EMBRIOLOGÍA DE *PACHYCEREUS MILITARIS* (AUDOT) HUNT (CACTACEAE)

CITLALI NÚÑEZ-MARIEL¹, E. MARK ENGLEMAN² Y JUDITH MÁRQUEZ-GUZMÁN¹

¹Facultad de Ciencias, Universidad Nacional Autónoma de México, Apartado Postal 70-356,
Ciudad Universitaria, 04510 México, D. F. México. e-mail: cnm@hp.fciencias.unam.mx

²Colegio de Postgraduados, Montecillo, 56230 Estado de México, México

Resumen. Este trabajo es una contribución al conocimiento de la embriología de las cactáceas y a la definición de sus estructuras reproductoras. Se describe el desarrollo de anteras, óvulos y semillas de *Pachycereus militaris*. El desarrollo de la pared de la antera es monocotiledóneo. Este podría ser un carácter con valor taxonómico a nivel suprafamiliar. El endotecio está formado por un estrato y el polen es tricolpado, equinulado y punctitegilado. Se observó una tríada lineal de megasporas. La megaspóra funcional es la calazal. Se propone que el término campilótropo se use para describir el tipo de óvulo y el de circinótropo para el funículo. Contrariamente a lo sostenido por otros autores, se plantea que las semillas de *Pachycereus militaris* deben considerarse como no albuminosas y no perispermicas.

Palabras clave: *Pachycereus*, *Backebergia*, antera, óvulo, semilla, Cactaceae.

Abstract. This is a contribution to the embryology of cacti and to the definition of their reproductory structures. The development of anthers, ovules and seeds of *Pachycereus militaris* is described. The type of development of the anther wall is monocotyledonous. This may have taxonomic importance above the family level. The endothecium is formed by a single stratum and the pollen grains are tricolpate, spinulate and punctitegillate. A lineal triad of megaspores was observed. The functional megaspore is the chalazal one. It is proposed that the term campylotropous should be utilized for describing the ovule type, while the term circinotropous should be reserved for the funicle. In contrast to the stated by other authors, this study suggests that the seeds of *Pachycereus militaris* should be considered as non-albuminous and non-perispermous.

Key words: *Pachycereus*, *Backebergia*, anther, ovule, seed, Cactaceae.

Pachycereus militaris (Audot) Hunt es una cactácea arborescente que se caracteriza por la presencia de un cefalo, con cerdas en tonos de amarillo a café obscuro, que se encuentra en el ápice de las ramas maduras. Esta especie es endémica de México y se distribuye en la Cuenca del Río Balsas. Es considerada especie rara de acuerdo a la Norma Oficial Mexicana (NOM-059-ECOL-1994; SEDESOL, 1994) y especie amenazada por la *Convention on International Trade in Endangered Species of Wild Fauna and Flora* (Hunt, 1999). Esto es debido, posiblemente, a la reducción de sus hábitats por cambios en el uso del suelo, en particular por las actividades pecuarias y la expansión de la frontera agrícola. Observaciones preliminares de algunas poblaciones naturales, realizadas por Gibson *et al.* (1999), sugieren que éstas podrían también estar declinando debido a problemas de plagas.

La posición taxonómica de esta planta no ha sido esclarecida completamente hasta la fecha. Bravo-Hollis (1978) considera que es un género monotípico y que el nombre correcto para la especie es *Backebergia militaris* (Audot) Bravo ex Sánchez Mejorada, aclarando la confusión creada por Britton y Rose (1919-1923) quienes creyeron que se trataba de *Pachycereus fulviceps* (Lemaire) Hunt. Sin embargo, Hunt (1999) considera que *Backebergia militaris* es sinónimo de *Pachycereus militaris*.

Como ha sido señalado por Cronquist (1988) y Stuessy (1990), el uso de caracteres embriológicos puede ser muy importante para resolver problemas taxonómicos a diferentes niveles de la jerarquía en angiospermas. La presente investigación forma parte de un estudio comparativo del desarrollo de estructuras reproductoras de cinco especies de la tribu Pachycereeae (*Pachycereus militaris* (Audot) Hunt,

Pachycereus gaumeri Britton & Rose, *Pachycereus fulviceps* (Lemaire) Hunt, *Pachycereus pringlei* (Watson) Britton & Rose y *Myrtillocactus geometrizans* (Martius) Console), enfocado a la búsqueda de caracteres útiles para la delimitación del género *Pachycereus* y para la sistemática de la subfamilia.

