media del saco embrional (Rost *et al.* 1985). La fusión de los dos núcleos polares se efectúa poco antes de la fertilización, aunque esta fusión en algunas especies no se llega a efectuar (Newcomb, 1973). Posteriormente este núcleo diploide se fusionará con un núcleo espermático para dar origen a un núcleo triploide, a partir del cual se desarrollará el endospermo que tiene la función de nutrir al cigoto y al embrión durante su desarrollo y así contribuir a la formación de la semilla (Niembro, 1988; Haig, 1990).

La alta proporción del metabolismo de la célula central indudablemente está relacionada con la importancia nutricional y su preparación para el desarrollo del endospermo (Newcomb, 1973).

Los núcleos localizados en el extremo más alejado del micrópilo del saco embrional forman a las células denominadas antipodas (Rost *et al.* 1985). Estas células generalmente son interpretadas como vestigios evolutivos del gameto femenino (Buttrose y Sedgley, 1979 y Cronquist, 1987). Estos mismos autores mencionan que las células antipodales se desintegran y colapsan al momento de la fertilización y las describen como efímeras.

#### 4.4. Estructura y Desarrollo del Microsporangio y el Gametófito Masculino.

Los estambres son las estructuras masculinas esenciales para la reproducción sexual de la planta (Rost *et al.* 1985). Son en esencia un microsporofilo de las angiospermas y los sacos polínicos son los microsporangios (Cronquist, 1987).

El tipo común de estambre se encuentra provisto de una vena que se une por el extremo superior a una antera que puede ser bilobulada o tetralobulada (Esau, 1976).

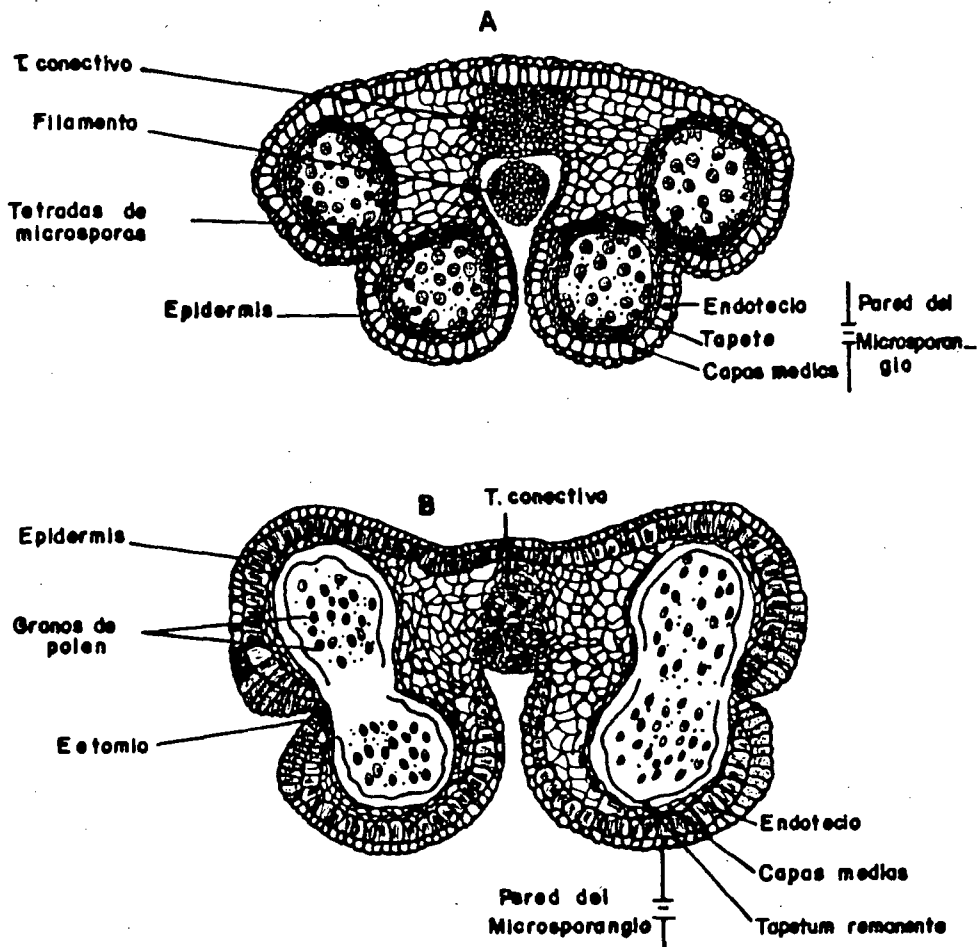
Una masa de células indiferenciadas en la pared de la antera se transforma en un cuerpo tetralobulado, en el que algunas células hipodérmicas se diferencian por ser más prominentes y con núcleos más conspicuos. Estas son las células arquesporales y que a través de divisiones mitóticas dan origen a varias células esporógenas que desarrollarán posteriormente los gametófitos masculinos (Niembro, 1988).

En estadios tempranos existen conexiones entre los microsporocito que desaparecen al empezar la formación de tétrades, debido a que cada microspora es rodeada por una pared de calosa al iniciarse la meiosis (Esau, 1977). Esta pared de calosa funciona como un filtro molecular, que permite el paso de nutrimentos y bloquea la penetración de moléculas que le pudieran causar daños (Southworth, 1971). Este intercambio de nutrimentos se realiza entre las células tapetales y la microspora en desarrollo (Echlin, 1971) (Figura 6).

Antes de la primera división mitótica el núcleo de la microspora haploide se desplaza hacia la periferia donde se divide formando dos células diferentes; una célula generativa muy pequeña situada cerca de la pared de la espora que después de su formación se desplaza fuera de su posición y toma una forma elipsoidal y una célula vegetativa de mayor tamaño que yace libre en el citoplasma. Cuando el grano de polen es liberado de la antera, el microsporocito está en la etapa bicelular y la división de la célula vegetativa se efectúa durante el desarrollo del tubo polínico. El número de núcleos encontrados en los granos de polen maduros tienen significado taxonómico, evolutivo y también está relacionado con ciertas características fisiológicas. Se ha encontrado que los granos de polen binucleados son menos avanzados que los trinucleados (Brewbaker, 1959). (Figura 7 F-K).

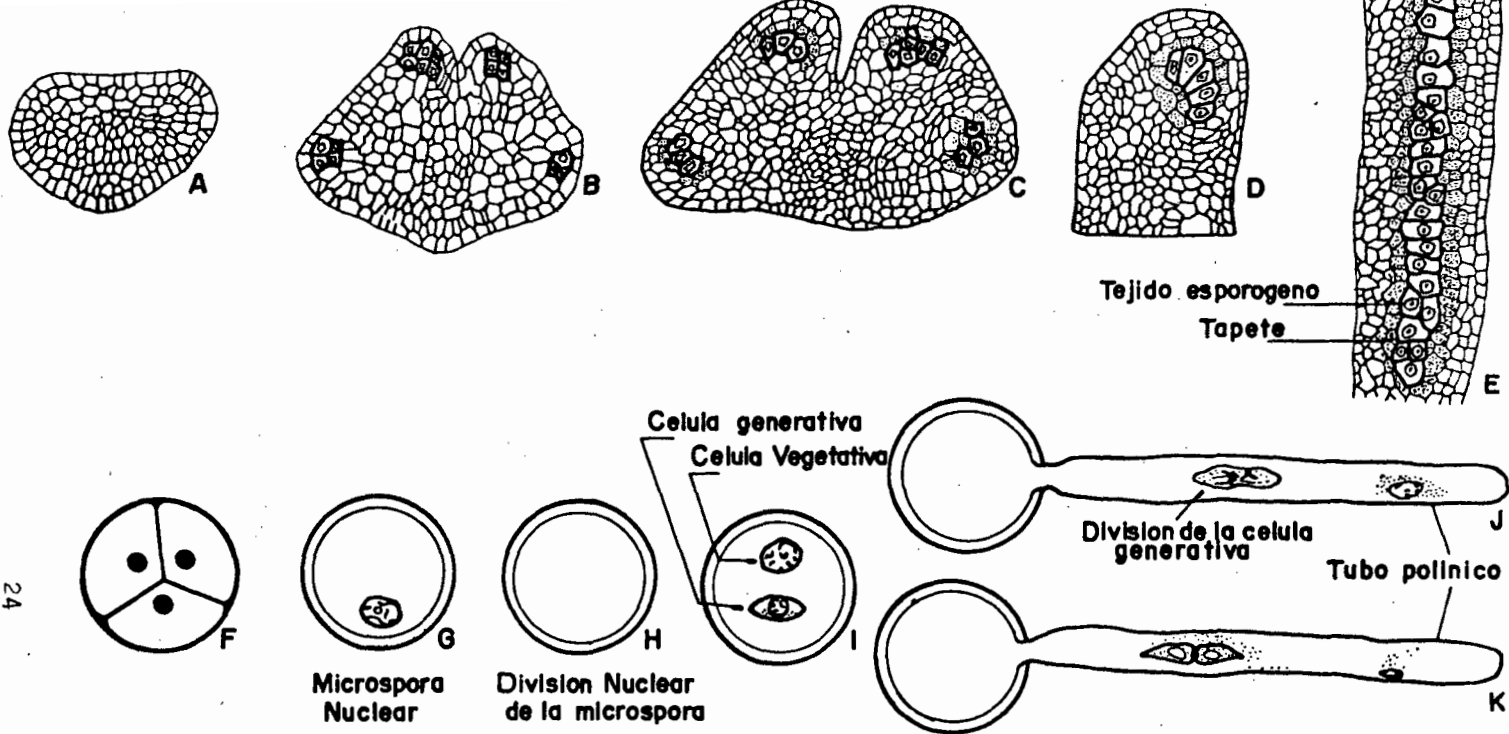
En torno al tejido esporógeno se diferencian diversas capas celulares, la más próxima al tejido esporógeno es el tapete, que es clasificado según el comportamiento de las células y principalmente en su periodo de vida, encontramos dos tipos de tapete: glandular o secretorio y periplasmoidal o ameboides (Foster y Gifford, 1974) (Figuras 6 y 7).

