

TÉCNICA PARA EL ESTUDIO DE LA MICROMORFOLOGÍA INTERNA DE SEMILLAS DURAS EN *Opuntia*

TECHNIQUE TO STUDY THE INTERNAL MICROMORPHOLOGY OF HARD SEEDS IN *Opuntia*

Patricia Guerrero-Muñoz¹, Hilda A. Zavaleta-Mancera^{2*}, Alejandro F. Barrientos-Priego¹, Clemente Gallegos-Vázquez³, Carlos A. Núñez-Colín¹, Ernestina Valadez-Moctezuma¹ y Jesús A. Cuevas-Sánchez¹

¹Departamento de Fitotecnia, Universidad Autónoma Chapingo. Km. 37.5 Carr. México-Texcoco. 56230, Chapingo, Edo. de México. ²Programa de Botánica, Colegio de Postgraduados. Km. 36.5 Carr. México-Texcoco. 56230, Montecillo, Edo. de México. Tel. y Fax: 01 (595) 952-0247. ³Centro Regional Universitario del Centro Norte (CRUCEN), Universidad Autónoma Chapingo. El Orito, Zacatecas.

* Autor para correspondencia (arazavaleta@colpos.mx)

RESUMEN

Estudiar la morfología interna de semillas duras es un reto, debido a la dificultad para cortar este tipo de especímenes. La presente técnica usa una lima para desgastar la semilla hasta obtener el corte en el plano mediano. La superficie limada se fotografía bajo un microscopio estereoscópico para obtener una imagen digital, la cual se estudia mediante un programa de análisis de imágenes para obtener datos cualitativos y cuantitativos de la estructura interna. Los datos se pueden someter a diferentes análisis estadísticos. Como ejemplo de la aplicación de esta técnica se presenta un estudio comparativo de la micromorfología de semilla de 24 genotipos de *Opuntia* spp., que permitió separar cuatro grupos. El Grupo 2 presentó genotipos con cubiertas foliculares más delgadas en la región ventral. El Grupo 3 presentó cubiertas foliculares más delgadas en la zona dorsal y el Grupo 4 tuvo cubiertas foliculares más gruesas.

Palabras clave: *Opuntia* spp., cubierta folicular, embrión, limado.

SUMMARY

The study of internal morphology of hard seeds is a challenge, since it is difficult to section this kind of specimen. The present technique uses a lime to polish the seed until a median section is obtained. The polished surface is photographed under a stereomicroscope to obtain a digital image, which is studied using an image analysis software to get qualitative and quantitative data of the internal structure. Data can be submitted to several statistical analyses. Application of

this technique is presented as an example in a comparative study of the seed micromorphology of 24 genotypes of *Opuntia* spp. which allowed to separate them in four groups. Group 2 showed genotypes with funicular seedcoat thinner in their ventral region. Group 3 showed genotypes with thinner funicular seedcoat in their dorsal region and Group 4 had thicker funicular seedcoat.

Index words: *Opuntia* spp., seed funicular coat, embryo, lime.

INTRODUCCIÓN

En estudios de la estructura interna de semillas es necesario describir sus partes con el mayor detalle: cubierta seminal, embrión, endospermo o perispermo. En general, el anatomista de semillas efectúa tres planos de corte: transversal, mediano y transmediano, para obtener información tridimensional de las partes. El corte transversal divide a la semilla en un plano perpendicular (ángulo de 90°) al eje mayor; el plano mediano corta a la semilla longitudinalmente y la divide en dos partes simétricas (Espinoza-Osornio y Engleman, 1998); el plano transmediano corta a la semilla longitudinalmente pero perpendicular al plano mediano. Estos planos de corte pueden obtenerse con navajas de un solo filo, con micrótopo de mano o con micrótopo rotatorio en ejemplares blandos; sin embargo, la testa dura representa un obstáculo para su estudio, por lo que en esos casos se hacen cortes en semillas jóvenes, antes de su lignificación. En tejido maduro, como en semillas de Cactáceas, la testa y la cobertura folicular de la semilla se separan, para observar el embrión, el perispermo y el endospermo (Flores y Engleman, 1978), pero la observación integral de la semilla se pierde. En los fósiles y huesos, que son estructuras petrificadas muy duras para ser cortadas, una de las técnicas más usadas es el llamado “polish” por su término en inglés, la cual implica el desgaste de la superficie del material mediante abrasivos (Roggalla et al., 2003; Rensberger y Watabe, 2000) para exponer y observar la estructura interna del mismo.