La embriología de la familia Cactaceae no ha sido suficientemente estudiada. La mayoría de los trabajos se han enfocado a la descripción del desarrollo de óvulos y semillas (Guignard, 1886; Maheswhari y Chopra, 1955; Engleman, 1960; Hernández-García y García-Villanueva, 1991). Otros aspectos importantes, tales

Figuras 1-6. Cortes transversales de antera. 1. Microsporangio en donde se observa la división de la capa parietal interna (flecha) 272x. 2. Antera inmadura tetrasporangiada 64x. 3. Microsporangio con células madres de las microsporas rodeadas por el tapete binucleado (TB), capa media (ME), endotecio (EN) y epidermis (EP) 160x. 4. Tétrada tetraédrica de microsporas formada a partir de citocinesis simultánea 400x. 5. Microsporangio con granos de polen jóvenes (PJ) 100x. 6. Grano de polen maduro mostrando el núcleo de la célula vegetativa (NV) y las células espermáticas (CE) 400x.

como el desarrollo de las anteras, se encuentran poco documentados. Más aún, existen imprecisiones e inconsistencias en la forma como se definen y describen las diferentes estructuras. Este es el caso, por ejemplo, de la confusión que hay en la descripción de los diferentes tipos de óvulo o de funículo. Esto representa una limitación importante para la caracterización embriológica de la familia y puede conducir a descripciones incorrectas de los procesos de desarrollo de las estructuras reproductoras, así como a hipótesis filogenéticas erróneas.

El conocimiento integral de la embriología de las cactáceas debería partir de la definición precisa de las estructuras reproductoras. Por otra parte, una revisión de la embriología de esta familia debería sustentarse en el estudio sistemático de un conjunto de taxa representativos de las distintas subfamilias. *Pachycereus militaris* pertenece a la tribu Pachycereeae, que incluye a las cactáceas columnares o candelabroformes, y que es, junto con las tribus Echinocereae y Cacteae, uno de los grupos de la familia mejor representados en México. Este trabajo es el primero de una serie de estudios para documentar la embriología de la tribu Pachycereeae.

Materiales y métodos.

Se recolectaron flores en antesis, botones florales y frutos en distintas etapas de desarrollo en la población de *Pachycereus militaris* que se encuentra a 5 km al N de Buenavista Tomatlán, Municipio de Apatzingán, Michoacán (19° 15' 44" N, 102° 34' 60" W). La vegetación predominante es bosque tropical caducifolio. El ejemplar de herbario fue depositado en el MEXU (JE 4534).

El material recolectado se fijó en FAA (formaldehído-ácido acético-etanol) en el campo y posteriormente fue deshidratado con alcoholes graduales. Las muestras que fueron incluidas en Paraplast se cortaron a un grosor de 7 a 10 µm y se tiñeron con safranina y verde fijo. Las muestras que se incluyeron en plástico de JB-4 y LR White fueron cortadas con cuchillas de vidrio a un grosor de 1 µm y se tiñeron con azul de toluidina.

Se realizaron pruebas histoquímicas para detectar almidón (Lugol), taninos (vainillina-HCl; modificado de Waterman y Mole, 1994), polisacáridos insolubles y proteínas (ácido peryódico-reactivo de Schiff y azul negro de naftol; modificado de Clark, 1981).

Las semillas y el polen se observaron con microscopía electrónica de barrido. Las semillas maduras se lavaron utilizando ultrasonido y alcohol etílico al 96%. Posteriormente se colocaron en una cámara de vacío, se cubrieron con oro y se observaron en un micros-

copio electrónico de barrido en aumentos desde 35X hasta 500X. El polen se colocó directamente en portamuestras, se cubrió con oro y fue observado con aumentos de 500X a 1000X.