En el tapete glandular o secretorio, las células esporógenas se mantienen en su lugar de origen, pero conforme se van desarrollando, el tapete se desorganiza a la vez que se oblitera. Cuando las microsporas se dividen



**FIGURA 6.** Sección transversal en anteras de *Lilium*. A, antera con dos microsporangios maduros, que contienen microsporas tetraedales. B, Desarrollo tardío de la antera posterior a la dehiscencia. (Adaptado por Handbuch der Systematischen Botanik by R. Wettstein. Franz Deutike Leipzig u. wien, 1924, citado por Foster y Gifford (1974).





**FIGURA 7.** Origen y desarrollo del microsporangio en el estambre de *Vinca rosea*. A - D, Transeccion de sucesivos estadios en el desarrollo de la antera; Microsporangio mostrando el desarrollo de las capas' de la pared y un grupo de células esporongenas rodeadas por el tapete, que rodea el tejido esporogeno; F - K, Desarrollo del gametófito masculino en angiospermas.

meióticamente los núcleos tapetales son muy grandes y se muestran más delgados (Echlin, 1971). En general podemos mencionar que las capas tapetales son ricas en material crómico por la multiplicación de los cromosomas, pero no hay formación de más núcleos (Esau, 1976).

En el tapete periplasmodial o ameboide, la organización preliminar es la introducción de los protoplastos tapetales entre los granos de polen y finalmente forman el periplasmodio tapetal. Las células que forman el tapete almacenan diversas sustancias de reserva entre las que se encuentran enzimas, hormonas y material nutritivo utilizado durante el proceso de microsporogénesis (Foster y Gifford, 1974; Niembro, 1988).

A medida que se ha acumulado un mayor número de información sobre el tapete, la distinción entre estos dos tipos, parece menos clara (Kamelina 1983 citado por Rowley; Crabarayeva y Walles, 1992). Kramelina, resume que el tapete celular secretorio puede ser organizado de las siguientes formas. En un tapete ameboide, un tapete pseudoperiplasmodial o una reagrupación de células tapetales que retienen células claramente delimitadas.

Las Capas Parietales Intermedias que están próximas al tapete son un estrato celular intermedio que llega a comprimirse o destruirse completamente en forma sincronizada durante la maduración del polen y a la desintegración del tapete, de forma que el lóbulo de la antera queda bordeado exteriormente sólo por el endotecio

y la epidermis. El endotecio recibe este nombre por el característico engrosamiento en forma de lingotes o barras, también es denominado como "capa fibrosa", ya que asemeja ser una capa muy especializada que se relaciona a la dehiscencia de la antera. Conforme el estambre se acerca a la madurez sufre un engrosamiento que es variable y puede ser útil en estudios taxonómicos (Dormer, 1962; Foster y Gifford, 1974) (Figura 6).

Esau (1976) describe la dehiscencia como una abertura espontánea de la antera para permitir la liberación de los granos de polen. En la mayoría de las angiospermas la dehiscencia ocurre longitudinalmente a lo largo del estomio, que es una hilera situada a cada lado de la antera entre los dos esporangios. Al parecer la pared especializada donde se produce este fenómeno es el endotecio (Foster y Gifford, 1974).

Observando a la antera durante la dehiscencia o al momento de la liberación de los granos de polen en conjunto, se distingue éste como un polvo fino. El grano de polen presenta una pared celular engrosada, formada por dos envolturas que lo protegen: la intina y la exina, la primera se encuentra en contacto interno con el citoplasma de la microspora y la segunda en la parte externa. La morfología de la envoltura externa presenta una morfología peculiar, ya que posee surcos y poros de formas diversas (Bravo, 1978). Esta pared ornamentada, está formada de un material muy duro denominado esporopoleina (Rost *et al.* 1985; Niembro, 1988).

En las protuberancias y depresiones del grano de polen, se encuentran proteínas de reconocimiento celular, que ayudan a seleccionar el polen ajeno y propio de la flor, promoviendo o estimulando los procesos metabólicos que estimulan o inhiben la germinación del polen (Rost *et al.* 1985).

Los granos de polen contienen en su interior sustancias ergásticas, proteínas (enzimas), carbohidratos (almidón) y grasas que varían en proporción (Niembro, 1988).

Las condiciones ambientales afectan y no permiten que el fenómeno de la dehiscencia se efectúe normalmente y que tiene lugar cuando los tejidos que la constituyen pierden humedad lo que provoca la ruptura a lo largo del estomio (Bhotwani y Bhatnagar, 1979, citados por Niembro 1988).

#### 4.5 Fase Progámica en Angiospermas.

La fase progámica se refiere a acontecimientos reproductivos sexuales en angiospermas y que incluye los procesos que se inician desde el momento en que los granos de polen llegan al estigma y termina cuando el esperma fecunda a la célula huevo (Polyakov, 1964).

Los principales eventos que ocurren durante esta fase son los siguientes:

Después que ocurre la dehiscencia, los agentes vectores responsables de la transferencia de los granos de polen hacia el estigma, se agrupan en dos categorías principales: agentes abióticos, como las corrientes de aire, la gravedad y el agua, y agentes bióticos que incluye a los animales polinizadores (insectos, pájaros y murciélagos) (Foster y Gifford, 1974).

La viabilidad del grano de polen se ve afectada por factores genéticos y por la condición fisiológica de la planta, la viabilidad se reduce cuando éste proviene de árboles viejos, yemas florales, nutrición equilibrada y ploidía (Martínez-Zaporta, 1964). A la vez que también intervienen factores ambientales como temperaturas altas y bajas, sequías, fotoperíodos e intensidad de luz (Grigg et al. 1988); también hay enfermedades fungosas y virales que causan anomalías de la meiosis y como consecuencia disminuye la viabilidad (Pimienta, 1987).

El grano de polen germina en la superficie receptiva del estigma. Existen dos tipos de estigmas secos y húmedos (Foster y Gifford, 1974). El estigma húmedo excreta un exudado compuesto de agua, lípidos, fenoles, azúcares y minerales. Los lípidos protegen a los granos de polen de la desecación, los fenoles inhiben la germinación de esporas ajenas, agua y minerales son utilizados como substrato para la germinación (Kapil y Bhatnagar, 1975).

En algunas especies el tiempo de la dehiscencia no coincide con el de receptividad del estigma, aunque hay casos en los que sí se sincronizan, pero también, es importante considerar las condiciones ambientales que prevalecen y que afectan a la receptividad del estigma, entre los que sobresalen está la lluvia que por su acción directa, causa dilución en la secreción estigmática, también las temperaturas altas, vientos que provocan desecación del estigma (Williams, 1964).