Los estudios sistemáticos utilizan tradicionalmente caracteres de la flor, por considerar a las partes reproductivas como estructuras poco modificadas por el medio. La semilla es un órgano de la planta cuyas características son fijadas genéticamente, por lo que en varias familias sus caracteres son útiles en la formación de grupos y estudio de familias (Corner, 1976). Esta técnica de desgaste, “polish” o limado, se ha usado para observar la parte interna de algunas semillas duras en México; sin embargo, no se ha documentado. El presente estudio surgió de la necesidad de contribuir a la caracterización morfológica y anatómica de semillas de *Opuntia* spp. del Banco Nacional de Germoplasma, del Centro Regional Universitario del Centro Norte (CRUCEN) de la Universidad Autónoma Chapingo. En el presente trabajo se reporta la aplicación de esta técnica sencilla y económica, para estudiar la

micromorfología interna de las semillas de 24 genotipos de *Opuntia* spp.

Micromorfología interna

Dada la curvatura de la semilla de *Opuntia* spp, el plano mediano es el que mayor información proporciona de la estructura y arreglo de las partes de semillas campilótropas (embrión curvo) como es el caso de *Opuntia*, por lo que no se hicieron observaciones en otros planos de corte. Cada semilla, limpia y seca, se adhirió con cianocrilato a un extremo de la superficie de un portaobjetos de vidrio, orientada paralelamente al plano mediano, y se dejó secar durante 5 min (Figura 1A). Esta semilla se desgastó simétricamente y paralelamente al portaobjetos, con lijas de agua números 300 y 400, hasta llegar al plano mediano, donde se observó el eje hipocótilo-radicular cortado en su parte media,

MATERIALES Y MÉTODOS

Material vegetal

Se evaluaron 24 genotipos de nopal (Cuadro 1) provenientes del CRUCEN de la Universidad Autónoma Chapingo, (centro) ubicado en el poblado de “El Orito”, a 4 km al suroeste de la Ciudad de Zacatecas, a 22° 44’ 49.6” LN y 102° 46’ 28.2” LO, con un clima BS1 kw y 382 mm de precipitación media anual (Gallegos *et al.*, 1994). Todas las plantas de nopal se desarrollaron en condiciones de temporal o secano y con el mismo manejo; los datos de su uso, color de pulpa y procedencia se presentan en el Cuadro 1. Se utilizó un total de 10 semillas de 3 a 5 frutos maduros provenientes de tres plantas por genotipo.

Cuadro 1. Características y procedencia de 24 genotipos de *Opuntia* spp. pertenecientes al Centro Regional Universitario del Centro Norte de la Universidad Autónoma Chapingo (CRUCEN-UACH) México.

	Nombre común	Nombre científico	Uso	Color de pulpa	Procedencia	
					Nopalera	Lugar de origen
A	'Amarillo'	<i>O. megacantha</i>	F	Amarillo	Solar	V. de Arriaga, S.L.P.
B	'Bola de Masa'	<i>O. amyclaea</i>	F	Verde-claro	Solar	Obraje, Pinos, Zac.
C	'Burróna'	<i>O. amyclaea</i>	F	Verde-claro	Cultivada	Ojo Caliente, Zac.
D	'Camuezo'	<i>O. megacantha</i>	F	Rojo	Cultivada	Santa Rosa, Ags.
E	'Cardona'	<i>O. streptacantha</i>	F y f	Rojo	Silvestre	San Luís Potosí
F	'Cardón de Castilla'	<i>O. streptacantha</i>	F	Rojo	Solar	S. Mateo, Val., Zac.
G	'Copena 5'	<i>O. amyclaea</i>	F	Verde-claro	Cultivada	Tecamachalco, Pue.
H	'Copena F1'	<i>O. ficus-indica</i>	T P	Verde-claro	Cultivada	Chapingo, México
I	'Copena Z1'	<i>O. amyclaea</i>	F	Verde-claro	Cultivada	Tecamachalco, Pue.
J	'Cristalina'	<i>O. amyclaea</i>	F	Verde-claro	Cultivada	V. de Arriaga, S.L.P.
K	'Chapeada'	<i>O. amyclaea</i>	F	Verde-claro	Cultivada	Los Conos, Ags.
L	'Charola'	<i>Opuntia</i> sp.	F	Rojo	Silvestre	V. de Arriaga, S.L.P.
M	'Fafayuca'	<i>O. amyclaea</i>	F	Verde claro	Cultivada	Obraje, Pinos, Zac
N	'Mango'	<i>Opuntia</i> sp.	F	Amarillo	Solar	Obraje, Pinos, Zac.
O	'Memelo'	<i>Opuntia</i> sp.	F	Rosa	Solar	El Terremoto, Zac.
P	'Montesa'	<i>O. megacantha</i>	F	Amarillo	Cultivada	V. de Arriaga, S.L.P.
Q	'Naranjón Legítimo'	<i>O. megacantha</i>	F	Anaranjado	Cultivada	Chihuahua, Pinos, Zac.
R	'Pabellón'	<i>O. ficus-indica</i>	F y f	Rojo	Cultivada	Ojo Caliente, Zac.
S	'Pico Chulo'	<i>O. megacantha</i>	F	Anaranjado	Cultivada	V. de Arriaga, S.L.P.
T	'Rosa de Castilla'	<i>Opuntia</i> sp.	F	Rojo	Solar	Sta. Rosa, Ags.
U	'Rubi Reyna'	<i>O. megacantha</i>	F	Rojo	Solar	V. de Arriaga, S.L.P.
W	'Sanjuanera'	<i>Opuntia</i> sp.	F	Verde-claro	Solar	El Terremoto, Zac.
X	'Tapón Aguanoso'	<i>O. robusta</i> var. <i>robusta</i>	F y f	Rojo púrpura	Silvestre	Palo Alto, Ags.
Y	'Tuna Rosa'	<i>Opuntia</i> sp.	F	Rosa	Solar	S. Mateo. Val., Zac.

