

00381



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA 12 DE MEXICO

POSGRADO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS
FACULTAD DE CIENCIAS

EMBRIOLOGIA COMPARADA DE LOS GENEROS DE LA FAMILIA PODOSTEMACEAE EN MEXICO.

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL GRADO ACADÉMICO DE
DOCTORA EN CIENCIAS (BIOLOGIA)

P R E S E N T A :

M. EN C. GUILLERMINA MURGUIA SANCHEZ

DIRECTORA DE TESIS: DRA. GUADALUPE JUDITH MARQUEZ GUZMAN (FC-UNAM)

CODIRECTOR DE TESIS: DR. LUIS ALEJANDRO NOVELO RETANA (IB-UNAM)



MEXICO, D. F.

MAYO DE 2003.

Envío a la Dirección General de Bibliotecas
UNAM a difundir en formato electrónico e impreso
Contenido de mi trabajo receptor
NOMBRE: Guillermina
Murguia Sanchez
FECHA: 21 Mayo 2003
FIRMA: G. Murguia S.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

A



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

**TESIS
CON
FALLA DE
ORIGEN**

1

Esta investigación se realizó en el Laboratorio de Biología del Desarrollo en Plantas, FC-UNAM. Forma parte del Proyecto IN-212695 (PAPIIT-D.G.A.P.A./1996-1999), del Programa de Becas para estudios de Posgrado (D.G.A.P.A. 1997-1998) y del Programa de apoyo para la realización de tesis de Posgrado (D.G.A.P.A.-PAEP _ 2340, 1998-1999). Recibió financiamiento (1995/2) del CONACyT otorgado al Dr. A. Novelo (1753- N9209).

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

"Aquí pondré ésta y encima la más grande . . . pero doblada para que esté más alta. Ven, vamos hasta arriba de la montaña porque así veremos toooooodo el mundo! . . . Mamá, me traes tu libro que dejé en la mesa? Ahora, desde aquí brincamos para ir hasta el foocooooondo del maaaaar! . . . Mami . . . ahorita tiendo la cama otra vez, eh?"

(A los 4 años, ya habituada a las limitaciones impuestas por la poliomielitis, mi gran campo de juegos era las almohadas y la cama matrimonial de mis padres. Por las tardes Adelita (mi madre, mi amiga, mi hermana y al final de su vida mi hija muy amada) compartía mis juegos mientras doblaba la ropa limpia o planchaba en una mesa junto a la cama. Juntas recorrimos una parte del camino de esta preciosa vida y muy pronto me enseñó a tejer espléndidas alfombras mágicas con hilos que extraía de los maravillosos libros con los que acompañó su infancia).

TESIS CON
 TÍTULO DE ORIGEN

A la memoria de Virginia Romo-Contreras, autora del primer estudio fitoquímico en Podostemaceae de México.

A la memoria de mi mamá Adelita,
quien además de ser valiente era bonita
y me enseñó a tejer preciosas alfombras mágicas
con los libros de su infancia.

A mis hermanas Elvia, Sandra, Blanca y Laura

A mis hermanos Luis, José Angel, Oscar y Hedilberto

A Ana, Carmen, Graciela, Griselda, Guille, Manuel y Pavel

A Manuel, Frida, Omar, Yunuén, Janik, Tania, Angel, Alejandra,
Berenice, Israel, Ligia, Abril, Gabriel, Ulises y Eduardo

A Jade y Ludwig

A mi padre

A toda mi familia materna y paterna

Ayer, hoy y mañana:

A mis alumn@s

A mis amig@s

A mis maestr@s

A mis querid@s médic@s, enfermer@s y terapistas del Hospital Infantil de México, del Shriner's Hospital for Crippled Children, A.C., del Instituto Mexicano de Rehabilitación, A.C., del Centro Médico y de la Dirección General de Medicina del Deporte de la UNAM y del ISSSTE.

A ti hoy

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

Agradezco

A la Universidad Nacional Autónoma de México el mantener vigente una de sus importantes misiones que es proporcionar educación superior a l@s mexican@s de escasos recursos económicos.

A la Dra. G. Judith Márquez Guzmán y al Dr. L. Alejandro Novelo Retana el haber dirigido mi tema de investigación, a ellos y al Dr. J. Luis Villaseñor Ríos el haber aceptado conformar el Comité Tutoral que supervisó mis estudios de doctorado y el mantener una actitud de tolerancia ante las inquietudes que constantemente permearon el desarrollo del presente trabajo.

Al jurado revisor: Dra. G. Judith Márquez Guzmán, Dra. Sonia Vázquez Santana, Dra. Blanca Pérez García, Dr. E. Mark Engleman Clark, Dr. J. Luis Villaseñor Ríos, Dr. Jaime Raúl Bonilla Barbosa y Dr. L. Alejandro Novelo Retana, sus muy valiosos comentarios y sugerencias en los diversos temas del presente manuscrito, así como su entera disposición para aclarar mis frecuentes dudas.

A los integrantes del Laboratorio de Microcine, mis queridos amigos Biól. Ana Isabel Bieler Antolín, Biól, Homer Alfredo Gamboa, Biól, J. Antonio Hernández y M. en C. Alejandro Martínez Mena, su impecable profesionalismo al exponer la belleza escondida del micro y del macromundo.

A la Dra. Silvia Espinosa Matías, del Laboratorio de Microscopía de Barrido, su amistad y la primera exploración del ovario y del óvulo que hemos realizado en podostemáceas de México.

A mis muy apreciados compañeros estudiantes y maestros del Laboratorio del Desarrollo en Plantas su compromiso por la superación académica y humana, las que cada día nos comparten a quienes los rodeamos.

Al Dr. Rolf Rutihsauser, del Jardín Botánico de la Universidad de Zürich, Suiza, su entusiasta, generoso y constante apoyo en todas las etapas de la presente investigación. A él y al Dr. C.Thomas Philbrick, de la Universidad de Connecticut, USA, sus comentarios y sugerencias durante la preparación de los artículos que se publicaron en las revistas Acta Botanica Mexicana y Aquatic Botany.

A todos aquellos estudiantes, profesores y trabajadores de la Facultad de Ciencias y del Colegio de Ciencias y Humanidades-Sur que, al brindarme su amistad o al menos su sonrisa, han allanado las mil rutas que es importante recorrer en nuestro trabajo cotidiano.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

Índice	Pág.
Resumen – Abstract	7
1. Introducción	8
2. Objetivos	11
3. Antecedentes	
- Las angiospermas acuáticas	12
- Características generales de Podostemaceae	13
- Características de su reproducción sexual	16
- Relaciones filogenéticas interfamiliares	19
- Relaciones filogenéticas intrafamiliares	22
- Planteamiento del problema	26
- Podostemaceae mexicanas	28
4. Metodología	
- Trabajo de campo	43
- Trabajo de laboratorio	45
- Descripción embriológica	49
5. Desarrollo de la flor	50
6. Desarrollo del androceo	
- Desarrollo de la pared de la antera	60
- Microsporogénesis y microgametogénesis	67
7. Desarrollo del gineceo	
- a) Estigma	73
- b) Tejido de transmisión	79
- c) Ovario	82
Desarrollo del Óvulo	
- Tegumentos	84
- Plasmodio nucelar	89
- Desarrollo del saco embrionario	97
9. Conclusiones	112
10. Literatura citada	115

TESIS CON
 FALLA DE ORIGEN

Resumen

Entre las angiospermas acuáticas, la familia Podostemaceae es la más diversa con 48 a 49 géneros y ca. 270 especies. Son hierbas que pueden parecer líquenes, algas o briofitas y se distribuyen principalmente en las regiones tropicales y subtropicales del mundo. Crecen sumergidas en el agua, en cascadas y ríos con corrientes rápidas, donde permanecen adheridas firmemente a distintos substratos sólidos por medio de rizoides y de una "supergoma" secretada por cianobacterias que están asociadas a la misma planta.

Las podostemáceas en la época de lluvias alcanzan su mayor desarrollo vegetativo y es en la época de secas, al bajar el nivel del agua, cuando exponen al ambiente aéreo sus órganos reproductivos. Esta familia, comparada con otras plantas acuáticas, produce en un corto tiempo flores, frutos y semillas abundantes. Algunos autores sugieren que pueden existir diferentes patrones de desarrollo reproductivo en los taxa de Podostemaceae y que los estudios embriológicos pueden aportar evidencias al respecto.

Desde el principio del siglo XX se sabe que las especies de Podostemaceae poseen un saco embrionario tetracelular, un plasmodio nucelar (o pseudo-saco embrionario) y no forman endospermo. Sin embargo, se desconoce el desarrollo de los órganos sexuales.