La germinación del grano de polen, ocurre usualmente casi inmediatamente después que es colocado en la superficie del estigma, e inicia con la activación del metabolismo al incrementarse la actividad respiratoria, síntesis de proteínas y ARN. Estudios ultraestructurales de germinación de granos de polen revelaron que pocos minutos antes de la emergencia del tubo polínico, se observa activación de los cuerpos de golgi (dictiosomas) los cuales después liberan vesículas elongadas. El crecimiento del tubo polínico implica el movimiento de esas vesículas en la superficie del ápice del tubo y el contenido de estas contribuye en la formación de la pared del tubo polínico (Leopold y Kriedemann, 1975).

En angiospermas es característica la continuidad existente entre el tejido del estigma y el tejido de transmisión del estilo y la región del ovario. En algunas monocotiledoneas y algunos grupos de dicotiledoneas el tejido de transmisión está representado por una epidermis glandular que reviste el canal estilar (Foster y Gifford,

1974). El tubo polínico que emerge del grano de polen penetra inicialmente a través del estigma y del estilo con dirección al ovario. En aquellos estilos provistos de canal estilar, el tubo polínico avanza por encima de las células que forman la superficie estilar de dicho canal. En los estilos sólidos que carecen del canal estilar, el tubo polínico se abre paso a través de los espacios intercelulares debido tanto a la presión hidrostática de su continuidad, como a la secreción de sustancias enzimáticas que metabolizan y destruyen la lámina media (Maheshwari, 1950, citado por Niembro, 1988).

La temperatura que prevalece durante la floración, es un factor muy importante, para el desarrollo de los tubos polínicos (Mellenthin *et al.* 1972). Así como la tasa decrecimiento es mayor cuando crecen del estigma hacia la base del estilo que del micrópilo al óvulo (Pimienta *et al.* 1983).

La viabilidad de los óvulos es un factor importante en el asentamiento o amarre de frutos (Pimienta y Polito, 1983). La temperatura juega un papel importante en la viabilidad de los óvulos al igual que los granos de polen; aunque de manera contraria al desarrollo de los tubos polínicos ya que por lo general el desarrollo del tubo polínico se acelera al incrementarse las temperaturas, pero en el caso del óvulo las temperaturas altas reducen el período de viabilidad de los óvulos Thomson y Liu, 1973.

El número de óvulos también es variable, aunque esta variación está relacionada con estrategias de adaptación para ambientes favorables (Vasek y Weng, 1988).

Los periodos de longevidad de los óvulos varían de acuerdo a la especie, por ejemplo en almendro la longevidad de los óvulos puede prolongarse hasta 9 días después de la antesis (Pimienta y Polito, 1983); en manzano, se prolonga de 7 a 9 días en "flores débiles" y de 12 a 13 días en "flores vigorosas" (Williams, 1964).

#### 4.6 Fecundación.

Winsor *et al.* 1987 citado por Pimienta, 1990 menciona que la fecundación selectiva de óvulos en las angiospermas que resulta de la competencia de los microgametófitos, provoca que haya un menor desperdicio de recursos naturales en los procesos reproductivos sexuales, lo cual puede explicar la dominancia de angiospermas en la flora mundial.

Cuando los tubos polínicos alcanzan el ovario pueden entrar al óvulo por diferentes rutas. Lo más común es que entre por el micrópilo y empuje a través del tejido nucelar hasta alcanzar el aparato huevo en el saco embrional (penetración porogámica), cuando el ápice del tubo penetra por el lado de la cálaza en el óvulo (calazogamia), un tercer modo de penetración consiste en que el ápice del tubo polínico penetra lateralmente por los tegumentos del óvulo hasta alcanzar el aparato huevo (mesogamia) (Foster y Gifford, 1974) donde descarga dos



espermias, uno de ellos se une con la célula huevo para formar el cigoto y el segundo espermia se une con los dos núcleos polares de la célula central para formar el endospermo, estos eventos constituyen la doble fertilización. El gametófito femenino presenta cambios en su desarrollo ontogénico previo al arribo del tubo polínico (Jensen, 1973) ya que se observan cambios en una de las sinérgidas, que componen el aparato huevo, ésta presenta senescencia y posteriormente la penetración del tubo polínico, probablemente el fenómeno más difícil de ser explicado durante el proceso de fertilización, es el que hace posible la doble fecundación, debido a que los espermias no presentan flagelos para moverse libremente una vez liberados en las sinérgidas (Pimienta, 1990).

#### 4.7. Aspectos Embriológicos Relacionados con Evolución.

Grayum, (1991) Realizó una minuciosa recopilación de diversos estudios embriológicos en la familia *Araceae*, tomando en cuenta aspectos de los megasporangios, microsporangios, microsporogénesis y megasporogénesis, estructura nucelar, desarrollo embrional, analizándolos desde una estructura conceptual moderna. Las diversas características consideradas fueron polarizadas, diferenciando las características evolutivas primitivas de las avanzadas, apoyándose para ésto en verificaciones realizadas en fenómenos embriológicos de angiospermas, que en la actualidad exhiben significancia en la variación sistemática (Cuadro 1).

Cuadro 1. Características florales y embriológicas relacionadas con aspectos evolutivos de angiospermas<sup>1, 2, 3</sup>

CARACTERES	PRIMITIVO	AVANZADO
Posición del ovario	Súpero	Infero
Número de Microsporangios por antera	4	2
Grosor del endotecio	Presente	Ausente
Antera dehiscente	Extrorsa	Introrsa
Tipo de tétrades	Isobilateral	Tetraedral
Núcleos polares en antesis	II	III
Tipo de reserva de energía	Lípidos	Almidón
Tipo de tegumento	Bitegumentado	Unitegumentado
Operculo ovular	Ausente	Presente
Vascularidad ovular	Simple	Múltiple
Orientación del óvulo	Anátropo	Ortótropo
Semillas en frutos	Sarcotesta	Sin sarcotesta
Capa nucelar	Presente	Ausente
Tipo de óvulo	Crasinucelado	Tenuinucelado
Arquesporio ovular	Unicelular	2 + celular
Número de megásporas	Tétrades	Díadas
Megáspora funcional	Calazal	Micropilar
Tipo de saco embrional	Polygonum	Algún otro
División en cámara	Al inicio	Al inicio
Micrópilar	celular	libre nuclear
Células en la cámara de la cálaza	2-8	1
Endospermo en semilla	Presente	Ausente
Tipo de tapete	Glandular	Periplasmodial
Número de óvulos por ovario	Alto	bajo

<sup>1</sup>Grayum, 1991; <sup>2</sup>Niembro, 1988; <sup>3</sup>Foster y Gifford, 1974.

## 5. MATERIALES Y METODOS.

### 5.1. Descripción del Area de Estudio.

El presente estudio se llevó a cabo en una plantación comercial de pitayo (*S. queretaroensis*) que se encuentra en la localidad de Anoca, municipio de Techaluta de Montenegro, Jalisco, ubicado al norte de la región sur del estado a los 20° 05' 23'' de latitud norte y 103° 32' 43'' de longitud oeste, y a una altitud de 1348 msnm. el clima esta clasificado como (BS1 hw (w)), que se caracteriza por ser semicálido, semiseco en otoño y seco en invierno, sin cambio térmico invernal. El promedio de la temperatura mínima del mes más frío es de 21°C; la media máxima del mes más caliente es de 33°C y la temperatura media anual es superior a los 18°C. La precipitación pluvial es de 600 mm, con régimen de lluvias de junio agosto, aunque en algunos años se presentan lluvias invernales (Lomelí y Pimienta, 1993).

La mayor parte de la tierra tiene uso agrícola predominando los matorrales espinosos, plantas carnosas (Xerófitas) mezquite y pastizal. Se cultivan árboles frutales como el pitayo, membrillo, limón, lima, café, ciruela, maguey, guayaba y nogal (SPP, 1988).

### 5.2. Material Vegetativo.

Se utilizó la variedad hortícola denominada "Mamey" (*Stenocereus queretaroensis* (Weber) Buxbaum) que se

encuentra en condición cultivada en un huerto comercial que se encuentra en la población de Anoca en el municipio de Techaluta de Montenegro, Jalisco.

### 5.3. Toma de Muestras.

La colecta de yemas florales que se empleó para llevar a cabo este estudio se efectuó con el apoyo de una escala artificial sobre el desarrollo de la yema floral de pitayo descrita por Lomelí y Pimienta (1993). En esta escala se identifican siete estadios que se describen a continuación y se ilustran en la Figura 1.