F = fruto; f = forraje; T P = triple propósito. Fuente: Modificado de Gallegos *et al.* (1994).

los cotiledones y el perispermo (Figura 1C). La superficie desgastada se limpió con un pincel y se le aplicó una solución de IKI (0.5 % de yoduro de potasio en agua + yodo elemental hasta saturación) para teñir el almidón (Jensen, 1962) y diferenciar el perispermo del resto de los tejidos. Se obtuvieron imágenes con un microscopio estereoscópico y una cámara digital (Motic Image 2000).

Para diferenciar las partes de la semilla y facilitar su procesamiento, el embrión, perispermo y cubierta funicular se iluminaron con diferentes colores con el programa Photoshop versión 7. Se evaluó: área (mm²) de la semilla y área del embrión y del perispermo respecto a la semilla; grosor (mm) de la cubierta funicular en la zona ventral (GV) y de la cubierta funicular en zona dorsal (GD), calculado como el promedio de las mediciones en tres puntos (G1, G2, G3); la curvatura del embrión se calculó mediante el ángulo que forma el eje hipocótilo-radicular (a - a') y el eje de los cotiledones (b - b'), de acuerdo con los criterios propuestos por Flores y Engleman (1978), como se

muestra en la Figura 1D. A partir de estos valores se obtuvieron las siguientes relaciones: curvatura embrión/área embrión; área de perispermo/área de la semilla; área del embrión/área de la semilla; grosor GV/GD; área de semilla/curvatura de embrión; área de semilla/área de embrión; área de semilla/área de perispermo; área de embrión/área perispermo; curvatura embrión/GV. Estos caracteres fueron medidos con el analizador de imágenes UTHSCSA Image Tool versión 3.0 (Wilcox *et al.*, 2002).

Análisis estadístico

Se construyó una matriz básica de datos (MBD) y se aplicó un análisis de correlación de Pearson (P=0.001), un análisis discriminante canónico y la distancia de Mahalanobis con base en el programa de cómputo SAS Versión 8 (SAS Institute, 1999).