En este trabajo, se estudió hasta la etapa de antesis, el desarrollo del gineceo, del androceo y de los gametos en una especie de cada uno de los cinco géneros que se encuentran en México: *Marathrum* Humb & Bonpl., *Oserya* Tul. & Wedd., *Podostemum* Michx., *Canroyella* Novelo & Philbrick (todas ellas pertenecientes a la subfamilia Podostemoideae) y en *Tristicha* Du Petit-Thouars (de la subfamilia Tristichoideae).

Se distinguieron dos patrones de desarrollo en la pared de la antera y del polen, tres en el estigma, dos en el ovario y en los tegumentos, y tres en la nucela. Los resultados permiten distinguir a las especies estudiadas al nivel de familia, subfamilia, género y especie. En este trabajo se ratificó que la formación de los tegumentos y del plasmodio nucelar apoya considerar como subfamilias a Podostemoideae y Tristichoideae; sin embargo, se encontró que en la subfamilia Podostemoideae *M. rubrum* y en *V. plumosa*, el plasmodio nucelar ya está formado cuando el saco embrionario completó su desarrollo, mientras que en *O. coulteriana* y *P. ricciiforme*, aunque ya está presente el saco embrionario, la nucela no ha completado el proceso de desorganización de sus paredes celulares. Los caracteres embriológicos aquí analizados, junto con evidencia la molecular reciente, pueden ayudar a tomar decisión acerca de las relaciones dentro de esta familia. Se discuten las similitudes y diferencias, desde el punto de vista embriológico, dentro de la familia Podostemaceae y entre ésta y otras familias afines.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

Abstract

Among aquatic angiosperms, Podostemaceae is the largest family with 48 to 49 genera and 270 species, and has a principally tropical and subtropical distribution. Podostemacean species are herbs whose morphology is very diverse and may look as lichens, algae or mosses, and occur in rapidly flowing rivers, streams, and in water falls. Plants are seemingly well-adapted for the significant mechanical stress imposed by these habitats and grow submerged strongly attached to rock substrates via expanded, adhesive-secreting holdfasts termed haptera or by a “supergum” secreted by associated cyanobacteria.

In the rainy season Podostemaceae has the major vegetative development. Only after the water level drops, reproductive organs are exposed to the aerial environment. Compared with other aquatic plants, this family produces in a short time numerous flowers, fruits and seeds. Some authors suggests that it is possible that different reproductive developmental patterns may exist in Podostemacean taxa and that embryological studies can be useful.

Since the beginning of the XX century it has been known that species of Podostemaceae posses a four-celled embryo sac, a nucellar plasmodium (or pseudo-embryo sac) and there is no endosperm formation. However, it is unknown the sexual whorls development in this family.

In this work, it was studied, until anthesis stage, the gynoecium, androecium, and male and female gametes development in one species belonging to each of five genera that are found in Mexico: *Marathrum* Humb & Bonpl., *Oserya* Tul. & Wedd., *Podostemum* Michx., *Vanroyenella* Novelo & Philbrick (Podostemoideae subfamily) and in *Tristicha* Du Petit-Thouars (Tristichoideae subfamily).

It was identified two developmental patterns in anther wall and pollen, three in the stigma, two in the ovary wall and in the integuments, and three in the nucellus. With this results it is possible to distinguish between studied species at family, subfamily, genus and species level. It was ratified that integument and nucellar plasmodium formation defines Podostemoideae and Tristichoideae subfamily. However, it was found that in Podostemoideae subfamily, the nucellar plasmodium is formed when the embryo sac has finished the development in *M. rubrum* and *P. plumosa*, meanwhile in *O. coulteriana* and *P. ricciiforme*, as the embryo sac is present, it is uncompleted the nucellar cell walls disorganization. The embryological characters here analyzed, together with recent molecular evidence, can help to decide about intrafamilial relations. It is discussed similarities and differences, with embryological point of view, inside Podostemaceae family and among this and other families affinities.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

1. Introducción

Entre las angiospermas acuáticas, la familia Podostemaceae Rich. ex C. Agardth (Magnoliopsida) es la más grande y diversa, con 45 a 50 géneros y 268 a 275 especies (Cook, 1990; Takhtajan, 1997) ó 46 géneros y alrededor de 280 especies, de los cuales 18 géneros (39%) son monotípicos (Rutishauser y Pfeifer, 2002). En 1928 Engler reconoció tres subfamilias: la subfamilia Podostemoideae, que incluye a la mayoría de los géneros y especies, la subfamilia Tristichoideae, con 3 géneros y alrededor de 8 especies y la subfamilia Weddellinoideae, que contiene al género monoespecífico *Weddellina* Tul. (Cook y Rutishauser, en prensa).

Las podostemáceas son hierbas que crecen sumergidas en ríos con corrientes rápidas y cascadas, en regiones tropicales y subtropicales del mundo. Incluso se extienden a ríos de zonas templadas, como ocurre en Japón con *Cladopus* H. Möller e *Hydrobryum* Endl. (Ueda *et al.*, 1997) y en Norteamérica con *Podosternum ceratophyllum* Michx. (Philbrick y Crow, 1983; Philbrick, 1984).

La familia Podostemaceae está representada en África con 40 especies, en Asia 20 y Madagascar y Australia con una especie (Cook, 1990). En el Nuevo Mundo se han registrado 19 géneros (41.3%) y alrededor de 162 especies (57.8%), de las cuales casi 70% se concentran en pocos géneros. Entre los más numerosos están *Apinagia* Tul. (\pm 50 especies), *Marathmon* Humb. & Bonpl. (25), *Rhyncholacis* Tul. (25) y *Podosternum* Michx. (10) (Philbrick y Novelo, 1995). En México se localizan 5 géneros y 8 especies: *Oserya* Tul. & Wedd. (2 especies, ambas endémicas), *Marathmon* (3, una de ellas endémica), *Tristicha* Du Petit-Thouars, *Podosternum* y *Varroeynella* Novelo & Philbrick (los tres monoespecíficos y éste último endémico de México) (Novelo y Philbrick, 1997).

El ciclo de vida de las podostemáceas transcurre en el agua, principalmente en cascadas y ríos con corriente rápida, donde se ha determinado que son las regiones más productivas de las corrientes de agua (Quiroz *et al.*, 1997). Este tipo de hábitat favorece la presencia de musgos acuáticos, invertebrados, peces, anfibios y algas (Philbrick y Novelo, 1998). Varias especies de esta familia son una fuente importante de alimento para peces (van Royen, 1951) y en África Central algunas especies de coleópteros posiblemente tienen una relación simbiótica con los géneros *Lademanniella* Engl., *Leiothylax* Warming y *Macropodiella* Engl. (Cook y Rutishauser, en prensa).

Las podostemáceas son conocidas como “malezas de río”. En Panamá y en Colombia se ha registrado que las podostemáceas se utilizan como forraje para el ganado durante la época de secas y como ensalada en la dieta humana (van Royen, 1951). Lo mismo se menciona para *Thelethylax minutiflora* en Madagascar y en África Central para *Dicraeanthus africanus* y *Macropodiella heteromorpha*. En Centroamérica *Marathrum foeniculaceum* Humb. & Bonpl. se utiliza para consumo humano y las hojas de *Mounera fluvialis* Aubl. se carbonizan para extraer sal (Schnell, 1998). En la Amazonia, algunas especies de *Rhynchosolacis* son empleadas como sazónador (Philbrick y Novelo, 1995) y, en varias regiones de México, especies del género *Marathrum* se emplean en la medicina tradicional para el tratamiento hepático (Philbrick y Novelo, 1995). La Rinchonina A, extraída de *Rhynchosolacis pericillata*, demostró alta potencia insecticida, acaricida y nematocida (Burkhardt *et al.*, 1994).

Estas plantas pueden ser indicadoras de ríos y arroyos limpios (O'Neill *et al.*, 1997). Sin embargo, se han dañado varios sitios naturales donde se encuentran taxa amenazados de esta familia en el Nuevo y el Viejo Mundo a causa, entre otras razones, de la contaminación industrial y la construcción de plantas hidroeléctricas (Tur, 1997; Quiroz *et al.*, 1997).

Aunque los aspectos más generales sobre la biología de las especies que se incluyen en la familia Podostemaceae fueron abordados por Willis (1902b), entre otros autores, en la actualidad es virtualmente poco conocida cada fase del ciclo de vida de estas plantas. Lo anterior se debe en gran parte a que ocupan ambientes ecológicamente extremos que son hábitat inusuales para las angiospermas (Philbrick y Novelo, 1994). En particular, es notable el alto grado de reproducción sexual que presentan las podostemáceas, en comparación con otras angiospermas acuáticas, donde predomina la reproducción asexual. Sin embargo existe un conocimiento parcial acerca de la fase sexual de su ciclo de vida (Philbrick, 1984).