1. Brote de la yema floral.
2. Yema floral con 1 ó 2 cm de longitud. No hay diferencia entre podarios y escamas.
3. Yema floral con 2-4 cm de longitud, con tubo receptacular corto. Se inicia el abultamiento del periantio
4. Yema floral con 5-8 cm de longitud con reducción de la zona peduncular y aumento de tamaño del tubo receptacular; con periantio más abultado, distinguiéndose diferencias entre podarios y escamas.
5. Yemas florales cercanas a la antesis.
6. Flores en antesis.
7. Flores al final de antesis.

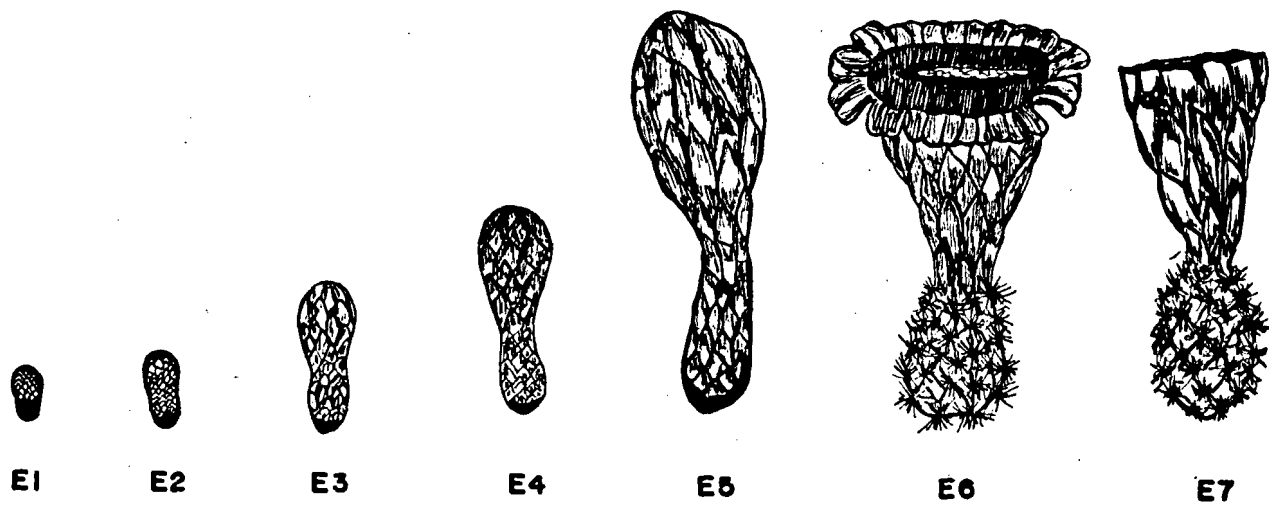


FIGURA 1. Estadios de diferenciación de yemas florales y frutos de *Stenocereus queretaroensis*.

#### 5.4. Estudio Anatómico de los Esporangios y Gametófitos.

Las yemas florales colectadas en los diferentes estadios de diferenciación previamente mencionadas fueron fijadas en F A A (Jensen, 1962), posteriormente fueron llevadas al laboratorio las anteras fueron separadas manualmente y el pericarpelos fue disectado longitudinalmente para separar los óvulos. Ambas partes fueron fijadas de nuevo. Después se deshidrataron en series de alcoholes de diferentes grados y se infiltraron en parafina. Se realizaron cortes longitudinales de 10  $\mu$ m de grosor en un micrótopo rotatorio marca American Optical 820; posteriormente se montaron en portaobjetos y tñieron con safranina y verde fijo (Jensen, 1962) y por último se montaron con resina sintética marca Sigma.

En cada uno de los estadios, se realizaron observaciones sobre el estadio de desarrollo de los gametófitos (masculino y femenino) y los esporangios, anotándose los principales eventos de diferenciación celular que conducen a la diferenciación de los gametófitos y los esporangios.

## 5.5. Identificación Histoquímica de Almidón y Lípidos en el Gametófito Masculino.

En microsporas maduras se determinó el principal tipo de reserva de energía que almacenan las microsporas, a través de métodos histoquímicos. Para esto fueron empleadas las tinciones de yodo-yoduro de potasio (IKI) para identificar almidón y de sudan III para lípidos (Berlyn y Miksche, 1976).

## 5.6. Interpretación y Análisis de los Resultados:

Los principales estadios de la diferenciación de los gametófitos y los esporangios se describieron apoyándonos en los eventos que se describen en las figuras 5 y 8. Una vez que se describió el desarrollo de ambos tipos de gametófitos, se eligieron variables o atributos embriológicos, que han sido empleados por otros autores para establecer la escala evolutiva en otras especies vegetales (Grayum, 1991). Esto se complementó con otras características florales, que también han sido empleadas con el fin de situar en la escala evolutiva a otras especies de angiospermas. En el Cuadro 1, se presenta un listado de las principales variables o atributos florales y embriológicos que se emplearon como criterios para situar a *S. queretaroensis* en la escala evolutiva.

Los criterios más importantes que se tomaron en cuenta son: en el megasporangio y gametófito femenino se

consideró el tipo de desarrollo nucelar (crasinucelar o tenuinucelar); la forma del óvulo según la curvatura del funículo (Anátropo, Ortótropo, Anfitropo, Campilótropo o Circinótropo); el tipo de óvulo según el número de megásporas que dan origen al saco embrional (monospórico, bispórico o tetraspórico); características de las células del megasporocito; la megaspora y el saco embrional (sinérgidas, antipodales, huevo y binucleada) y por último la fecundación. En el microsporangio y el gametófito masculino se tomarón en cuenta los siguientes características: número de esporangios por antera; la diferenciación y las características de las capas celulares que rodean al tejido esporógeno (tapete, capas de células intermedias y el endotecio); tipo de grano de polen (binucleado o tetranucleado); presencia de almidón o lípidos, así como las características de los microsporocitos, microsporas y grano de polen.



## 6. RESULTADOS Y DISCUSION.

El ovario infero de *S. queretaroensis* que es considerado como característica evolutiva avanzada por Foster y Gifford, 1974, es unilocular. En este se forma un número alto de óvulos, que se diferencian en el ápice de los funículos que emergen de la pared interna del ovario. Debido a que las placentas se localizan sobre la pared del ovario, decimos que la placentación es de tipo parietal (Rost *et. al.* 1985) En este caso debido al alto número de óvulos que se diferencian por flor se asume que una superficie importante de la pared interna del ovario está constituida por el tejido de la placenta. Por otro lado, en las flores en que se diferencian un número alto de óvulos por lóculo es considerada como una característica primitiva (Grayum, 1991).

Durante la diferenciación del óvulo se presenta un movimiento giratorio del funículo en forma de espiral llevando en su ápice al megasporangio en el proceso de diferenciación; de tal manera que al terminar la diferenciación y maduración del óvulo el funículo ha dado una giro y medio. Este giro en espiral que da una vuelta y media alrededor del óvulo conduce a la formación de una cobertura funicular que rodea al óvulo maduro. Este método de diferenciación del megasporangio, difiere de los tipos clásicos de óvulos citados por Foster y Gifford (1974), el cual ha sido clasificado por algunos embriólogos, como un óvulo de tipo circinótropo

(Archibald, 1939; Maheshwari, 1950 y Chopra, 1974 citados por Flores y Engleman, 1976). Estudios embriológicos realizados por Flores y Engleman (1976), en diversos miembros de la familia cactaceae, revelaron que este tipo de óvulo es común en el género *Opuntia*. También este tipo de óvulos se ha registrado en otros géneros, tales como: *Plumbaginaceae*, *Psilostachys* y *Dee-rinea* (Kapil y Vasil, 1963). Archibald (1939) menciona que en óvulos de *Opuntia aurantiaca*, la forma circinótropa es debida al giro y medio de el funículo y no a la curvatura del ovulo, aunque al describir esta curvatura, se observa que durante el desarrollo del óvulo pasa por todas las posiciones reconocidas para los diferentes tipos clásicos de óvulo (Flores, 1976). Al madurar el óvulo se observan dos tegumentos, que presentan dos capas celulares, con excepción de la zona del micrópilo en que es mayor el número de capas de cada uno de los tegumentos. La presencia de dos tegumentos (Bitegmentado) coincide con observaciones realizadas en miembros del subgénero *Opuntia* (Flores y Engleman, 1976). Los óvulos de *S. queretaroensis* son de tipo crasinucelado y es común que las células nucelares centrales presenten una mayor afinidad a la tinción que las periferales. Esta afinidad se incrementa cercano al momento en que se inicia la diferenciación del gametófito femenino. Según Davis (1966) esta forma tiende evolutiva e irreversiblemente hacia la condición tenuinucelada. De acuerdo a los criterios de Grayum (1991), Foster y Gifford (1974) y

Niembro, 1988) el megasporangio de *S. queretaroensis* se puede considerar como primitivo, ya que es crasinucelado y bitegumentado.