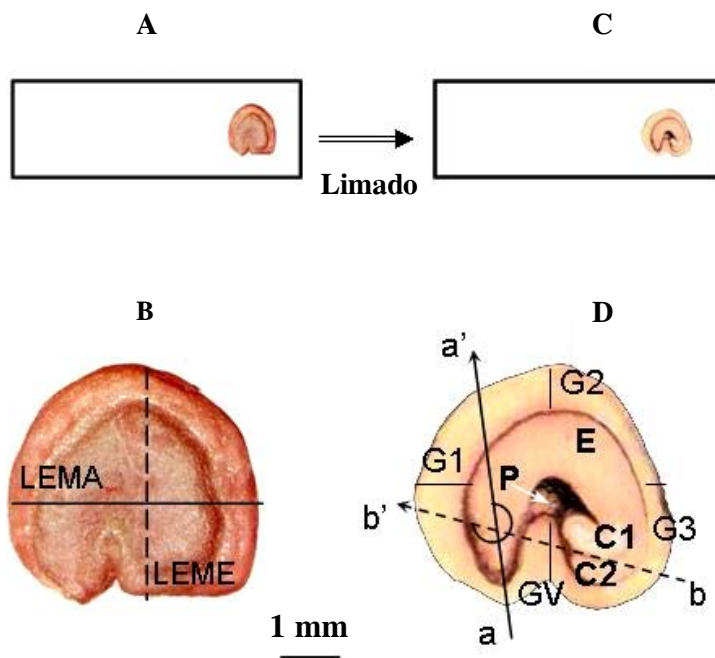


Figura 1. Morfología de la semilla de nopal *Opuntia spp.* A: Semilla intacta adherida al portaobjetos previo al proceso de limado; B: Dimensiones medidas en la semilla intacta; C: Portaobjetos con la semilla en plano mediano obtenida con la técnica de limado; D: Semilla limada en plano mediano. B: LEMA = Longitud del eje mayor; LEME = Longitud del eje menor; G1, G2 y G3 = Puntos de medición para el cálculo del grosor de la cubierta funicular dorsal (GD); GV = Grosor de la cubierta funicular ventral; E = Embrión; P = Perispermo; C1 y C2 = Cotiledones; a-a' = Eje hipocótilo radicular ; b-b' = Eje de los cotiledones.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La utilización de la técnica de limado permitió obtener datos cuantitativos a partir de caracteres morfológicos internos en las semillas de 24 genotipos de *Opuntia* spp. En la Figura 2 se observan las estructuras internas en plano mediano de las semillas en las que se utilizó esta técnica.

De acuerdo con el análisis de correlación de Pearson, el área de semilla tuvo una correlación negativa (-0.91) con la curvatura de embrión/área de embrión y con el área de semilla/curvatura de embrión (-0.95); el porcentaje de área de embrión respecto a la semilla presentó alta correlación negativa (-1.0) con la relación área de semilla/área de embrión, el porcentaje de contenido de perispermo respec-

to a la semilla presentó correlación negativa (-0.99) con la relación área de semilla/área de perispermo; el GV grosor de la zona ventral presentó una correlación negativa (-0.96) con la relación la curvatura del embrión/grosor de la zona ventral; el grosor de la zona dorsal presentó correlación positiva (0.86) con la relación área de semilla/área de embrión y la relación curvatura de embrión /área de embrión presentó correlación positiva (0.95) con la relación área de semilla/curvatura de embrión. Hubo correlación negativa (-0.85) entre el área de embrión con el grosor de la zona dorsal, lo que indica que entre más grande es el área del embrión en corte mediano el grosor de la cubierta funicular se reduce en la zona dorsal.