En este sentido, la familia Podostemaceae es única entre las angiospermas, no sólo por el conjunto de caracteres ya señalados, sino además porque en la fase sexual de su ciclo de vida presenta otros caracteres que reafirman su posición especial entre las Magnoliophyta. Estos caracteres se encuentran en el óvulo y son: un saco embrionario tetracelular monospórico (Jäger-Zürn, 1997) o bispórico (Arekal y Nagendran, 1975b), la transformación de la nucela en un plasmodio nucelar (pseudo-saco embrionario) (Arekal y Nagendran, 1975a) y la “carencia de doble fertilización” y por tanto la ausencia de endospermo (Battaglia, 1980). Comparada con

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

otras familias de plantas acuáticas, esta familia produce en un corto período de tiempo abundantes flores, frutos y semillas.

Es escasa la literatura que ha descrito, además del desarrollo del megagametofito y del plasmodio nucelar, algunos aspectos anatómicos del desarrollo floral, como se aprecia en los trabajos de Went (1908), Magnus (1913), Razi (1949), Mukkada (1962), Chopra y Mukkada (1966), Kapil (1970) y Jäger-Zürn (1997). A partir de las últimas décadas del siglo XX se incrementaron las investigaciones acerca del desarrollo de las podostemáceas (incluyendo el desarrollo floral) (Jäger-Zürn, 1999; Rutishauser, 1997; Rutishauser *et al.*, 1999) y de la biología reproductiva (Philbrick, 1984; Philbrick y Novelo 1994, 1997, 1998; Khosla *et al.*, 2000).

En este trabajo se estudió el patrón de desarrollo de los verticilos sexuales en una especie de cada uno de los cinco géneros de la familia Podostemaceae que se establecen en México: *Maratmon*, *Oserya*, *Podostemon*, *Vannoyrella* (Podostemoideae) y *Tristicha* (Tristichoideae). Asimismo, se analiza el significado de la ontogenia de los verticilos sexuales como un aporte para la comprensión de su proceso reproductivo y se discuten desde el punto de vista de la embriología, las relaciones intrafamiliares de la familia Podostemaceae

2. Objetivos

I. *General*

- Describir y comparar, hasta la etapa de anthesis, la embriología de una especie de cada uno de los 5 géneros de la familia Podostemaceae que se establecen en México: *Marathmon* Humb. & Bonpl., *Oserya* Tul. & Wedd., *Podostemon* Michx., *Vanroyenella* Novelo & Philbrick y *Tristicha* Du Petit-Thouars.

II. *Particulares*

- Adaptar la microtecnia al estudio de las estructuras reproductivas de plantas dulceacuícolas.
- Estudiar la ontogenia e histoquímica de los verticilos sexuales y los gametos de cuatro especies de la subfamilia Podostemoideae: *Marathmon rubron* Novelo & Philbrick, *Oserya coulteriana* Tul., *Podostemon ricciiforme* (Liebm.) P. Royen, *Vanroyenella plumosa* Novelo & Philbrick y una especie de la subfamilia Tristichoideae: *Tristicha trifaria* (Bory ex Willd.) Spreng.
- Elaborar tablas comparativas de los caracteres embriológicos descritos

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

3. Antecedentes

3.1 Las angiospermas acuáticas

El grupo de las plantas con flores o angiospermas, formado actualmente por 250 000 a 300 000 especies, es el resultado más reciente de la evolución vegetal en nuestro planeta. La flor es su característica distintiva y en ella se encuentran los órganos para la gametogénesis, la fecundación y la formación del fruto y la semilla. En este sentido, la estructura floral es considerada un carácter sumamente importante para establecer las relaciones evolutivas en las angiospermas y, por consiguiente, es la parte medular de los sistemas taxonómicos (Thomas, 1994). Los estudios de muestras fósiles de estructuras reproductivas (principalmente polen) y foliares, revelan que la mayor tasa de diversificación de las plantas con flores ocurrió durante el Cretácico Temprano, hace alrededor de 130 millones de años y, además, las hipótesis más comunes en torno a la evolución de las angiospermas reconocen dos grandes grupos: el grupo de las monocotiledóneas y el de las eudicotiledóneas (22% y 75% del total de especies actuales, respectivamente), que están emparentados con un tercer grupo basal, el de las magnolias (Crane *et al.*, 1995).

La investigación embriológica en las angiospermas, que aborda virtualmente todos los eventos relevantes de la reproducción sexual (Tobe, 1989), ha demostrado que los caracteres que definen la monofilia de las angiospermas están directamente relacionados con la fase sexual de su ciclo de vida: estambres con dos pares de sacos polínicos, anteras con endotecio en posición hipodérmica, un microgametofito hasta con tres núcleos, estigma receptivo para la adherencia y la germinación del polen, carpelo o carpelos que encierran óvulos uni- o bitégmicos, megaspora carente de esporopolenina, megagametofito generalmente con ocho núcleos y la formación de un endospermo (Crane, 1985; Doyle y Donoghue, 1986; Crane *et al.*, 1995).

Si bien las angiospermas se diversificaron y florecieron en hábitats terrestres, menos del 2% de las especies colonizaron posteriormente ambientes dulceacuícolas o marinos, pero conservaron los métodos reproductivos de sus semejantes terrestres: el óvulo está protegido por el ovario, la polinización es anemófila, entomófila y/o

hidrófila y los gametos masculinos son transportados por el tubo polínico a través del tejido estigmático y estilar. Con algunas modificaciones, el patrón floral es constante en las angiospermas terrestres y en las acuáticas. En estas últimas, las adaptaciones del cuerpo vegetativo (o incluso de las mismas estructuras florales) están orientadas a exponer las flores al ambiente aéreo durante la antesis, como ocurre con sus parientes terrestres, para garantizar que ocurra la polinización. Los pastos marinos y algunas otras especies de monocotiledóneas y dicotiledóneas hidrófilas son la excepción, ya que la polinización puede que no ocurra en el ambiente aéreo (Cox, 1988).

Aunque en las plantas acuáticas existe a menudo la tendencia hacia el reemplazo de la reproducción sexual por la vegetativa, la mayoría de ellas retiene la habilidad para producir flores y semillas (Sculthorpe, 1967), de forma esporádica o rara (Les y Philbrick, 1993). En este sentido, mientras que muchas presiones de selección han moldeado la adaptación a la reproducción vegetativa en las angiospermas acuáticas como el principal mecanismo para el crecimiento y la dispersión de las poblaciones (Philbrick y Les, 1996), la mayoría de las especies de la familia Podostemaceae presenta una alta producción de flores, frutos y semillas, y una ausencia de propágulos vegetativos (Philbrick y Novelo, 1995). Esto se refleja en su notable diversidad, ya que sus 46 géneros y alrededor de 280 especies (Cook y Rutishauser, en prensa) contrastan con los 16 géneros y 118 especies de la familia Hydrocharitaceae, los 11 géneros y 100 especies de la familia Alismataceae y con los 6 géneros y 65 especies de la familia Nymphaeaceae (Lot *et al.*, 1993), por mencionar sólo a las familias de angiospermas acuáticas más numerosas.

3.2 Características generales de la familia Podostemaceae

Mourera fluviatilis fué la primera especie descrita en esta familia, la descubrió Aublet en 1775 en la Guyana; Michaux en 1803 estableció el género tipo *Podostemum*, con base en *P. ceratophyllum* (Mohan Ram y Sehgal, 2001) y Richard en 1815 reconoció la familia Podostemaceae (Les *et al.*, 1997). De acuerdo con Collison *et al.* (1993) los primeros fósiles de Podostemaceae están representados en la Cuenca Zaizan en Rusia;



se trata de impresiones de hojas de *Nitophyllites zaizanica* del Eoceno Superior. También se han registrado hojas y flores del Plioceno en Polonia y existen registros del Mioceno inferior en Alemania, pero Mai (1985 en Cook y Rutishauser, en prensa) duda de que el material esté correctamente identificado. Otras características indican que las podostemáceas tienen un origen antiguo, como son las traqueidas con engrosamientos anulares y espirales ampliamente espaciados, la dicotomía frecuente, así como la distribución geográfica de la familia (Schnell, 1967).