En óvulos crasinucelados, es común que en las células nucelares se encuentre embebido un megasporocito de gran tamaño con un núcleo denso. Este megasporocito posteriormente pasa por dos divisiones meióticas que dan origen a una tétrade de megásporas (Rost *et al.* 1985). En este trabajo se encontró que el megasporocito que se diferencia en los óvulos de *S. queretaroensis* es de gran tamaño con núcleo denso y se encuentra embebido en la nucela, aunque únicamente se observó una división meiótica, ya que se diferencia una díade en lugar de la tétrade. Esto último requiere de confirmación. De esta díade, se presume que una de ellas se degenera, por lo que en estadios posteriores fue posible distinguir una sola megáspora funcional, que es a partir de la cual se desarrolla el saco embrional. Lo anterior revela que el gametófito femenino tiene un origen monosporico (Foster y Gifford, 1974). También es importante resaltar que la megáspora inicialmente, se encuentra localizada del lado de la cálaza; característica evolutiva considerada como primitiva (Foster y Gifford 1974; Haig, 1990 y Grayum, 1991). La diferenciación de la megáspora ocurre durante el movimiento giratorio del funículo, y que a su vez en su ápice está ocurriendo la diferenciación del megasporangio. En contraste con otras especies como *Prunus dulcis*, en que se encontró que la diferenciación de

la megáspora ocurre al momento en que termina la formación del megasporangio (Pimienta y Polito, 1983) (Figura 1a).

Alrededor de la megáspora se forma una cavidad lisógena en el tejido nucelar, debido a que obliteran las células nucleares que se encuentran en contacto con la megáspora (Figura 8a). Poco tiempo después ocurre la primera división mitótica de la megáspora, la cual da origen a dos núcleos; cada uno de estos núcleos es separado a polos opuestos, debido a la presión que ejerce una vacuola que se forma entre ambos núcleos. De esta manera queda un núcleo del lado del micropilo y el otro del lado de la calaza (Figura 8b); después en cada núcleo ocurre la segunda y tercera división mitótica, formándose cuatro núcleos del lado de la calaza y cuatro del lado del micropilo, diferenciándose el estadio octanucleado. Este estadio es difícil de diferenciar, debido a que no es posible observar los ocho núcleos en el mismo plano de corte, por lo que se tiene que reconstruir esta imagen con diferentes cortes de la misma cinta. En este estadio los cuatro núcleos del lado del micropilo se encuentran embebidos en una masa densa de protoplasma, en contraste con los otros cuatro que se encuentran del lado de la calaza separados por una gran vacuola, que son menos visibles, debido a que presentan menor afinidad a la tinción, ya que además el protoplasma es menos denso (Figura 8c). Posteriormente, un núcleo de cada grupo se mueve hacia el centro del saco embrional para formar la

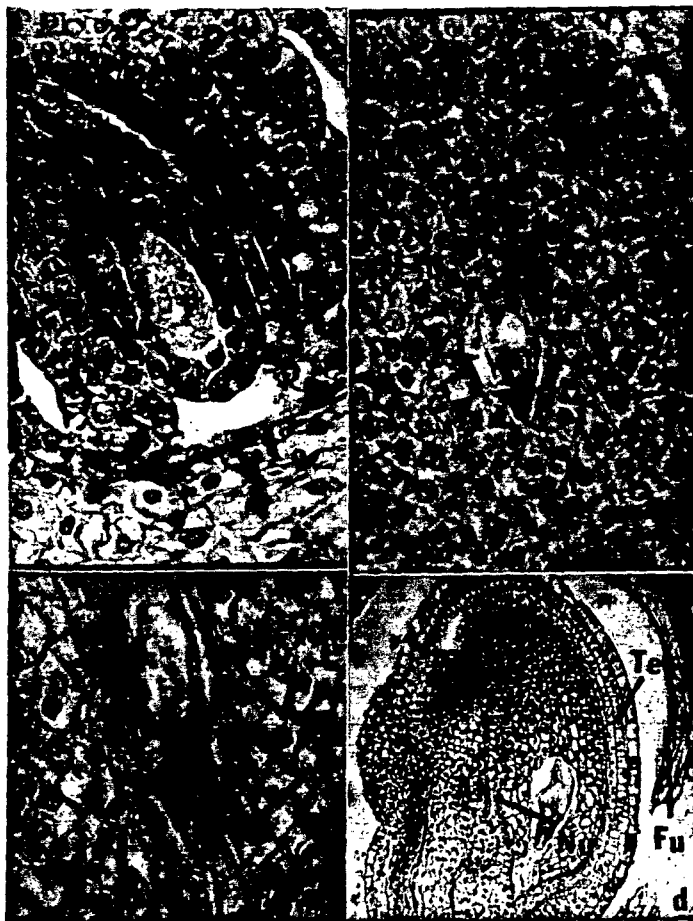


FIGURA 8. Desarrollo megasporofítico hasta la formación del saco embrional. a) Megáspora funcional rodeada por una cavidad lisógena formada por la nucela; X575. b) División de la megáspora nuclear. Los núcleos han emigrado a polos opuestos y se ha formado la vacuola central; X575. c) Ovulo mostrando la condición de 8 núcleos (octanucleada), se observan únicamente 3 núcleos del lado del micrópilo; X575. d) Ovulo maduro mostrando parte del aparato huevo; X150. Me, megáspora; N, núcleo; Te, tegumentos; Nu, nucela; Cl, cavidad lisógena; V, vacuola; Fu, funículo; ah, aparato huevo.

la megáspora ocurre al momento en que termina la formación del megasporangio (Pimienta y Polito, 1983) (Figura 1a).

Alrededor de la megáspora se forma una cavidad lisógena en el tejido nucelar, debido a que obliteran las células nucleares que se encuentran en contacto con la megáspora (Figura 8a). Poco tiempo después ocurre la primera división mitótica de la megáspora, la cual da origen a dos núcleos; cada uno de estos núcleos es separado a polos opuestos, debido a la presión que ejerce una vacuola que se forma entre ambos núcleos. De esta manera queda un núcleo del lado del micrópilo y el otro del lado de la cálaza (Figura 8b); después en cada núcleo ocurre la segunda y tercera división mitótica, formándose cuatro núcleos del lado de la cálaza y cuatro del lado del micrópilo, diferenciándose el estadio octanucleado. Este estadio es difícil de diferenciar, debido a que no es posible observar los ocho núcleos en el mismo plano de corte, por lo que se tiene que reconstruir esta imagen con diferentes cortes de la misma cinta. En este estadio los cuatro núcleos del lado del micropilo se encuentran embebidos en una masa densa de protoplasma, en contraste con los otros cuatro que se encuentran del lado de la cálaza separados por una gran vacuola, que son menos visibles, debido a que presentan menor afinidad a la tinción, ya que además el protoplasma es menos denso (Figura 8c). Posteriormente, un núcleo de cada grupo se mueve hacia el centro del saco embrional para formar la