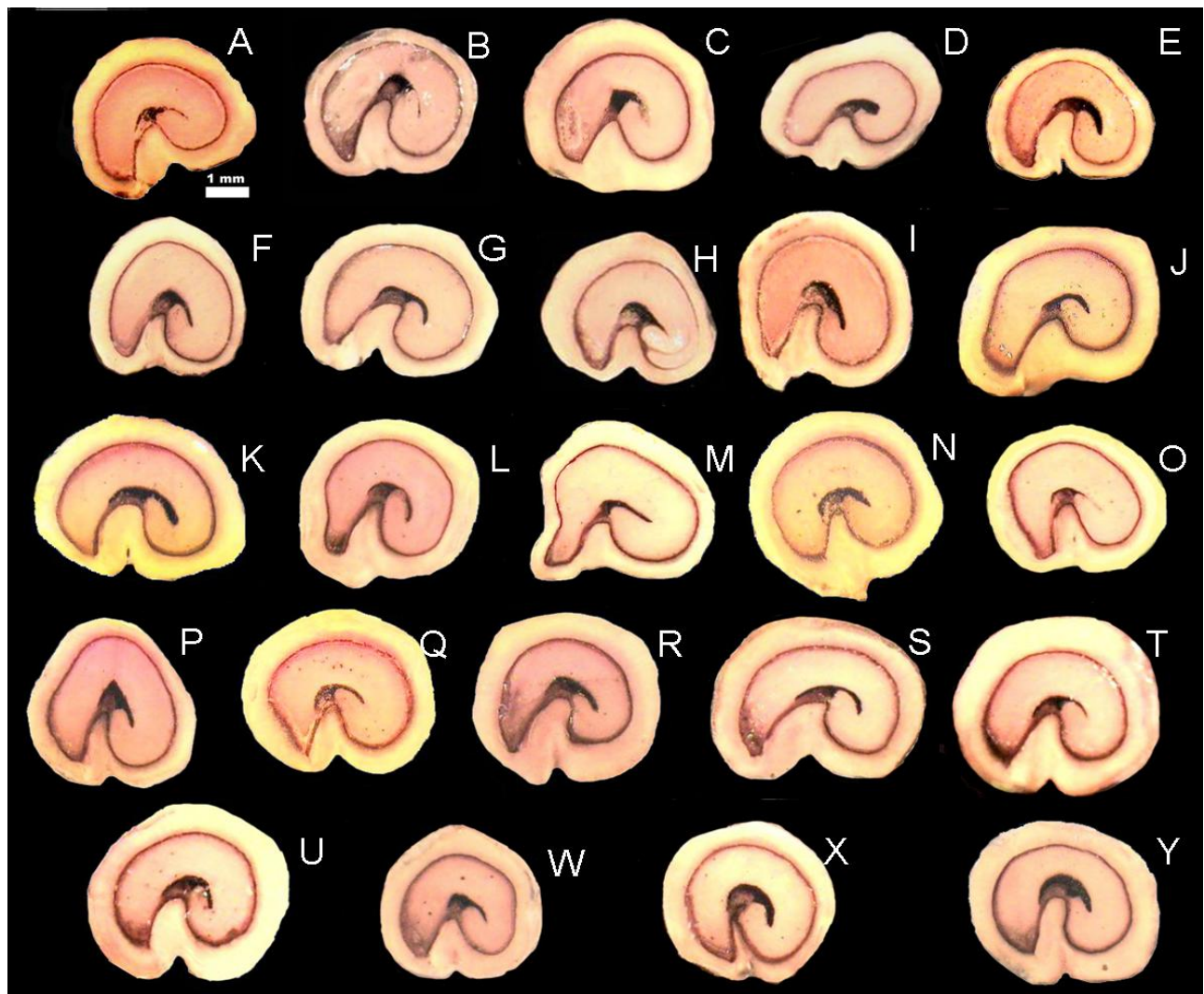


Figura 2. Estructura interna de semillas de 24 genotipos de *Opuntia* spp. (A - Y ver Cuadro 1) obtenidas con la técnica de "limado". Barra = 1 mm.

En general, los caracteres evaluados no presentaron altos coeficientes de variación (Cuadro 2) por lo que la técnica de limado permite obtener datos morfológicos internos cuantitativos estables en las semillas de *Opuntia* spp.

Análisis discriminante canónico (ADC)

Los grupos analizados en el ADC se obtuvieron a partir de un análisis de agrupación con el método de Ward que permitió obtener cuatro grupos, según Guerrero (2005)¹. El Grupo 1 se conformó por siete genotipos: 'Amarillo' (solar), 'Copena 5' (cultivada), 'Copena F1' (cultivada), 'Copena Z1' (cultivada), 'Sanjuanera' (solar), 'Cardona' (silvestre) y 'Charola' (silvestre), con semillas que presentan embriones de mayor tamaño que los Grupos 2, 3 y 4. El Grupo 2 se conformó por 10 genotipos: 'Burróna' (cultivada), 'Camuezo' (cultivada), 'Cristalina' (cultivada), 'Chapeada' (cultivada), 'Pico Chulo' (cultivada), 'Rosa de Castilla' (solar), 'Rubí Reina' (solar), 'Bola de Masa' (solar), 'Cardón de Castilla' (solar) y 'Tapón Aguanoso' (silvestre), que presentaron el valor más alto para la relación curvatura de embrión/grosor de la zona ventral, pero el valor más bajo para la relación área de semilla/área de embrión (Figura 3).

El Grupo 2 presentó las semillas con cubierta más delgada en la zona ventral. El Grupo 3 se conformó por tres genotipos: 'Fafayuca' (cultivada), 'Memelo' (solar) y 'Tuna Rosa' (solar), con semillas que presentaron el valor más alto para la relación área de semilla/área de embrión y con las testas más delgadas en la zona dorsal. El Grupo 4 se conformó por cuatro genotipos: 'Montesa' (cultivada), 'Pabellón' (cultivada), 'Naranjón Legítimo' (cultivada) y 'Mango' (solar), cuyas semillas presentaron el valor más bajo para la relación curvatura de embrión/grosor de la zona ventral, pero fue el grupo con semillas con cubiertas de mayor grosor en las zonas dorsal y ventral, con excepción de 'Montesa', con semillas de mayor tamaño (Cuadro 2).