En la mayoría de las especies la duración de estas plantas es anual y algunas son perennes, debido a que permanecen sumergidas en el medio acuático. Su morfología varía de forma notable, ya que pueden ser parecidas a líquenes, algas, musgos, briofitas u otras plantas cuando no han desarrollado sus órganos reproductivos (Ueda *et al.*, 1997). Con frecuencia las especies de esta familia muestran un cuerpo vegetativo taloide, debido a que las raíces, los tallos o ambos están comprimidos dorsiventralmente. Las hojas pueden tener formas variadas y tamaños de hasta 2 m de largo, como se observa en *Mourera* Aublet, o bien estar reducidas a pequeñas escamas de una sola capa de células que las hacen parecer un musgo, como en *Tristicha* (Cook y Rutishauser, en prensa).

El crecimiento vegetativo en las poblaciones de podostemáceas se realiza a diferentes profundidades (75-100 cm) en ríos con cascadas y corrientes rápidas, donde el intervalo de temperatura es de 14 a 27 °C (Sculthorpe, 1967), dependiendo de la región geográfica y del caudal de los ríos durante la época de lluvias, pero se les encuentra usualmente en lugares soleados con agua bien aireada (Philbrick y Novelo, 1995). La antesis en cambio ocurre en el ambiente aéreo, sólo cuando baja el nivel del agua en la época seca del año. En esta parte del ciclo de vida, es posible que el incremento de la temperatura, el decremento del volumen de agua y los nutrientes disponibles en el vital líquido sean los factores que disparan la diferenciación del meristemo vegetativo en meristemo floral (Sculthorpe, 1967; Sehgal *et al.*, 1993) y tal vez también el alargamiento de los pedicelos (Schnell, 1967).

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

Las podostemáceas son acuáticas porque durante la época de lluvias tienen la habilidad de crecer sumergidas en el agua de cascadas y ríos con corrientes rápidas (Philbrick, 1997; Kita y Kato, 2001) por su capacidad de firme adhesión a distintos substratos sólidos (Jäger-Zürn y Grubert, 2000), que generalmente son rocas de origen granítico (Philbrick y Novelo, 1995). Pero se parecen a la mayoría de las plantas terrestres porque utilizan el CO₂ disuelto en el agua en lugar del hidrocarbonito para el proceso de la fotosíntesis (Jäger-Zürn, 1999).

Su habilidad de adherencia al substrato sólido se debe a la presencia de pelos adhesivos usualmente unicelulares (rizoides) (Cook y Rutishauser, en prensa) que están expuestos a la acción secretora de una 'supergoma' producida por cianobacterias que se establecen en el mismo substrato (Jäger-Zürn y Grubert, 2000). Anteriormente se había mencionado que esta supergoma era secretada por el ápice de los rizoides (Cook y Rutishauser, en prensa). Jäger-Zürn (1999) menciona que en *Cladopus hookerianus* (Tul.) C. Cusset (= *Griffithella hookeriana* (Tul.) Warm.) se encontró que la 'supergoma' secretada por los pelos adhesivos y las células epidérmicas de las raíces y los háptera es un polisacárido compuesto principalmente de arabinosa y galactosa. Esta propiedad adhesiva permite a las podostemáceas contrarrestar la fuerza destructiva del agua y alcanzar su mayor desarrollo vegetativo.

Las podostemáceas se parecen a sus parientes terrestres en sus necesidades durante el período de floración, ya que sólo en la época de secas, cuando baja el nivel del agua, exponen al ambiente aéreo las flores (Philbrick y Novelo, 1993), mismas que exhiben anemofilia o entomofilia, aunque también ocurre autogamia o cleistogamia (Jäger-Zürn, 1999). Sus frutos se desarrollan fuera del agua, cuando la planta madre ya se ha secado (Philbrick y Novelo, 1994) y la maduración de la semilla es como la de una xerófita extrema (Magnus, 1913). Así, las podostemáceas parecen ser más "terrestres" que acuáticas (Philbrick, 1997), si se considera que la reproducción por semilla es fundamental en su biología, comparada con la baja sexualidad en otras angiospermas acuáticas (Philbrick y Novelo, 1995). Además, difiere de éstas porque es grande en número de géneros y especies, porque predomina la reproducción sexual y

porque carece de estructuras vegetativas modificadas que promueven la reproducción asexual y la dispersión (Philbrick, 1997).

La mayoría de las especies de esta familia está restringida a pequeñas áreas geográficas, a menudo están confinadas a un solo conjunto de rápidos, o a un solo río (Cook y Rutishauser, en prensa). Cerca del 48% de todas las especies Americanas son endémicas muy locales (Philbrick y Novelo, 1993). El alto grado de endemismo en las podostemáceas puede ser un criterio taxonómico artificial ya que pocas especies han sido estudiadas suficientemente; así, lo que ha sido aceptado como un conjunto de especies por un taxónomo, puede ser visto como “formas ambientales” por otros (Novelo y Philbrick, 1997). Cook y Rutishauser (en prensa) han dividido en grupos geográficos a los géneros de Podostemoideae porque ningún género de esta subfamilia se encuentra en más de un continente. En contraste, *Tristicha trifaria* (Tristichoideae) se encuentra dispersa en el Viejo y el Nuevo Mundo.

3.3 Características de la reproducción sexual en la familia Podostemaceae

En el ciclo de vida de las podostemáceas, la fase gametofítica se inicia mientras el cuerpo vegetativo se encuentra sumergido, ya que las flores se forman dentro del talo de la planta (Schnell, 1967). La floración y la germinación están correlacionadas con la estación lluviosa (Mohan Ram y Sehgal, 1992) pues florecen al final de la época de lluvias (Philbrick y Novelo, 1995) y las semillas germinan al inicio de la siguiente temporada de lluvias (Cook y Rutishauser, en prensa).

La familia se caracteriza por presentar reducción floral, en donde las partes florales tienden a disminuir en número y tamaño, aunque son perfectas. De manera usual los estambres están asociados a tépalos que son pequeños, sólo existe un pistilo y son principalmente casmógamas, aunque puede haber cleistogamia bajo el agua. Los botones florales están desnudos en las subfamilias Weddellinoideae y Tristichoideae (en parte) o están rodeados por una delgada cubierta en forma de saco tubular (espatela) que se abre para que emerja la flor durante la antesis en la subfamilia Podostemoideae

(Cook y Rutishauser, en prensa). Los óvulos son anátropos, bitégmicos, exóstomos y tenuinucelados. Sin embargo en la subfamilia Tristichoideae los tegumentos surgen simultáneamente y en la subfamilia Podostemoideae primero surge el tegumento externo y después el interno (Nagendran *et al.*, 1977).

3.3.1 - El saco embrionario de las podostemáceas

Warming (1882 en: Jäger-Zürn, 1997) inició el estudio de la embriología en podostemáceas de la India principalmente. En la primera década del siglo XX se estableció que en el óvulo se localizan los caracteres embriológicos que definen a la familia Podostemaceae y en taxa asiáticos se continuaron investigaciones posteriores. Went (1908, en: Battaglia, 1971) fue el primero que examinó el saco embrionario de esta familia y obtuvo series completas del desarrollo en *Mourera fluviatilis* y en *Oenone imthurni* Went. De esta manera encontró que el gametofito femenino es tetracelular y describió su desarrollo como del tipo *Allium* reducido. Posteriormente, confirmó la persistencia de este tipo de saco embrionario tetracelular en otras especies de la familia. Además, observó la presencia de un pseudo-saco embrionario y la carencia de endospermo. Chiarugi (1927, en: Battaglia, 1971) se refirió a este desarrollo del gametofito femenino como del "Tipo *Oenone* 4-nucleato" pero, de acuerdo con la nomenclatura moderna, *Oenone imthurni* es ahora un sinónimo de *Apinagia imthurni* (van Royen, 1951). Así, Battaglia (1971) consideró necesario modificar el nombre del Tipo *Oenone* (Chiarugi, 1933) al actual tipo *Apinagia* de desarrollo del saco embrionario, en lugar del llamado tipo *Allium* reducido, ya que éste es bispórico en su origen.