Resultados

Desarrollo de la pared de la antera. Los primordios de antera surgen del meristemo floral en secuencia centrífuga. Cada primordio de antera está formado por tejido meristemático rodeado por una protodermis uniestratificada. Algunas células arqueosporiales subepidérmicas se diferencian y se dividen periclinalmente dando lugar a las células parietales y a las células esporógenas.

La capa parietal se divide periclinalmente y origina dos capas parietales secundarias, una interna y una externa. La capa parietal secundaria externa forma directamente el endotecio. La capa parietal secundaria interna se divide periclinalmente y origina una capa media y el tapete (figura 1). La antera desde etapas tempranas de desarrollo es bilobulada, tetrasporangiada, presenta drusas en el conectivo y su pared está constituida por cuatro estratos: epidermis, endotecio, capa media y tapete (figuras 2 y 3). Dado que solamente se forma una capa media y ésta se origina de la capa parietal secundaria interna, se considera que el tipo de desarrollo de la pared de la antera es monocotiledóneo.

Antes de que inicie la primera división meiótica de las células esporógenas, las células del tapete han duplicado su tamaño y presentan dos núcleos (figura 3). La capa media comienza a constreñirse durante la segunda división meiótica, hasta llegar a desaparecer una vez que la antera alcanza su madurez.

En la etapa de granos de polen uninucleados, las células del tapete comienzan a degenerar, liberando su contenido hacia el lóculo de la antera. Parte del contenido se adhiere a las paredes de los granos de polen recién formados. Lo anterior, permite reconocer al tapete como uno de tipo secretor. Tanto la capa media como el tapete llegan a desaparecer cuando la antera alcanza su madurez.

Después de la liberación de las microsporas de la tétrada, las células del endotecio aumentan su volumen y forman engrosamientos en las paredes anticlinales. En la antesis, la pared de la antera está formada exclusivamente por la epidermis uniestratificada y el endotecio.

Microsporogénesis y microgametogénesis. Las células esporógenas aumentan en número por sucesivas divisiones mitóticas e incrementan su tamaño convirtiéndose en células madres de las microsporas. Antes de iniciar la meiosis, cada célula madre de las microsporas se rodea por una gruesa pared de calosa, pero se obser-

van canales citoplásmicos atravesando estas paredes y conectando las células entre sí.

La tétrada de microsporas se origina a partir de un proceso de citocinesis simultánea. La primera

división meiótica de las células madres de las microsporas no es seguida por la formación de paredes, por lo que se forma una célula binucleada, la cual continúa con la segunda división meiótica y tiene como

Figuras 7-12. Cortes longitudinales de óvulo. 7. Primordio de óvulo en donde se observa la célula madre de las megasporas (CM), célula parietal (CP) y la formación del tegumento interno (IT) 64x. 8. Óvulo crasinucleado con células madres de las megasporas (CM) 400x. 9. Megaspora funcional calazal (MF) 400x. 10. Megagametofito con células antípodas (AN) 204.8x. 11. Megagametofitos con núcleos polares (NP) y sinérgidas (SI) 256x. 12. Óvulos en preantesis; funículo (EU), micrópilo (MI), cálaza (CA), tegumento externo (TE), protuberancia funicular (PF) 25.2x.

producto una célula con cuatro núcleos haploides (figura 4). Es hasta este momento, cuando se forman las paredes de calosa que van a separar a las cuatro microsporas. La tétrada que se origina a partir de este proceso es de tipo tetraédrico.

Cuando se degrada la pared de calosa se liberan las microsporas y cada una de ellas da lugar a un grano de polen unicelular. Estos granos de polen presentan un citoplasma altamente vacuolado, núcleo excéntrico y una capa de exina muy delgada, pero ya con ornamentaciones (figura 5).

Los granos de polen jóvenes se dividen mitóticamente, originando una célula vegetativa y una célula generatriz. Esta última, se divide nuevamente y forma dos células espermáticas, por lo que el polen antes del momento de ser liberado es tricolpado (figura 6).

Las anteras son dehiscentes desde antes de la antesis. Los granos de polen maduros son esferoidales, tricolpados, punctitegidos, equinulados y presentan un citoplasma sumamente denso con abundantes proteínas.