Estos resultados coinciden con los de Aguilar *et al.* (2003)², quienes en 403 variantes de *Opuntia* spp., reportaron dos tendencias opuestas que formarían parte de los síndromes de la domesticación de *Opuntia*: cuando las variantes han sido seleccionadas para fruto, éstos son de gran

tamaño, con pulpa abundante, semillas normales numerosas y grandes y poca cantidad de semilla abortiva, en tanto que las semillas de dimensiones pequeñas y blandas predominan en las variantes de solar y silvestres. Reyes *et al.* (2004) hicieron un análisis de la variación morfológica de 38 variantes mexicanas de *Opuntia ficus-indica*, consideradas como exclusivas de los ambientes más humanizados y con el mayor grado de domesticación (Reyes, 2005)³, y concluyeron que el incremento de semillas abortivas está directamente relacionado con las presiones de selección bajo domesticación, a lo cual se contraponen una reducción en el número de semillas normales, en el peso del fruto y en el grosor de la semilla.

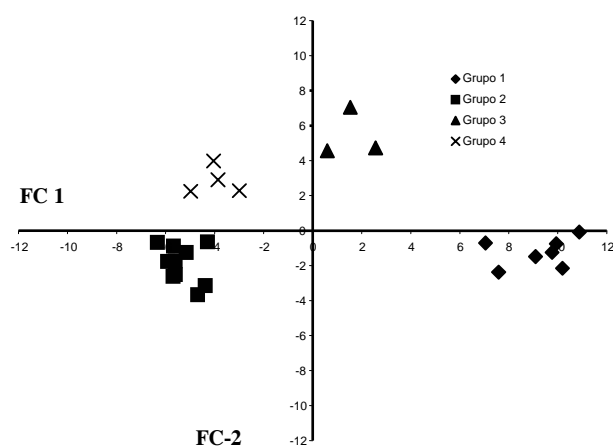


Figura 3. Representación gráfica de 24 genotipos de *Opuntia* spp. en los ejes de las funciones canónicas (FC) con caracteres de morfología interna de la semilla en corte mediano. FC1: Grosor de la cubierta funicular en la zona dorsal, curvatura de embrión/grosor zona ventral, grosor de la zona ventral, área semilla/área de embrión y porcentaje de área de embrión respecto a la semilla. FC2: Relación grosor zona ventral/grosor zona dorsal.

Las dos primeras funciones canónicas fueron las más importantes. La función canónica 1 FC1 explica 76.66 % de la variación en estructuras internas de la semilla y la FC2 explica 13.59 % (Cuadro 3).

¹ Guerrero (2005) Caracterización morfológica y germinación de semillas de 24 variedades de nopal (*Opuntia* spp.). Tesis Ingeniero Agrónomo. Fitotecnia, Universidad Autónoma Chapingo, México. 80 p.

² Aguilar E A, J A Reyes Agüero J R Aguirre (2003) Caracterización de la semilla de 403 variantes de nopal (*Opuntia* spp.). In Memoria IX Congreso Nacional y VII Congreso Internacional Sobre Conocimiento y Aprovechamiento del Nopal. Zacatecas, México. pp:117-120.

³ Reyes J A (2005) Variación morfológica de *Opuntia* (Cactaceae) y su relación con la domesticación en la Altiplanicie Meridional de México. Tesis Doctoral. Postgrado en Ciencias Agrícolas, Universidad Nacional Autónoma de México. México, D. F. 180 p.

Cuadro 2. Caracteres discriminantes evaluados en 24 genotipos de *Opuntia spp.*, medidos en el corte mediano de la semilla.