En las décadas posteriores del siglo XX se incrementó el estudio de la ontogenia del saco embrionario y del pseudo-saco embrionario (Chiarugi, 1933; Razi, 1949, 1955, 1966; Maheshwari, 1955; Mukkada, 1962; Chopra y Mukkada, 1966) y se estableció que el desarrollo del gametofito femenino es del tipo monospórico *Apinagia* en la mayoría de los taxa estudiados (Nagendran, 1974; Arekal y Nagendran, 1975a; Nagendran *et al.*, 1976, 1980; Jäger-Zürn, 1997; Murguía *et al.*, 2001, 2002). Sin embargo, en otras especies de la subfamilia Podostemoideae también se encontraron otros dos tipos de



desarrollo del saco embrionario que son bispóricos. Además del tipo monospórico *Apinagia*, existen los tipos *Podostemum* (Magnus, 1913; Chiarugi, 1933) y *Polypleurum* (= *Dicraea*) (Mukkada, 1962, 1964; Arekal y Nagendran, 1975b, 1976, 1977a; Nagendran *et al.*, 1977), pero Battaglia (1987) cuestiona la existencia de tipos de desarrollo bispóricos del saco embrionario en la familia Podostemaceae.

3.3.2 - El plasmodio nucelar

Durante el desarrollo del óvulo, se observó también que se forma un "pseudosaco embrionario" (Went, 1908) a causa de la degradación de las paredes celulares de la nucela (Magnus, 1913) y se le consideró como un reservorio ideal de agua (Arber, 1920). Arekal y Nagendran (1975b) acuñaron el término "plasmodio nucelar", para precisar que esta estructura tiene su origen en la nucela. Así, el plasmodio nucelar aparentemente substituye la función del endospermo (Palser, 1975) ya que, en ausencia de éste, se encarga de nutrir al saco embrionario y posteriormente al embrión (Magnus, 1913; Razi, 1949, 1955; Mukkada, 1964, 1969; Nagendran *et al.*, 1977), lo que se infiere por la presencia de núcleos conspicuos que sugieren una activa función de síntesis (Arekal y Nagendran, 1975a).

La fecundación es porógama y como resultado de la singamia da inicio el desarrollo del embrión, siguiendo un patrón del tipo Solanado (Johri *et al.*, 1992). El desarrollo del embrión ocurre en el interior del plasmodio nucelar y en este proceso se ha corroborado la ausencia de endospermo (Razi, 1949; Mukkada, 1962; Kapil, 1970; Chopra y Mukkada, 1966; Battaglia, 1987; Johri *et al.*, 1992; Ueda *et al.*, 1997) lo que sugiere, por tanto, que no ocurre la doble fecundación (Battaglia, 1980).

Las semillas son diminutas y presentan una testa cuya epidermis tiene lumen estrecho y gruesas paredes pécticas, que llegan a ser mucilaginosas. Las células del tegmen son gruesas y lignificadas y estos engrosamientos persisten en la semilla madura. Las células mucilaginosas en contacto con el agua adquieren una consistencia pegajosa, que permite la adhesión firme de la semilla a la roca donde se arraigará el nuevo esporofito (Johri *et al.*, 1992).

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

3.4 Relaciones filogenéticas interfamiliares

Hasta ahora no hay ninguna hipótesis establecida o generalmente aceptada acerca de la posición sistemática de la familia Podostemaceae. En general, se ha considerado que está filogenéticamente aislada a causa de su morfología vegetativa extremadamente peculiar. A principios del siglo XIX se consideró que la familia estaba relacionada con Alismataceae, Butomaceae y Juncaceae (Monocotiledóneas) y sólo hasta mediados del mismo siglo se demostró que el embrión es dicotiledóneo (Les *et al.*, 1997). Cusset y Cusset (1988a) sugirieron que esta familia podría ser mejor tratada como una tercera clase de angiospermas, Podostemopsida, pero la propuesta no está aceptada. También se la ha tratado como superorden Podostemiflorae (Dahlgren, 1980), aunque el tratamiento más común es el de orden Podostemales, en el superorden Rosanae (Les *et al.*, 1997) o Rosidae (Cronquist, 1981). Recientemente las Podostemaceae están incluidas en el orden Malpighiales (eurosids I) (Stevens, 2001).

van Royen (1951) concluyó que Saxifragaceae es el grupo hermano de un complejo formado por Rosaceae, Crassulaceae y Podostemaceae, estas dos últimas muy relacionadas (Mauritzon, 1939). Hacia mediados del siglo XX y utilizando criterios embriológicos, se consideraba que Podostemaceae y quizá también Hydrostachyaceae (Hutchinson, 1973), constituían descendientes avanzados y especializados de las familias terrestres ya mencionadas.

Hydrostachyaceae es una familia monogenérica de distribución geográfica restringida a Madagascar (15 especies) y África (7 especies) (Rauh y Jäger-Zürn, 1966; Cusset, 1973) que, aunque comparte el mismo hábitat y tiene un ciclo de vida similar al de las podostemáceas, es una familia dióica no relacionada con aquellas. Entre otros caracteres embriológicos, las hydrostachyáceas presentan anteras biesporangiadas, el polen es liberado en tétradas, los óvulos son unitégmicos, se forma endospermo y el desarrollo del embrión es del tipo Onagrado; incluso no hay apoyo fitoquímico para suponer alguna afinidad entre las familias Podostemaceae e Hydrostachyaceae (Jäger-Zürn, 1998).

A causa de una serie de hallazgos contradictorios no ha sido posible una clasificación de esta familia tan especializada. El tipo de endospermo ha mostrado una relación más probable de Hydrostachyaceae con los órdenes Scrophulariales y Lamiales (Jäger-Zürn, 1998). Con el análisis comparado de secuencias de nucleótidos del gen *rbcl* del cloroplasto se ha llegado a resultados alentadores acerca de la situación taxonómica de esta familia:, ya que mientras Les *et al.* (1997) habían señalado la relación filogenética de Hydrostachyaceae como grupo hermano de Podostemaceae y de Crassulaceae como grupo hermano de Haloragaceae, a manera de una hipótesis específica para su posterior evaluación, en 1995 Hempel *et al.* (Jäger-Zürn, 1998) propusieron que *Hydrostachys multifida* es grupo hermano del género *Decumaria* que pertenece a la familia Hydrangeaceae (Subclase Asteridae, orden Cornales). Aunque estos últimos autores puntualizaron que se requieren más estudios morfológicos y moleculares al respecto, Savolainen *et al.* (2000) mencionan que probablemente la familia Hydrostachyaceae no es grupo hermano de Podostemaceae, pues nueva evidencia molecular apoya la opinión de que la familia de las hydrostachyáceas pertenece al orden Cornales en Asteridales.

Tradicionalmente se ha considerado que Podostemaceae es parecida a Saxifragaceae en un conjunto de caracteres florales, entre otros el gineceo usualmente súpero, los estilos libres y numerosos óvulos anátropos. También algunos caracteres embriológicos sugieren las afinidades de la familia Podostemaceae con la familia Crassulaceae, como el suspensor haustorial altamente desarrollado (Kapil, 1970). *Crassula aquatica* (= *Tillaea aquatica* L.) presenta la forma más reducida de endospermo en la familia y por este carácter dicha especie parece ser un enlace morfológico entre Podostemaceae y Crassulaceae (Sculthorpe, 1967). van Royen plantea su acuerdo con Mauritzon (1933, en: van Royen, 1953) de que estas familias constituyen el final de una línea de evolución que empezó en Rosaceae y pasó a través de Crassulaceae y Saxifragaceae, ya que en esta secuencia se observa una creciente reducción del saco embrionario.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

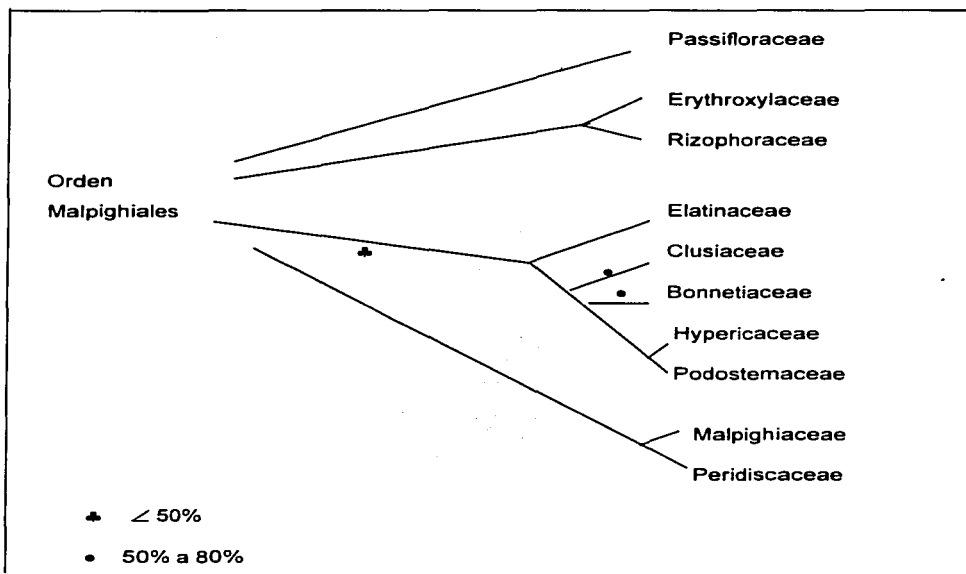
Romo-Contreras *et al.* (1993) encontraron que no hay similitud fitoquímica de Podostemaceae con Saxifragaceae y Crassulaceae; en cambio, una evidencia fitoquímica de que Podostemaceae está relacionada con Hypericaceae y Clusiaceae puede ser la presencia de xantonas agliconas las que, si bien se han encontrado en 8 familias de angiospermas, son más comunes en las familias Gentianaceae, Clusiaceae y Podostemaceae (Romo-Contreras *et al.*, 1993). Una evidencia morfológica en este sentido puede apreciarse en el androceo, ya que estos dos últimos grupos incluyen taxa polistémonos con inicio centrífugo de estambres (Rutishauser y Grubert, 1999). De acuerdo con Lobreau-Callen *et al.* (1998), varios caracteres del polen de la familia Podostemaceae se encuentran también entre representantes europeos avanzados del grupo Malpighiales, tales como las familias Violaceae y Euphorbiaceae.