Desarrollo del óvulo. A partir de la pared interna del ovario surgen los primordios de óvulos, los cuales están formados por un tejido indiferenciado que da origen a la nucela y por una capa de células que forman la protodermis nucelar. Las células arqueosporiales se forman a partir de células en posición hipodérmica, estas células se distinguen porque son de mayor tamaño y presentan núcleos muy evidentes. Cada célula arqueosporial se divide periclinalmente dando lugar a una célula parietal en posición hipodérmica y a una célula madre de las megasporas, en la parte más interna (figura 7).

Los tegumentos del óvulo inician su formación como pequeñas protuberancias que surgen de la epidermis nucelar, por lo que se consideran de tipo dérmico. A partir de este momento, el primordio de óvulo empieza a curvarse y la célula madre de las megasporas comienza a prepararse para la meiosis, aumenta significativamente de tamaño, adquiere forma alargada y su citoplasma se hace cada vez más vacuolado (figura 8).

La curvatura del óvulo se debe principalmente al crecimiento asimétrico de los tegumentos, hay un mayor número de divisiones anticlinales en la parte dorsal que en la ventral, lo que origina que el óvulo comience a curvarse desde el inicio de su formación.

La célula madre de las megasporas se divide meióticamente y forma una tríada de megasporas, aparentemente, debido a que no hay citocinesis en la diáda micropilar. La megaspóra funcional calazal da lugar al megagametofito y las megasporas restantes degeneran (figura 9). En este momento, la nucela está

totalmente cubierta por los tegumentos y el óvulo se ha curvado tanto que la región micropilar del óvulo se encuentra en una posición cercana al funículo. La megaspóra funcional aumenta de tamaño y su núcleo se divide mitóticamente hasta formar un saco embrionario octanucleado de tipo *Polygonum*.

Las células antípodas son efímeras, sólo pueden ser observadas en etapas muy tempranas de la formación del saco embrionario (figura 10). En los botones florales en preantesis, las antípodas ya han degenerado y el megagametofito está formado exclusivamente por una célula central binucleada, la ovocélula y dos células sinérgidas. Los núcleos polares están rodeados por granos de almidón, cada sinérgida presenta un citoplasma sumamente denso, una gran vacuola en la región calazal, un núcleo hacia la región micropilar y un aparato filiforme muy evidente (figura 11).

Tipo de óvulo. Los óvulos maduros son campilótropos, bitégmicos y crasinucelados (figura 12). Los tegumentos son biestratificados con excepción de la región micropilar, en donde aumenta el número de estratos. Entre ambos tegumentos se encuentra un espacio aéreo en la región más cercana a la cálaza. El haz vascular que proviene del funículo llega hasta la cálaza. El micrópilo está formado por el tegumento interno.

A la altura de la zona donde el tegumento externo se fusiona con el funículo se encuentra un ensanchamiento que, de acuerdo con Engelman (1960), recibe el nombre de protuberancia funicular. El funículo es ramificado, circinótrofo y presenta papilas en su parte ventral, lo que podría contribuir a la conducción del tubo polínico ya que la fecundación es porógama.

Embriogénesis. Como producto de la primera división del cigoto se forma una célula basal de mucho mayor tamaño que la célula apical. Después de subsecuentes divisiones se forma un proembrión columnar con células basales de mayor tamaño que las apicales y con presencia de numerosas vacuolas.

A partir del proembrión columnar se forma un embrión globular con un suspensor claramente definido. Las células apicales del proembrión columnar dan lugar al embrión propiamente y las células basales al suspensor, el cual se mantiene hasta etapas posteriores. No se observó poliembrión.

El embrión globular desarrolla los primordios de los cotiledones convirtiéndose en un embrión con forma de corazón. El embrión continúa creciendo hasta alcanzar la etapa de torpedo. Cuando el embrión llega a ocupar tres cuartas partes del largo de la semilla, los cotiledones comienzan a curvarse.

El embrión maduro ocupa prácticamente todo el volumen de la semilla. La curvatura del embrión sigue la curvatura de la nucela. El hipocótilo es suculto y lo recorre un cilindro vascular incipiente desde la radícula hasta el meristemo apical que se encuentra entre los cotiledones (figura 13). En esta etapa, el endospermo y la nucela se han degradado casi completamente y las reservas, compuestas principalmente de proteínas y lípidos, se encuentran en el embrión.