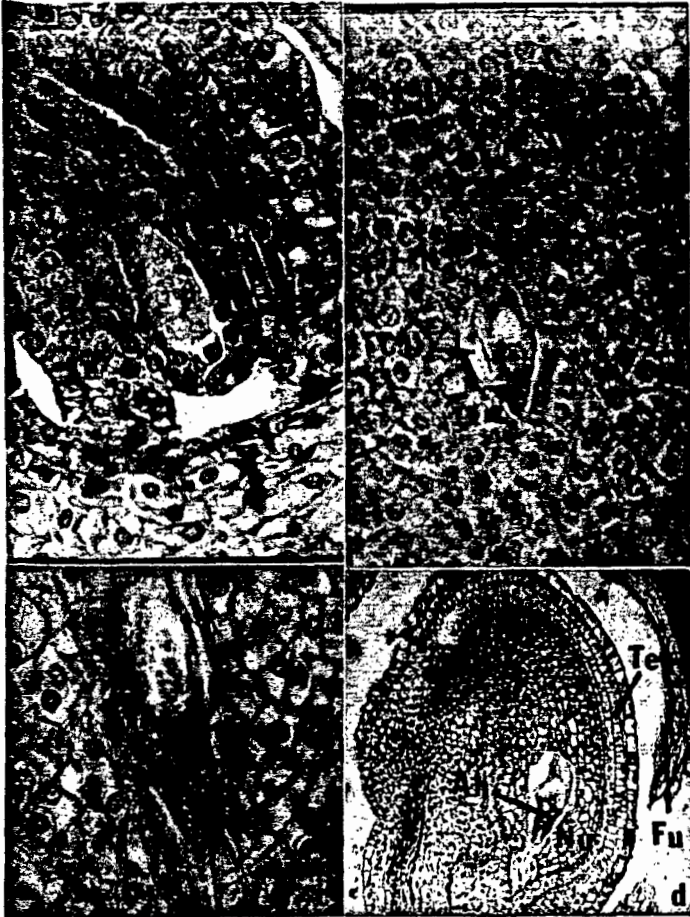


FIGURA 8. Desarrollo megasporofítico hasta la formación del saco embrional. a) Megáspora funcional rodeada por una cavidad lisógena formada por la nucela; X575. b) División de la megáspora nuclear. Los núcleos han emigrado a polos opuestos y se ha formado la vacuola central; X575. c) Ovulo mostrando la condición de 8 núcleos (octanucleada), se observan únicamente 3 núcleos del lado del micrópilo; X575. d) Ovulo maduro mostrando parte del aparato huevo; X150. Me, megáspora; N, núcleo; Te, tegumentos; Nu, nucela; Cl, cavidad lisógena; V, vacuola; Fu, funículo; ah, aparato huevo.

célula central binucleada. Estos núcleos se fusionan poco antes de que el tubo polínico penetre el saco embrional, dando origen a una célula central uninucleada. Esta célula al fusionarse con uno de los dos núcleos espermáticos dará origen al endospermo que nutrirá al embrión de la semilla (Newcomb, 1973).

Es importante hacer notar que en la célula central se acumulan una gran cantidad de globulos, que son incoloros con la tinción de safranina y verde fijo, aunque observaciones histoquímicas realizadas por otros autores han revelado que estos son gránulos de almidón (Sehgal y Gifford, 1979) (Figura 9a).

Durante este estadio el gametófito comienza a elongarse, ocupando un espacio importante del saco nucelar, ya al expandirse el saco causa la obliteración de las células nucleares que rodean este.

De los 3 núcleos localizados hacia la base se diferencian las células antipodales, aunque por ser efímeras, (ya que se degeneran en estudios iniciales) no son visibles al momento en que el saco embrional inicia su maduración. Estas células por lo general son muy pequeñas y muestran poca actividad, indicada por la baja afinidad a la tinción. Probablemente esta es la primera observación en la que se han registrado antípodas en miembros de la familia Cactaceae, ya que en estudios embriológicos realizados en diferentes especies del subgénero *Opuntia*, no se reporta la presencia de antípodas visibles en sacos embrionales maduros. (Rosas,

CUCEA





1984; Archibald, 1939 y Buttrose y Sedgley, 1979).

Las sinérgidas del saco embrional en *Stenocereus queretaroensis* presentan senescencia antes del arribo del tubo polínico al micrópilo, lo cual coincide con las observaciones realizadas en sacos embrionales de algodón por Jensen y Fisher (1968) citados por Johri y Bhatnagar, (1973) (Figuras 8d,9a). Estos mismos autores mencionan que las sinérgidas son el sitio de ingreso del tubo polínico al saco embrional. Aparentemente esta degeneración de la sinérgidas que antecede a la penetración del tubo polínico al óvulo, es considerado como parte de un proceso de atracción quimiotrópica, ya que aparentemente las sinérgidas en degeneración secretan atrayentes sexuales, al igual que en plantas vasculares inferiores (Pimienta, 1990). Newcomb (1973) apoya lo mencionado anteriormente y menciona que estas sustancias quimiotrópicas son almacenadas en el aparato filiforme. Sin embargo, algunos autores, como Cronquist (1987), no aceptan las funciones conferidas a las sinérgidas, en relación a su función de secreción de sustancias quimiorreceptoras para atraer al tubo polínico, y menciona que probablemente representen vestigios del arquegonio o del cuerpo vegetativo del gametófito.

Lo anterior se avala por el hecho de que en *Plumbago zeylanica*, que presenta un saco embrional del tipo plúmbago, están ausentes las sinérgidas en el saco embrional. En este caso la célula huevo, es la que efectúa las funciones de las sinérgidas ya que presenta



FIGURA 9. a) Ovulo maduro mostrando parte del aparato huevo; en el que son visibles las células sinérgidas con núcleos y protoplasmas densos, hacia la célula central se observan glóbulos de almidón; X575. b) Una bien diferenciada célula huevo con prominente núcleo; X14,500. c) Saco embrional maduro mostrando penetración porogámica del tubo polínico; X575. Si, sinérgidas; Ov, ovocélula; Se, saco embrional; Fu, funículo; Mi, micrópilo; Tp, tubo polínico.

características similares a las de las células de transferencia, ya que se diferencia un aparato filiforme (Russell, 1982).

La célula huevo de *S. queretaroensis* se caracteriza por presentar un núcleo prominente con el citoplasma polarizado del lado de la cálaza (Buell, 1952) (Figura 9b). Esta característica es variable ya que en observaciones realizadas en *Zea mays* presenta una célula huevo no muy especializada debido a que exhibe un bajo grado de polaridad estructural y es menos pronunciada de entre el citoplasma (Diboll y Larson, 1966).

La penetración del tubo polínico es porogámica, es decir penetra por el micropilo del óvulo y además se acompaña por la necrosis de las dos sinérgidas (Figura 9c).

En los primeros estadios en la antera de *Stenocereus queretaroensis* se observa la formación de cuatro zonas con alta actividad meristemática y afinidad a la tinción. En estas zonas es donde se inicia la diferenciación de las microsporas, cuando la antera madura estas microsporas dan origen a los microsporangios, por lo que se considera que la antera es tetralobulada. El tipo tetralobulado es considerado como una característica evolutiva primitiva (Grayum, 1991).

En cada microsporangio se observan diversos tipos celulares que van a dar origen a las células esporógenas y a la pared. En la pared del microsporangio se distinguen 3 capas: la más externa se conoce como el

endotecio por presentar células alargadas, en las que se acumulan una alta cantidad de taninos que dan una coloración rojiza al teñirse con safranina. El endotecio es considerado por Esau, (1977) como típico de las angiospermas. Debajo de esta capa se observa la capa celular media, que se diferencia por presentar células de menos tamaño con núcleos incóspicuos y baja afinidad por safranina. Hacia la parte interna se diferenciá el tapete, que se caracteriza por presentar células de forma alargada y núcleos con mayor densidad que los núcleos de las células de la capa media estas son ricas en material cromático (Carniel, 1963 citado por Esau, 1976) (Figura 10a). Esta capa tapética inicia su degeneración al momento de la formación de las tétrades de tipo isobilateral, al dividirse meióticamente los microsporocitos (Figura 10b). El tapete es de tipo secretorio, que al igual que la tetrade de tipo isobilateral son consideradas como características primitivas (Crayum, 1991). En torno a la tetrade se forma una pared de calosa, que funciona como filtro molecular, (Southworth, 1971) y es desechada al ser liberadas las microsporas. En torno al tejido tapetal se forman capas de células medias que son obliteradas junto con el tapete. (Figura 10c).