Genotipo	Área de semilla (mm ²)		Área del embrión respecto a la semilla (%)		Curvatura del embrión (°)		Grosor de la cubierta funicular, zona ventral (mm)	
	Media ± ES	CV (%)	Media ± ES	CV (%)	Media ± ES	CV (%)	Media ± ES	CV (%)
A 'Amarillo'	12.67 ± 0.32	8.07	47.56 ± 1.29	8.60	340.33 ± 6.86	6.38	1.16 ± 0.06	19.00
B 'Bola de Masa'	12.22 ± 0.27	6.95	52.50 ± 0.74	4.44	355.70 ± 5.95	5.11	1.14 ± 0.05	18.28
C 'Burróna'	15.83 ± 0.52	10.38	41.05 ± 0.31	2.41	323.40 ± 3.32	3.20	1.55 ± 0.07	17.09
D 'Camuezo'	11.57 ± 0.44	12.02	43.66 ± 1.27	9.22	315.44 ± 8.25	7.92	1.21 ± 0.04	12.90
E 'Cardona'	9.14 ± 0.23	7.90	52.45 ± 2.03	12.22	354.80 ± 6.83	5.96	1.43 ± 0.08	23.83
F 'Cardón de Castilla'	11.00 ± 0.31	8.90	53.63 ± 1.77	10.42	350.40 ± 4.74	4.28	1.26 ± 0.05	17.12
G 'Copena 5'	14.56 ± 0.47	10.14	50.39 ± 0.93	5.84	352.70 ± 3.05	2.76	1.34 ± 0.04	11.70
H 'Copena F1'	10.56 ± 0.26	7.87	52.28 ± 1.30	7.89	309.80 ± 11.41	12.02	1.08 ± 0.05	17.51
I 'Copena Z1'	15.64 ± 0.45	9.04	47.68 ± 1.13	7.49	322.00 ± 3.83	3.71	1.66 ± 0.09	20.68
J 'Cristalina'	16.83 ± 0.43	8.16	41.91 ± 0.92	6.98	322.44 ± 5.74	5.61	1.58 ± 0.11	27.80
K 'Chapeada'	16.86 ± 0.61	11.38	47.49 ± 0.51	3.41	335.30 ± 1.11	1.08	1.30 ± 0.05	14.48
L 'Charola'	13.09 ± 0.28	6.66	47.98 ± 1.68	11.07	350.67 ± 6.97	6.16	1.54 ± 0.07	16.73
M 'Fafayuca'	15.02 ± 0.36	7.49	51.99 ± 0.60	3.63	311.67 ± 4.08	4.12	1.47 ± 0.06	17.47
N 'Mango'	15.36 ± 0.31	6.34	41.04 ± 1.09	8.43	321.38 ± 7.49	7.60	1.54 ± 0.11	27.50
O 'Memelo'	12.32 ± 0.21	5.27	46.05 ± 0.98	6.70	345.33 ± 0.48	0.44	1.20 ± 0.09	30.35
P 'Montesa'	13.44 ± 0.38	8.89	48.66 ± 1.26	8.21	342.70 ± 0.73	0.65	1.23 ± 0.07	21.94
Q 'Naranjón Legítimo'	14.48 ± 0.40	8.82	47.35 ± 1.32	8.83	331.00 ± 1.93	1.81	1.19 ± 0.05	15.89
R 'Pabellón'	15.05 ± 0.47	9.95	36.58 ± 0.90	7.78	324.80 ± 4.48	4.28	1.51 ± 0.07	17.18
S 'Pico Chulo'	18.14 ± 0.52	9.04	38.53 ± 1.00	8.17	338.30 ± 6.32	5.93	1.44 ± 0.04	11.77
T 'Rosa de Castilla'	18.34 ± 0.50	8.66	42.09 ± 1.49	11.23	325.78 ± 8.81	8.60	1.43 ± 0.07	19.48
U 'Rubí Reyna'	14.74 ± 0.54	11.60	46.71 ± 1.07	7.24	348.67 ± 4.50	4.14	1.25 ± 0.03	9.43
W 'Sanjuanera'	12.81 ± 0.27	6.61	44.71 ± 1.40	9.87	320.89 ± 3.18	3.31	0.96 ± 0.05	20.35
X 'Tapón Aguanoso'	14.81 ± 0.79	16.94	49.76 ± 1.13	7.15	367.13 ± 0.80	0.70	1.28 ± 0.05	14.47
Y 'Tuna Rosa'	17.19 ± 0.63	11.51	36.23 ± 0.91	7.97	334.25 ± 1.28	1.20	1.57 ± 0.06	14.96

Media de 10 semillas por genotipo ± error estándar (ES). CV = Coeficiente de variación.

Los cinco caracteres discriminantes para la FC1 fueron: GD, curvatura/ GV, GV, área semilla/área de embrión y porcentaje de área de embrión respecto a la semilla. Para la FC2 el carácter discriminante fue sólo el grosor GV/ GD (Cuadro 4). Estos resultados evidenciaron que la utilización de la técnica de limado proporcionó datos que permitieron mostrar la variabilidad en caracteres morfológicos internos entre genotipos.

Distancia de Mahalanobis y probabilidad de similitud

Los Grupos 1 y 2 son los más alejados entre sí, con una distancia de Mahalanobis de 214.17 (Cuadro 5) y una probabilidad mínima de error de pertenecer al mismo grupo $P \leq 0.0001$; es decir, son los grupos más diferentes. Los grupos más cercanos son los Grupo 4 y 2, con una distancia de 50.23, con $P = 0.021$.

Cuadro 3. Valores propios del análisis discriminante canónico de los caracteres morfológicos internos de la semilla de 24 genotipos de *Opuntia spp.*

Función canónica	Valor propio	Varianza aportada	Varianza acumulada	Radio de verosimilitud	$P > F$
1	47.4580	76.6600	76.66	0.0003	<0.0001
2	8.4152	13.5900	90.26	0.0151	0.0003
3	6.0324	9.7400	100.0	0.1422	0.0060

Cuadro 4. Estructura canónica total de los caracteres morfológicos internos de semilla de 24 genotipos de *Opuntia spp.* Todos los parámetros se midieron en el corte mediano de la semilla.