Para establecer las relaciones filogenéticas de las Podostemaceae con otras familias de angiospermas, los primeros estudios que utilizaron el análisis de las secuencias de nucleótidos del gen *rbcL* del cloroplasto apoyaron las afinidades propuestas a partir de caracteres embriológicos. Así, Ueda *et al.* (1997) incluyeron tres especies de dos géneros (*Cladopus* e *Hydrobryum*) de podostemáceas asiáticas, junto a numerosos grupos de angiospermas y concluyeron que la familia Podostemaceae es grupo hermano de Crassulaceae, del cual puede ser un derivado altamente especializado. Este resultado apoya la hipótesis de Cronquist (1988) de que la familia Podostemaceae derivó de Saxifragaceae y de Crassulaceae. Los caracteres que han apoyado este criterio son las flores hipóginas, el ovario bicarpelar, los óvulos numerosos y las placentas agrandadas (Ueda *et al.*, 1997).

Sin embargo, otros análisis de filogenia molecular que utilizan secuencias de los genes *rbcL*, *matK* y 18S rDNA indican que la familia Podostemaceae pertenece al orden Malpighiales, en el grupo eurosids 1 y, aunque se requieren más datos moleculares, se sugiere que las familias más cercanas a Podostemaceae dentro de este grupo son Hypericaceae, Bonnetiaceae y Clusiaceae (Soltis *et al.*, 1999; Chase *et al.*, 2000; Savolainen *et al.*, 2000; Kita y Kato, 2001) (Fig. 1).

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

Figura 1. Relaciones filogenéticas de la familia Podostemaceae en el orden Malpighiales a partir de estudios moleculares.
(Apoyo de los agrupamientos con base en bootstrap).



(Stevens, 2001)

3.5 Relaciones filogenéticas intrafamiliares

Se han propuesto muy pocas ideas explícitas acerca de las relaciones filogenéticas en Podostemaceae (Rutishauser *et al.*, 1999); sin embargo, estudios recientes con diferentes enfoques van aportando datos para entender la evolución de este grupo. El análisis de la secuencia de nucleótidos del gen *rbcL* de cloroplastos muestra que los grupos basales en la familia son las subfamilias Tristichoideae, Weddellinoideae y los géneros del Nuevo Mundo *Apinagia*, *Marathrum*, *Mourera* y *Oserya* (subfamilia Podostemoideae) (Les *et al.* 1997; Kita y Kato, 2001).

Desde el punto de vista biogeográfico, se considera que un clado basal de origen asiático lo constituye Tristichoideae *sensu stricto*, en donde los géneros *Indotristicha* y *Dalzellia* son los más antiguos, mientras que la pantropical *Tristicha* (Australia, Madagascar, África y América tropical) es un elemento florístico de Gondwana (Cook y Rutishauser, en prensa). Además, la monofilia de Tristichoideae *sensu stricto* se apoya en algunas sinapomorfias: polen pantoporado, ovario tricarpelar y tres sépalos (Kita y Kato, 2001).

Podostemoideae y Weddellinoideae son grupos hermanos, separados de la subfamilia Tristichoideae, que comparten las siguientes sinapomorfias: *Weddellina* y casi todos los miembros de Podostemoideae tienen polen tricolporado y tricolpado, ovario bicarpelar y desarrollo similar del septo en el ovario; *Weddellina* a su vez, se distingue de Podostemoideae por el perianto diferente y porque carece de espátula. Además, en Podostemoideae se distingue un clado Americano basal cercano a *W. squamulosa* (con *Oserya* muy próxima a *Vanroyenella*, *Marathrum*, *Apinagia* y *Mourera*) y un clado Asiático-Australiano integrado por especies de *Cladopus*, *Hydrobryum*, *Polypleurum*, *Zeylanidium* y *Torrenticola*, que parece estar relacionado con dos especies americanas de *Podostemum* (*P. ceratophyllum* y *P. ricciiforme*). De manera preliminar se infiere que Podostemoideae se originó en América y se extendió al Viejo Mundo, probablemente en el Terciario, después de la separación de Gondwana, entre 63 y 21 millones de años atrás (Kita y Kato, 2001).

Aunque los conocimientos actuales no permiten una subdivisión confiable de la subfamilia Podostemoideae, algunos estudios comparados de fitoquímica (Romo-Contreras *et al.*, 1993), morfología (Rutishauser *et al.*, 1999), cariomorfología (Oropeza *et al.*, 1998, 2002) y de biología molecular (Les *et al.*, 1997; Kita y Kato, 2001), entre otros, revelan algunas características que pueden tener significado filogenético.

Romo-Contreras *et al.* (1993) analizaron los compuestos fenólicos (xantonas y antocianinas) de siete especies de Podostemaceae que se encuentran en México, para establecer si la fitoquímica comparada podría clarificar relaciones sistemáticas en la familia o con otras familias de angiospermas. Estos autores no detectaron xantonas en *Tristicha trifaria* pero sí encontraron un mismo tipo de xantona aglicona (y

mangostina) en *Marathrum haenkeanum*, *M. elegans*, *M. sp.*, *Podostemum ceratophyllum*, *Oserya coulteriana* y *Vanroyenella plumosa*. También en *P. ceratophyllum* registraron por primera vez un glicósido (y mangostina-6-O-glicósido). De igual manera, se detectaron dos tipos de antocianinas (flavonoides): la 5-glucósido 3-ramnósido pelargonidina en *Marathrum sp.* y la 3-glucósido cianidina en *P. ceratophyllum*; en *O. coulteriana*, *T. trifaria* y *V. plumosa* sólo se obtuvieron antocianinas parcialmente purificadas (Cuadro 1).

Cuadro 1. Compuestos fenólicos (xantonas y antocianinas) de 7 especies de la familia Podostemaceae en México (Romo-Contreras *et al.*, 1993).

Taxon	Antocianinas	Xantonas
<i>M. elegans</i>	-----	xantona aglicona
<i>M. haenkeanum</i>		
<i>M. sp.</i>	5-glucósido 3-ramnósido (pelargonidina)	(y mangostina)
<i>P. ceratophyllum</i>	3-glucósido cianidina	
<i>O. coulteriana</i>	antocianinas	
<i>V. plumosa</i>	parcialmente	
<i>T. trifaria</i>	purificadas	-----

Romo-Contreras *et al.* (1993) concluyeron que existe similitud entre *Marathrum-Oserya-Vanroyenella* por una parte y *Podostemum-Tristicha* por la otra. En este último caso *Podostemum* se separa por presentar xantona (cianidina) y *Tristicha* se mantiene separada de los otros géneros porque carece de xantonas detectables. Aunque los datos disponibles son escasos, se observa que las xantonas de *Mourera* (Burkhardt *et al.*, 1992) muestran un patrón de oxigenación diferente. Esto sugiere que la familia puede exhibir distribuciones taxonómicas o fitogeográficas propias de este carácter fitoquímico (Romo-Contreras *et al.*, 1993).