Las microsporas liberadas de la tetrade, poseen formas irregulares y en cada una es distinguible un conspicuo núcleo así como una pequeña cantidad de protoplasma que se va desarrollando conforme las

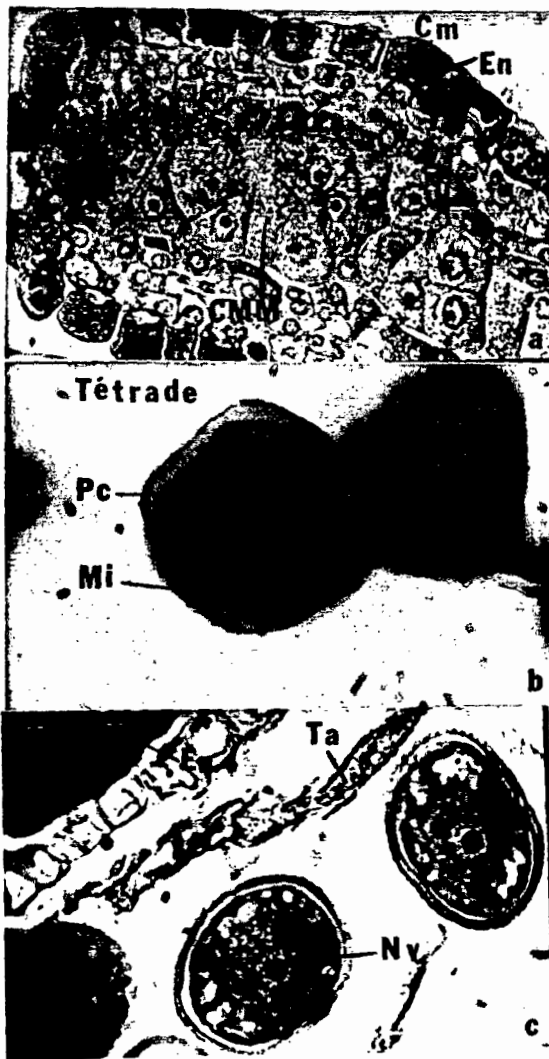


FIGURA 10. a) Microsporangio en el que se diferencian los componentes de la pared; X600. b) Tétrade de tipo isobilateral, note la capa gruesa que la rodea; X14,000 c) Microspora mostrando núcleos prominentes de la célula vegetativa, se observan también restos del tapete de tipo secretorio; X600. Ta, tapete; En, endotecio; Cm, capa celular media; CMM, Célula madre de la microspora; Nv, núcleo de la célula vegetativa; Mi, microspora; Pc, pared de calosa.

microsporas van madurando. Las microsporas sufren una primer división meiótica y dan origen a una célula vegetativa y una generativa. Esta condición celular es considerada por los embriólogos como binucleada y por lo tanto primitiva (Foster y Gifford, 1974 y Grayum, 1991). El número de núcleos que se encuentran en el grano de polen, además de tener importancia evolutiva también tienen gran significado taxonómico y fisiológico (Brewbaker, 1959). Leopold y Kriedeman, (1975) menciona que comunmente los granos de polen binucleados presentan requerimientos simples de germinación, en contraste con los granos de polen trinucleados que presentan requerimientos muy especializados para su germinación. Estos últimos son más difíciles de germinar en modo de cultivo *in vitro* (Brewbaker, 1959).

Al madurar los granos de polen se observa la formación de una gran cantidad de vacuolas en el protoplasma las que disminuyen en estadios posteriores. La formación de vacuolas en granos de polen maduros han sido reportadas previamente por Echlin, (1971) (Figura 10c). Conforme el grano de polen madura aumenta su afinidad a la safranina lo que reduce la visibilidad interna de éste y por consecuencia dificulta observar cambios citoplasmicos.

Las pruebas histoquímicas realizadas en granos de polen maduros revelaron que el principal material de reserva en el grano de polen es el almidón. (Baker y Baker, 1979) mencionan que es importante identificar el

tipo de reserva en los granos de polen, ya que esta característica es de gran utilidad en estudios taxonómicos y evolutivos. En contraste con los atributos embriológicos evaluados previamente, este es el segundo atributo embriológico que es considerado como avanzado, ya que el resto de los atributos fueron considerados como primitivos (Grayum, 1991); En general podemos considerar que las estructuras reproductoras de *S. queretaroensis*, son consideradas como primitivas, lo cual coincide con observaciones anatómicas realizadas en *S. queretaroensis* ya que la cutícula es delgada y los estomas no se encuentran hundidos, por lo que se considera que este género no ha alcanzado un alto grado de especialización (Gibson y Nobel, 1986), como en el caso de miembros del subgénero *Opuntia* que presentan cutículas gruesas y estomas hundidos (Pimienta, et al. en prensa).

## 7.-CONCLUSIONES.

1. La mayoría de los atributos embriológicos e histoquímicos observados en estructuras reproductivas en *S. queretaroensis* revelaron que esta especie se encuentra en una escala evolutiva que se puede considerar como primitiva de acuerdo a los criterios establecidos por Grayum, (1991).

2. Los atributos considerados como primitivos son: diferenciación de un número alto de óvulos por flor, óvulo crasinucelado-bitegumentado, localización de la megáspora funcional hacia la cálaza, saco embrional de tipo polygonum de origen monospórico, antera tetralobulada, formación de tetrade de tipo isobilateral, durante la diferenciación del gametofito masculino, grano de polen binucleado y tapete de tipo glandular.

3. Los únicos atributos reproductivos considerados como avanzados son: Ovario ínfero, presencia de almidón como material de reserva en el grano de polen maduro y en el saco embrional y formación de la diada en lugar de la tetrade, durante la diferenciación del gametofito masculino.



## B. LITERATURA CITADA.

- Anónimo, 1989 Cactus. Instituto de Biología. Universidad Nacional Autónoma de México.
- Arbeloa, A. and M. Herrero, 1991. Development of the ovular structures in peach (*Prunus persica* (L) Batsch). *New Phytol.* 118: 527-533.
- Archibald, E.E.A., 1939. The development of the ovule and seed of jointed cactus (*Opuntia aurantiaca*, Lindley). *South African Journal of Science.* XXXVI: 195-211.
- Arreola, N.H., 1990. Inventario de las cactáceas de Jalisco. *Cactáceas y Suculentas Mexicanas.* 35(1): 3-12.
- Baker, H.G. and I. Baker, 1979. Starch in angiosperm pollen grains and its evolutionary significance. *Am. J. Bot.*, 5: 591-600.
- Berlyn, G.P. and J.P. Miksche, 1976. *Botanical Microtechnique and Cytochemistry.* The Iowa State University Press. Ames Iowa. 1a ed. Ames Iowa 326 p.
- Bravo, H.H. 1978. *Las Cactáceas de México.* Universidad Nacional Autónoma de México. ed. 29. México. 735 p.

- Brewbaker, J.L. 1959 Biology of the angiosperm pollen grain. Indian Jour Genet and plant Breed. 19: 121-133.
- Buell, K.M. 1952. Developmental morphology in dianthus. I Structure of the pistil and seed development. A. J. of Botany. Vol. 39(3): 194-210.
- Buttrose, M.S. and M. Sedgley. 1979. Anatomy of watermelon Embryo sac following pollination, non pollination or pathenocarpic induction of fruit Development. Ann. Bot 43: 141-146.
- Carrillo, A. y E.M. Engleman. 1991. Anatomía en la semilla domesticada de *Chenopodium/Chenopodium berlandieri* sp. Nuttialliae. Tesis de maestria. Centro de Botánica, Colegio de Postgraduados. México.
- Cronquist, A. 1978. Introducción a la Botánica. 2a ed. Ed. CECSA. México, D.F.
- \_\_\_\_\_. 1987. Introducción a la Botánica. 2a. ed. Ed. CECSA. México D.F. 848p.
- Davis, G.L. 1966. Systematic Ebriology of the Angiosperms. Ed. John Wiley. New York.

- Diboll, A.G. and D.A. Larson. 1966. An electron microscopic study of the mature megagametophyte in *Zea mays*. Amer. J. Bot. 53(4): 391-402.
- Dormer, K.J. 1962. The fibrous layer in the anthers of Compositae. New Phytol. 61: 150-153.
- Echlin, P. 1971. The Role of the Tapetum During Microsporogenesis of Angiosperms. In: J. Heslop-Harrison (ed). Pollen Development and Physiology. pp. 3-15.
- Engleman, E.M. 1960. Ovule and Seed development in certain Cacti. Amer. Jour. Bot. 47(3): 460-467.
- Esau, K. 1976. Anatomía Vegetal. 3ra. ed. Ed. Omega. p. 573-601.
- \_\_\_\_\_. 1977. Anatomy of Seed Plants. 2a. ed. Ed. John Wiley & Sons. U.S.A. pp. 404-422.
- Flores, V.E.M. 1973. Algo sobre Morfología y Anatomía de semillas y de cactaceae. Tesis de maestria. Colegio de Postgraduados. Escuela Nacional de Agricultura, Chapingo, Mex.
- \_\_\_\_\_. 1976. Apuntes sobre anatomía y morfología de las semillas de cactacéas II. Caracteres de valos taxonómico. Rev. Biol. Trop. 24(2): 231-299.

\_\_\_\_\_. y E.M. Engleman, 1976. Apuntes sobre anatomía y morfología de las semillas de cactáceas. I. Desarrollo y estructura. Rev. Biol. Trop. 24(2): 199-227.