Endospermogénesis. Los núcleos polares se fusionan antes de la fecundación. El núcleo primario del endospermo, producto de la fusión de los núcleos polares con uno de los núcleos espermáticos del tubo polínico, se divide consecutivamente sin que haya cariocinesis hasta constituir una cadena de núcleos unidos por citoplasma. Esta condición libre nuclear del endospermo, se mantiene desde las primeras divisiones del cigoto hasta las etapas más tempranas del embrión globular. El endospermo es de tipo nuclear.

Figuras 13-14. Cortes longitudinales de semilla. 13. Semilla madura; cotiledón (CO), cubierta seminal (CS), hipocótilo (HP), perispermo (PE), región hilo-micropilar (RH) 2x. 14. Detalle de la cubierta seminal; embrión (EM), exotesta (EX), taninos (TA) 40x. Figs. 15-17. Observaciones con microscopía electrónica de barrido. 15. Región hilo-micropilar; micrópilo (MI), hilo (HI). 16. Micromorfología de semilla madura; región hilo-micropilar (RH). 17. Detalle de la testa.

Cuando el embrión globular aumenta de volumen, comienza a haber citocinesis en el endospermo que se encuentra a su alrededor; pero en la región calazal del saco embrionario, continúa siendo libre nuclear, con citoplasma muy denso y núcleos hipertrofiados. El endospermo en la región calazal aparentemente va digiriendo a la nucela conforme avanza el desarrollo de la semilla, lo que sugiere una posible función haustorial.

En la etapa de corazón del embrión, el endospermo está formado por células con numerosas vacuolas y paredes delgadas que cubren el espacio que anteriormente tenía la nucela. En el momento en que el embrión llega aproximadamente a la mitad de su desarrollo se completa la citocinesis del endospermo.

Conforme avanza el crecimiento del embrión, la nucela y el endospermo van siendo consumidos paulatinamente, hasta que en la madurez de la semilla, el endospermo consiste de un solo estrato que cubre la radícula del embrión y se extiende hasta rodear el hipocótilo. Los restos de la nucela ocupan solamente una pequeña área ubicada en la parte cóncava del embrión, entre los cotiledones y el hipocótilo, la cual, por la presencia de almidón, es considerada como perispermo.

Desarrollo de la cubierta seminal. Se depositan numerosos gránulos de taninos en una gran vacuola en las células de la exotesta y del endotegmen. Esta vacuola, conforme madura la semilla, aumenta de tamaño y desplaza el núcleo hacia la periferia, llegando a ocupar la totalidad del volumen celular.

En forma paralela al proceso anterior, las células de la exotesta aumentan de tamaño, adquieren forma alargada y engruesan sus paredes periclinales, mientras que las células del endotegmen se aplanan, quedando cada vez más comprimidas. Las paredes periclinales externas de la exotesta pueden llegar a medir hasta 70 μm y las paredes periclinales internas, hasta 18 μm , el resto del espacio celular está ocupado exclusivamente por taninos. En la semilla madura, las células de la exotesta constituyen la principal capa mecánica (figura 14).

Las observaciones realizadas con microscopía electrónica de barrido muestran que el micrópilo se encuentra dentro de la copa hilar (figura 15) y la superficie de las semillas maduras es lisa (figura 16). Las células de la exotesta presentan paredes periclinales externas planas con límites celulares rectos y forma hexagonal (figura 17).

Discusión

Aunque los resultados del presente trabajo concuerdan en lo general con la descripción de la embriolo-

gía de otras especies de la familia (Maheshwari y Chopra, 1955; Engleman, 1960; Kapil y Prakash, 1969; Tiagi, 1970; Flores y Engleman, 1976; Flores 1976; Johri *et al.* 1992), se observaron algunos procesos y características que no habían sido reportadas anteriormente o que habían sido insuficientemente documentadas. Algunas de estas características podrían tener valor taxonómico.