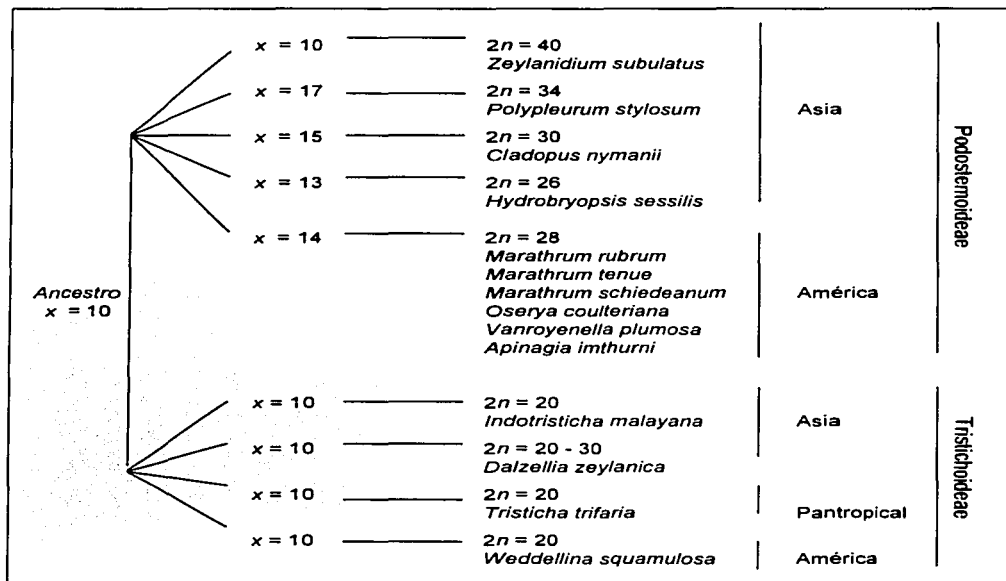
Caracteres vegetativos como el número de haces vasculares en el pedicelo y el desarrollo de la hoja y caracteres reproductivos como el número de estambres, el número de flores o la forma de los tépalos, sugieren una más estrecha afinidad de

Vanroyenella plumosa con *Marathrum tenue* que de esta última especie con *M. rubrum* o *M. schiedeanum* (Rutishauser *et al.*, 1999). Al respecto, la secuencia de datos del gen *rbcL* analizada por Les *et al.* (1997), en siete géneros de Podostemoideae y un género de Tristichoideae, indica que *Marathrum* y *Vanroyenella* son monofiléticos, pero los datos presentados por Rutishauser *et al.* (1999) sugieren que *Marathrum* puede ser parafilético.

Los números cromosómicos en Podostemaceae sólo se conocen para 18.4 % de los géneros y 4.8 % de las especies en el mundo (Oropeza *et al.*, 2002). Si bien Cronquist (1981) ha señalado que el número básico es $x = 10$ en Podostemoideae y $x = 5$ en Tristichoideae, Oropeza *et al.* (1998) consideran prematuras estas propuestas, ya que el estudio cariomorfológico realizado por Oropeza *et al.* (1998, 2002) en 4 géneros y 6 especies, muestra que en México *Marathrum rubrum*, *M. schiedeanum*, *M. tenue*, *Oserya coulteriana* y *Vanroyenella plumosa* (Podostemoideae) tienen como número básico $x = 14$ y *Tristicha trifaria* (Tristichoideae) presenta un número básico $x = 10$ (Fig. 2). Estos datos, entre otros caracteres morfológicos y moleculares apoyan la separación de *Tristicha* en la familia Tristichaceae, como propusieron Willis (1915), Cusset y Cusset (1988b) y Les *et al.* (1997).

Además, al comparar los resultados con los mencionados en la literatura para otros taxa de la familia (Fig. 2), se observó que Tristichoideae ($x = 10$) conforma una rama basal y se sugiere que en ésta el principal mecanismo de evolución cromosómica es la poliploidía; mientras que en la subfamilia Podostemoideae, cuyo rango de números base ($x = 10, 13-15$ y 17) indica no sólo que es la más diversa y derivada en la familia, sino que la poliploidía probablemente ha desempeñado un papel en la evolución del grupo y el principal mecanismo de evolución genómica es la aneuploidía (quizá disploidía) (Oropeza *et al.*, 2002).

Figura 2. Patrones de números cromosómicos en Podostemoideae y Tristichoideae.

(Oropeza *et al.*, 2002)

Cook y Rutishauser (en prensa) han dividido a los géneros de Podostemoideae en grupos geográficos porque no se encuentran géneros de esta subfamilia en más de un continente (excepto *Cladopus*, en su más amplia circunscripción). Esta apreciación es señalada también por Oropeza *et al.* (2002), quienes infieren que el tamaño del genoma parece seguir un patrón geográfico, ya que los taxa asiáticos tienen genomas marcadamente largos, comparados con los taxa de América, lo que representa una condición derivada en Podostemoideae.

3.6 Planteamiento del problema

Los caracteres embriológicos que definen a las podostemáceas se obtuvieron del estudio de sólo 10% de los taxa (27 especies) (Jäger-Zürn, 1997) y a menudo la

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

información disponible está incompleta (Battaglia, 1971). En este sentido, se puede decir que los géneros que se encuentran en África y América se conocen muy poco (Jäger-Zürn, 1997; Murguía *et al.*, 2001). A partir del último tercio del siglo XX se incrementaron las investigaciones acerca del desarrollo (incluyendo el floral) (Jäger-Zürn, 1999; Rutishauser 1997; Rutishauser *et al.*, 1999) y de la biología reproductiva (Philbrick, 1984; Philbrick y Novelo, 1994, 1997, 1998; Khosla *et al.*, 2000), pero aún se necesita investigación con fines de comparación.

Los caracteres que permiten reconocer las subfamilias Tristichoideae, Podostemoideae y Weddellinoideae son principalmente el número de carpelos y de estigmas, presencia o ausencia de estilo, tiempo de formación de los tegumentos y del plasmodio nucelar y el tipo de células nucleares que participan en el desarrollo del plasmodio nucelar (Nagendran *et al.*, 1977; Arekal y Nagendran, 1977b; Jäger-Zürn, 1997) (Cuadro 2).

Cuadro 2. Caracteres embriológicos que distinguen a las subfamilias de Podostemaceae.

Caracteres	Podostemoideae	Weddellinoideae	Tristichoideae
Número de carpelos	Dos		Tres
Número de estigmas			
Forma de los estigmas	Alargada	Globosa	Alargada
Estilo	Ausente	Presente	Ausente
Formación de tegumentos	Asincrónica		Sincrónica
Formación del plasmodio nucelar	Antes de la fecundación		Después
Células nucleares en el plasmodio	Adyacentes a cálaza	Sólo laterales	Adyacentes a la cálaza

La fase reproductiva en Podostemaceae se conoce parcialmente ya que se ha investigado casi únicamente la ontogenia del saco embrionario y del plasmodio nucelar y, aunque el desarrollo de los órganos que sostienen el crecimiento y diferenciación de las células sexuales se ha descrito someramente (Went, 1908; Magnus, 1913; Razi, 1949; Chopra y Mukkada, 1966; Jäger-Zürn, 1997), no ha sido analizado comparativamente al nivel intrafamiliar.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

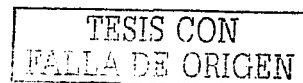
Aunque Magnus (1913) señaló que las investigaciones embriológicas permitirían averiguar si el desarrollo en toda la familia coincide totalmente o si se ajusta a una u otra de las líneas evolutivas dentro de la familia, actualmente no hay estudios embriológicos suficientes “que muestren la amplitud de las variación en el desarrollo y organización de las unidades reproductivas femenina y masculina” (Raghavan, 1997) en la familia Podostemaceae.

3.7 Las podostemáceas mexicanas

En México, el espectro de hábitats acuáticos que sostienen el desarrollo de las angiospermas con adaptaciones a este medio es muy amplio. Por ejemplo, los arrecifes de coral contienen una notable diversidad de pastos marinos y en el entorno salobre de las lagunas costeras se establecen grandes extensiones de manglares, mientras que en los espejos continentales, las comunidades de agua dulce están ampliamente distribuidas en pantanos, planicies inundadas, ríos, lagos, estanques y manantiales. La distribución de estos ecosistemas tanto en latitudes bajas y cálidas como en latitudes altas y frías ha desempeñado un papel muy importante en el desarrollo de las comunidades acuáticas (Lot *et al.*, 1993).

En la flora acuática de México, las familias Podostemaceae y Nymphaeaceae están entre las dicotiledóneas más numerosas, con cerca de 10 especies cada una. Aunque las podostemáceas mexicanas se conocen muy poco, los trabajos de Novelo y Philbrick (1997, 2000) son contribuciones recientes a la taxonomía de este grupo. En nuestro país se establecen cinco géneros y ocho especies, de los cuales cuatro géneros y siete especies pertenecen a la subfamilia Podostemoideae y un género monoespecífico pertenece a la subfamilia Tristichoideae: (Novelo y Philbrick, 1997) (Cuadro3).