Foster, A.S. and E.M. Gifford. 1974. Comparative morphology of vascular plantas. 2nd. ed. W.H. Freeman company. pp. 634-684.

Gates, E.H. 1957. Distribución de las cactáceas de Baja California. Cact. Suc. Méx. 2(4): 69-75.

\_\_\_\_\_. 1958. The dwarf pithaya dulce of Baja California. Cact. and Suc. J. 30(4): 114-115.

Gibson, A.C. 1990. The systematic and evolution of subtribe Stenocereinae: *Stenocereus queretaroensis* and its closet relatives. Cactus and Succulent Journal 62:170-176.

\_\_\_\_\_. and P.S. Nobel. 1986. The cactus primor Harvard University Press. Cambridge. p. 275.

Grayum, M. H. 1991. Sistematic Embryology of the Araceae. The Botanical Review. 57(3): 167-203.

Haig, D. 1990. New perspectives on the angiosperm female gametophyte. The Botanical Review, 56(3): 236-274.

Haig, D. 1990. New perspectives on the angiosperm female gametophyte. *The Botanical review*, 56(3): 236-274.

Jensen, W.A. 1962. *Botanical Histochemistry*. W.H. Freeman and Company. San Francisco. 408 p.

\_\_\_\_\_. 1965. The ultrastructure and histochemistry of the synergids of cotton. *Amer J. Bot.* 52: 238-256.

\_\_\_\_\_. 1973. Fertilization in Flowering plants. *Bioscience*. p.21-271.

Johri, B.M. and S.P. Bhatnagar. 1973. Some chemical and ultrastructural aspects of the female gametophyte and fertilization in angiosperms. *Caryologia*. 25: 9-25.

Kapil, R.N. and J.K. Vasil. 1963. Ovule. In Maheshwari. p.(ed) *Recent advances in the embriology of angiosperms*. New Delhi. India. 41-47 pp.

\_\_\_\_\_. and A. Bhatnagar. 1975. A fresh look at the process of double fertilization in angiosperms. *Phytomorphology* 25: 334-368.

Leopold, A.C. and P.E. Kriedemann. 1975. *plant Growth and Development* 2da. ed. Ed. NY: Mc Graw-Hill. 545 pp.

- Lomeli, M.E. y B.E. Pimienta. 1993. Demografía reproductiva del pitayo (*Stenocereus queretaroensis* (Wex) Buxbaum) act. and Suc. Mex. XXXVIII (1): 13-20.
- Martínez-Zaporta, 1964. Fruticultura. Instituto de Investigaciones Agronómicas. Madrid, España. 1003 p.
- Mellentin, M.V.; C.V. Wang and S.Y. Wang. 1972. Influence of temperature on pollen tube growth and initial fruit development in "d" anjov pear. Hortscience 7(6): 557-559.
- Niembro, R.A. 1988. Semillas de árboles y arbustos. 1a ed. Ed. Limusa. México D.F. 285 p.
- Newcomb, W. 1973. Development of the embryo sac of sunflower *Helianthus annuus* before fertilization. Can. J. Bot. 51: 863-878.
- Pimienta, B.E. 1990. Fase progámica en angiospermas. Ciencia 41: 319-332.
- \_\_\_\_\_. 1987. Polinización y fecundación de frutales perennes INIFAD, SARH, México. p.27.
- \_\_\_\_\_. and E.M. Engleman. 1985. Desarrollo de la pulpa y proporción en volumen de los componentes del lóculo maduro en tuna (*Opuntia Ficus-indica* (L)

Miller) 62:51-56.

- \_\_\_\_\_. and V.S. Polito. 1983. Embryo sac development in Almond [*Prunus dulcis* (Mill) D.A. Webb] as affected by cross-self and non pollination. *Ann. Bot.* 51: 469-479.
- Polyakov, I.M. 1964. New data on use of radioactive isotopes in studying fertilization of plants. In: pollen physiology and fertilization H.F. Linskens (ed.). North-Holland, Amsterdam. pp. 194-199.
- Prasad, K. 1987. Introducción a la Botánica. 2a. ed. Ed. CECSA México.
- Rosas, C.M.P. 1984. Polinización y fase progámica en *Opuntia* spp. Tesis profesional. Universidad Michoacana de San Nicolas de Hidalgo.
- Rost, L.T.; B.M.G. Barbour; T.E. Thorton; T. E. Weier y C.R. Stocking. 1985. Botánica, Introducción a la Biología Vegetal. 1a. ed. Ed. Limusa. pp. 149-163.
- Rowley, J.R.; N.I. Gabarayeva and B. Walles. 1992. Cyclic invasión of tapetall microspore development in *Nymphaea colorata* (Nymphaeaceae). *American Journal of Botany* 79(7): 801-808.
- Rusell, S. D. 1982. Fertilization in plumbago Zeilanica entry y discharge of the pollen tube in the embryo sac. *C. Jour of Botany.* 60(11): 2219-2230.

- Salcedo, P.E. y N.H.J. Arreola. 1991. El cultivo del pitayo en Techaluta, Jalisco. Cact. Suc. Mex. XXXVI: 84-90.
- Sanchez, M.R.H. 1984. Origen taxonómico y distribución de las pitayas en México. E. Simposio. Aprovechamiento de pitayo. Memorias Universidad Autónoma Metropolitana. Xochimilco, Méx. pp. 6-21.
- Sehgal, C.B. y E.M. Gifford Jr. 1979. Developmental and Histochemical Studies of the Ovules of *Nicotiana Rustica* L. Bot. Gaz. 140(2): 180-188.
- Southworth, D. 1971. Incorporation of radioactive Precursors into Developing Pollen Walls. In: J. Heslop-Harrison (ed.). Pollen Development and Physiology pp. 115-120.
- Takahashi, H. 1988. Ontogenetic Development of pollen tetrads of *Drosera capensis* L. Bot. Gaz. 149 (3): 275-282.
- Thompson, M.M. and L.J. Liu. 1973. Temperature, Fruit Set, and Embryo Sac Development in *Italian* prune. J. Amer. Soc. Hort. Sci. 98(2): 193-197.
- Tiagi, Y.D. 1954. Studies in the floral Morphology of *Opuntia Dilleni* Haworth. Botaniska Notiser. Hafte 4. Lund.



- Ting, I. P. 1982. Plant physiology. 1a ed. Addison-Wesley publishing company. The United States of America. pp. 513-514.
- Vasek, C.F. and V. Weng. 1988. Breeding systems of *Clarkia sect phaeostoma* (Onagraceae): I. Pollen-ovule ratios. Systematic Botany 13(3): 336-350.
- Vovides, P.A. 1966. El papel de los estudios biosistemáticos en los recursos genéticos. En memoria del seminario sobre la investigación Genética Básica en el conocimiento y evaluación de los recursos Genéticos. Jardín Botánico. Instituto de Biología, UNAM pp. 107-119.
- Williams, R.R. 1964. The effect of summer nitrogen applications on the quality of apple blossoms. J. Hort. Sci. 40: 31-41.



UNIVERSIDAD DE GUADALAJARA  
FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS

Expediente .....

Número .....

Sección .....

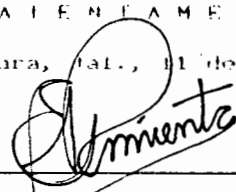
M. C. JUAN LUIS CIFUENTES LEMUS  
DIRECTOR  
FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS  
P R E S E N T E

Por este conducto le comunico que después de haber revisado el trabajo de Tesis intitulado: "DIFERENCIACION DE LOS GAMETOFITOS MASCULINO Y FEMENINO EN PITAYO (*Stenocereus queretaroensis* (Weber) Buxbaum) Y SU RELACION CON ASPECTOS EVOLUTIVOS), que presenta la pasante de Biología María Magdalena Ortega Carrillo para obtener la Licenciatura en Biología, considero que este ha concluido satisfactoriamente, por lo cual puede proceder la citada persona a presentar su tesis para su revision por parte de los sinodales y una vez aprobados por estos presentar los exámenes de tesis y profesional.

Sin otro particular por el momento aprovecho la ocasion para reiterarle mi consideracion mas distinguida.

A T E N T A M E N T E

Guadalajara, Jal., 11 de Mayo de 1993



---

DR. EULOGIO PIMIENTA BARRIOS

Director de Tesis

AJ contestar este oficio díese fecha y número