Carácter	Función canónica 1	Función canónica 2
Área de semilla	0.69	-0.20
Porcentaje de área de embrión respecto a la semilla	-0.77	0.50
Porcentaje de área de perispermo respecto a la semilla	-0.53	0.51
Curvatura embrión	-0.37	0.24
Grosor de la cubierta funicular zona ventral	0.79	0.37
Grosor de la cubierta funicular zona dorsal	0.85	-0.40
Relación curvatura/área embrión	-0.49	0.11
Relación grosor de la cubierta funicular zona ventral/zona dorsal	-0.02	0.91
Relación área semilla/curvatura	-0.64	0.26
Relación área semilla/área de embrión	0.78	-0.48
Relación área semilla/área de perispermo	0.58	-0.51
Relación área embrión/área perispermo	0.07	-0.25
Relación curvatura/grosor zona ventral	-0.81	-0.26

Cuadro 5. Distancia de Mahalanobis y probabilidad de similitud de los cuatro grupos de *Opuntia spp.*

Grupo	1	2	3	4
1		214.17	121.25	203.84
2	$P = 0.0001$		109.07	50.23
3	$P = 0.0033$	$P = 0.0035$		98.99
4	$P = 0.0003$	$P = 0.0210$	$P = 0.0125$	

CONCLUSIONES

Los principios de la técnica de limado usada por los arqueólogos y geólogos en el estudio de fósiles, huesos y roca fueron útiles, prácticos y económicos para obtener cortes en plano mediano de semillas duras. Estos planos de corte pueden digitalizarse para observar y evaluar cuantita-

tivamente caracteres morfológicos internos, que en el caso de *Opuntia* spp. permitió conocer la variación entre genotipos reflejada en la formación de cuatro grupos. El Grupo 1 presentó semillas con mayor área de embrión respecto al área de semilla. El Grupo 2 presentó genotipos con cubiertas funiculares más delgadas en la región ventral. El Grupo 3 presentó cubiertas funiculares más delgadas en la zona dorsal y el Grupo 4 tuvo cubiertas funiculares más gruesas.

AGRADECIMIENTOS

Al Dr. E. Mark Engleman por su amable y experta asesoría en la realización del presente estudio.

BIBLIOGRAFÍA

- Corner E J H (1976)** The Seeds of Dicotyledons. Vol. 1. Cambridge University Press, London. 305 p.
- Espinosa-Osornio G, E M Engleman (1998)** Breve Recopilación de Anatomía de Semillas. Talleres Gráficos del Colegio de Postgraduados. Edo. Méx., México. 45 p.
- Flores M E, E M Engleman (1978)** Apuntes sobre anatomía y morfología de las semillas de cactáceas I: Desarrollo y estructura. Rev. Biol. Trop. 24:199-227.
- Gallegos V C, M F Blanco, A G Noriega (1994)** Establecimiento de una colección de nopal (*Opuntia* spp.) en el CRUCEN, Zacatecas, México. Rev. Geografía Agríc. 20:137-141.
- Jensen WA (1962)** Botanical Histochemistry. Principles and Practice. W. H. Freeman and Company, San Francisco. 408 p.
- Rensberger J M, M Watabe (2000)** Fine structure of bone in dinosaurs, birds and mammals. Nature 406:619-622.
- Reyes J A, J R Aguirre R, F Carlín (2004)** Análisis de la variación morfológica de 38 variantes mexicanas de *Opuntia ficus-indica* (L.) Miller. In: El Nopal: Tópicos de Actualidad. F G Esparza, C R D Valadez, S G Méndez (eds). Universidad Autónoma Chapingo. Chapingo, México. pp:21-47.
- Rogalla N L, J G Carter, A J Pojeta (2003)** Shell microstructure of the late carboniferous rostroconch mollusc *Apotocardium lanterna*. J. Paleontology 77:655-673.
- SAS Institute (1999)** SAS online V8. Ayudas multimedia para ver la logística del programa. Statistical Analysis System, version 8, SAS Institute, Cary, North Carolina, USA.
- Wilcox C D, S B Dove, W M Doss, D B Greer (2002)** UTHSCSA Image Tool. IT Versión 3.0. Department of Dental Diagnostic Science. University of Texas Health Science Center. San Antonio, Texas, USA. 57 p.