Davis (1966) y Johri *et al.* (1992) mencionan a las cactáceas como un ejemplo de las familias con desarrollo de la pared de la antera de tipo monocotiledóneo, pero no citan la fuente de información, ni incluyen este carácter en la descripción embriológica de la familia. En la literatura donde se aborda el desarrollo de la antera de esta familia (Kapil y Prakash, 1969; Tiagi, 1970), sólo se describen los procesos de microsporogénesis y microgametogénesis, sin considerar el desarrollo de la pared. En el caso de *Pachycereus militaris*, se encontró que la capa parietal secundaria externa se convierte directamente en el endotecio, y la capa parietal secundaria interna da origen a la capa media y al tapete, por lo que se considera que el desarrollo de la pared es de tipo monocotiledóneo. Esto confirma la afirmación que Davis (1966) y Johri *et al.* (1992) hacen al respecto.

Davis (1966) sostiene que el desarrollo de tipo monocotiledóneo ha sido observado típicamente en monocotiledóneas, sin embargo, no es exclusivo de ese grupo. Este tipo de desarrollo de la pared de la antera también puede encontrarse en otras familias de dicotiledóneas tales como *Amaranthaceae*, *Chenopodiaceae*, *Portulacaceae* y *Molluginaceae*, todas pertenecientes al mismo orden que las cactáceas (*Caryophyllales*). Lo anterior sugiere que el desarrollo de la pared de la antera podría ser un carácter con valor taxonómico a nivel suprafamiliar.

Kapil y Prakash (1969) encontraron que *Cereus jamacaru* De Candolle, una cactácea sudamericana de hábito similar al de *Pachycereus militaris*, presenta tétradas de microsporas tetraédricas y decusadas, endotecio con dos o tres estratos en la vecindad del conectivo y epidermis de la antera dehiscente con taninos. En *Pachycereus militaris*, solamente se observaron tétradas tetraédricas, el endotecio está formado por un estrato y la epidermis de la antera no presenta taninos.

La presencia de una tríada lineal de megasporas en *Pachycereus militaris* apoya las observaciones hechas para otras cactáceas, tales como *Opuntia dilenii* (Ker-Gawler) Haworth, *Astrophytum myriostigma* Lemaire y *Cereus jamacaru* en las que también se observaron tríadas (Maheshwari y Chopra, 1955; Engleman, 1960; Kapil y Prakash, 1969), sin embargo, algunos autores mencionan además, la presencia de tétradas (Ka-

pil y Prakash, 1969; Tiagi, 1970). Según Davis (1966), la presencia de una tríada de megasporas en lugar de una tétrada en esta familia, es debida probablemente a la supresión de la segunda división meiótica en la célula micropilar de la díada resultante de la primera división meiótica, aunque se requieren estudios más detallados para clarificar este punto.

Hasta el momento no existe acuerdo entre los autores con respecto al tipo de óvulo en cactáceas. Davis (1966) señala que son circinótrofos. Tiagi (1970) sostiene que pueden ser campilótrofos, circinótrofos o hemicircinótrofos, dependiendo del género. Johri *et al.* (1992) mencionan que los óvulos en esta familia pueden ser anátropos, hemianátropos, campilótrofos o circinótrofos. En el caso de *Pachycereus militaris*, consideramos que los óvulos son de tipo campilótrofo debido a la curvatura de la nucela y el término circinótrofo lo reservamos para el funículo, puesto que éste rodea al óvulo.

Tradicionalmente, las semillas de la familia Cactaceae se han considerado como albuminosas y perispermicas (Davis, 1966; Tiagi, 1970; Johri *et al.*, 1992), es decir, que en la semilla madura se encuentra endospermo y perispermo como tejidos de reserva, sin embargo, en las semillas maduras de *Pachycereus militaris* la presencia de ambos tejidos es mínima. Esto es debido a que el embrión durante su desarrollo, consume casi la totalidad del endospermo y del perispermo. En la madurez, el embrión ocupa prácticamente todo el volumen de la semilla, el perispermo está reducido a una pequeña franja en la región cónca del embrión y el endospermo está formado por un solo estrato de células que rodea a la radícula y al hipocótilo. Debido a lo anterior, las semillas maduras de esta especie, deben considerarse como no albuminosas y no perispermicas.

Agradecimientos

Este estudio fue apoyado por el Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (Proyecto 3666P-N) y por la Facultad de Ciencias de la Universidad Nacional Autónoma de México. Agradecemos al Dr. Javier Caballero por la cuidadosa revisión del manuscrito y su apoyo en el trabajo de campo. A la M. en C. Silvia Espinosa por la realización de las fotografías de microscopía electrónica de barrido y por su asistencia técnica. Al M. en C. Alejandro Martínez por la realización de las fotomicrografías. A la Dra. Sonia Vásquez por sus valiosos comentarios. A la M. en C. Margarita Ponce por sus sugerencias para las pruebas histoquímicas. Al Biól. Jerónimo Reyes y la Biól. Araceli de la Rosa por su ayuda en el trabajo de campo y la elaboración de ejemplares de herbario.

Literatura citada

- Bravo-Hollis H. 1978. *Las Cactáceas de México*. Vol I. UNAM. México. 743 pp.
- Britton N. L. y Rose J. N. 1919-1923. *The Cactaceae*. 4 Vols. The Carnegie Institution of Washington. Washington, D.C. 318 pp.
- Clark G. (Ed.) 1981. *Staining Procedures*. Williams & Wilkins. Baltimore. p. 323
- Cronquist A. 1988. *The Evolution and Classification of Flowering Plants*. The New York Botanical Garden. USA. 555 pp.
- Davis G. L. 1966. *Systematic Embryology of the Angiosperms*. John Wiley & Sons, Inc. New York. 528 pp.
- Engleman E. M. 1960. Ovule and seed development in certain cacti. *American Journal of Botany* **47**: 460-467.
- Flores E. M. y Engleman E. M. 1976. Apuntes sobre anatomía y morfología de las semillas de cactáceas. I Desarrollo y estructura. *Revista de Biología Tropical* **24**: 199-227.
- Flores E. M. 1976. Apuntes sobre anatomía y morfología de las semillas de cactáceas. II Caracteres de valor taxonómico. *Revista de Biología Tropical* **24**: 299-321.
- Gibson A. C., Armella M. A., Etges W., Ramos C. y Sandoval E. 1999. Depredación de semillas de *Backebergia militaris* y las implicaciones en su conservación. En: *Resúmenes del II Congreso Mexicano de Cactáceas y otras Plantas Suculentas*. México. p. 94.
- Guignard M. L. 1886. Observations sur les ovules et la fécondation des cactées. *Bulletin de la Société Botanique de France* **33**: 276-280.
- Hernández-García G. y García-Villanueva E. 1991. Anatomía comparada de óvulos y semillas de dos especies del género *Mammillaria* (Cactaceae) *Boletín de la Sociedad Botánica de México*. **51**:25-38.
- Hunt D. (Comp.). 1999. *CITES Cactaceae Checklist*. Royal Botanic Gardens Kew & International Organization for Succulent Plant Study. London. 315 pp.
- Johri B. M., Ambegaokar y Srivastava P. S. 1992. *Comparative Embryology of Angiosperms*. Vol. I. Springer-Verlag. New York. 614 pp.
- Kapil R. N. y Prakash N. 1969. Embryology of *Cereus jamacaru* and *Ferocactus wislizeni* and comments on the systematic position of the Cactaceae. *Botaniska Notiser* **122**: 409-426
- Maheswari P. y Chopra R.N. 1955. The structure and development of the ovule and seed of *Opuntia dillenii* Haw. *Phytomorphology* **5**: 112-122.
- SEDESOL (Secretaría de Desarrollo Social). 1994. Norma Oficial Mexicana (NOM-059-ECOL-1994). Diario Oficial de la Federación del 16 de mayo de 1994. Tomo CDLXXXVIII. No.10 p. 9.
- Stuessy T. F. 1990. *Plant Taxonomy The Systematic Evaluation of Comparative Data*. Columbia University Press. New York. 251-266.
- Tiagi Y. D. 1970. Cactaceae. En: Seshachar B. R. Ed. Pro-

ceedings of the Symposium on Comparative Embriology of Angiosperms. *Bulletin of the Indian National Science Academy* 41: 30-35.

Waterman P.G. y Mole S. 1994. *Analysis of phenolic plant metabolites*. Blackwell Scientific Publication, Oxford, 95-100.