Todas las especies que se establecen en México se encuentran en el límite norte de la distribución tropical de la familia Podostemaceae en el Nuevo Mundo. A continuación se incluye la descripción de acuerdo a Novelo y Philbrick (1997) de las especies estudiadas en la presente investigación.



Cuadro 3. Géneros y especies de la familia Podostemaceae presentes en México.

Géneros	Especies
<i>Marathrum</i> Humb. & Bonpl.	<i>M. rubrum</i> Novelo y Philbrick <i>M. schiedeanum</i> (Cham.) Tul. <i>M. tenue</i> Liebm
<i>Oserya</i> Tul. & Wedd.	<i>O. coulteriana</i> Tul. <i>O. longifolia</i> Novelo y Philbrick
<i>Podostemum</i> Michx.	<i>P. ricciiforme</i> (Liebm.) P. Royen
<i>Tristicha</i> Du Petit-Thouars	<i>T. trifaria</i> (Bory ex Wild.) Spreng.
<i>Vanroyenella</i> Novelo y Philbrick	<i>V. plumosa</i> Novelo y Philbrick

Subfamilia Podostemoideae

1. *Marathrum* Humb & Bonpl.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

Es un género del Nuevo Mundo conformado por casi 25 especies que se distribuyen en México, América Central y porciones noroccidentales de Sudamérica y las Antillas (van Royen, 1951). En México Novelo y Philbrick (1997) reconocen 3 especies de *Marathrum*: *M. rubrum*, *M. schiedeanum* y *M. tenue*.

Las especies mexicanas de *Marathrum* pueden crecer junto a *Tristicha trifaria*. En la vertiente Atlántica, *M. tenue* comúnmente se asocia con *Podostemum ricciiforme*, mientras que *M. schiedeanum* a menudo se encuentra con *Oserya coulteriana* y *Vanroyenella plumosa*. Generalmente se establece una especie por río, aunque en algunos ríos de Oaxaca pueden coexistir tres especies (Novelo y Philbrick, 1997). En unos pocos ríos, como el río Horcones, Jalisco, se han recolectado cuatro diferentes especies que corresponden a cuatro géneros de podostemáceas diferentes.

El género *Marathrum* contiene especies anuales o perennes. Son hierbas pequeñas o grandes, postradas, aplanadas y pequeñas, con raíces alargadas. Tienen un talo postrado alargado y grueso. Hojas alternas; pecíolo cilíndrico o ligeramente comprimido; lámina pinnada, repetidamente bifurcada o subentera con unos pocos lóbulos a lo largo del margen, pinnas primarias alternas o subopuestas, las divisiones posteriores capiláceas, filiformes o espatuladas. Flores hermafroditas, actinomorfas o zigomorfas, pediceladas, surgiendo axilarmente de entre la base de las hojas, solitarias o

en fascículos, cubiertas por una espátula en forma de saco. La espátula es clavada. Los pedicelos se alargan durante y después de la antesis, con o sin un ápice expandido formando una estructura en forma de copa en torno a la base de la cápsula. Tépalos 3 a 10, con apariencia de escama, alternos con los estambres. Estambres 2 a 11, libres, en un verticilo que circunda el pistilo o sobre un lado del mismo, deciduos, anteras basifijas, con dehiscencia introrsa o latrorsa. El polen se libera en mónadas. Ovario bilocular. Estigmas 2, libres o basalmente fusionados, cónicos; óvulos numerosos, placenta axilar. Cápsulas biloculares, con valvas iguales, persistentes, cada una con 3 a 4 costillas, márgenes de la sutura engrosados. Semillas numerosas.

Marathrum rubrum Novelo & Philbrick (Fig. 3) es una hierba perenne. Sus raíces son alargadas, postradas y aplanadas, de hasta 1 mm de diámetro. Hojas hasta de 20 cm de largo y de color usualmente rojo brillante en las superficies abaxial y adaxial; los pecíolos son cilíndricos a ligeramente aplanados; lámina con un prominente raquis central expandido, repetidamente pinnado, las pinnas primarias a menudo alternas, las divisiones posteriores son capiláceas, de (0.6)1.2 a 4.5 mm de largo, de 0.02 a 0.06 mm ancho, ápice agudo. Pedicelos de 3 a 5.5 cm de largo, con un ápice expandido formando una estructura parecida a una copa en torno a la base de la cápsula, dicha estructura con 1.5 a 2 mm de diámetro y con un borde irregular. De 7 a 9(11) tépalos, 0.5 a 0.9 mm de largo, triangulares, alternos con los estambres. Estambres de 7 a 9(11), en un anillo que rodea al pistilo; los filamentos 2.3 a 4(9) mm de largo; anteras 1.5 a 2.8 mm largo. Estigmas 0.6 a 1.5 mm de largo. Cápsulas 4.5 a 5(6) mm de largo y 1.7 a 2.2 mm de diámetro; cada valva con tres costillas. En promedio 676 semillas por cápsula.

Distribución: *Marathrum rubrum* es endémica de las partes bajas de la Costa Pacífica de México (por debajo de los 400 m). Ha sido recolectada sólo en algunos ríos de Jalisco y Guerrero, donde pueden encontrarse junto a *O. coulteriana*, *T. trifaria* y *V. plumosa*.

Las muestras estudiadas corresponden a: **GUERRERO:** Mpio. Cuauhtepic, río El Velero, en el poblado de Coacoyulichan, a 13 km al norte de Cuauhtepic cerca de Cruz Grande, altitud aproximada: 370 m Novelo 1361, Philbrick, Crow y Oropeza, diciembre 5/1994; Murguía

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

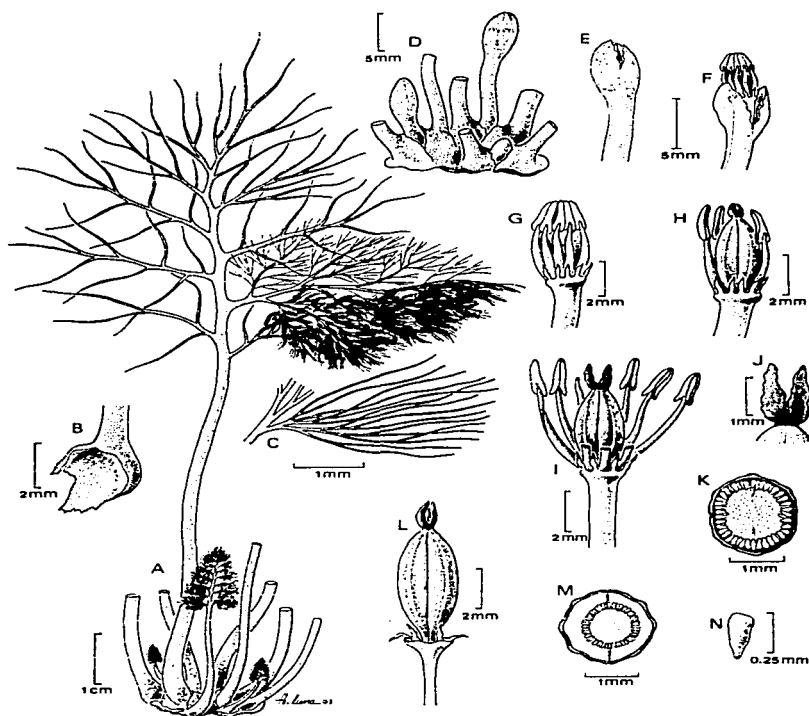


Figura 3. *Marathrum rubrum*. A. Hábito. B. Base de la hoja con pecíolo. C. Divisiones de la hoja. D. Flores jóvenes emergiendo de entre las bases foliares, cada flor cubierta por una espátula. E. Ruptura de la espátula de un botón floral. F. Flor emergiendo de la espátula rota. G. Flor antes de la dehiscencia de las anteras y receptividad del estigma (se observan los tépalos). H. Flor con tres estambres (seis fueron removidos). I. Flor en anthesis mostrando la orientación de los estigmas y las anteras al momento de la dehiscencia (se removieron tres estambres). J. Estigmas maduros. K. Vista transversal del ovario mostrando la placenta y los numerosos óvulos. L. Cápsula con el ápice del pedicelo expandida; los filamentos ya se cayeron. M. Vista transversal de la cápsula mostrando las costillas, los puntos de dehiscencia de las valvas y los puntos de unión de la valva a la placenta. N. Semilla.

(Novelo y Philbrick, 1993)

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

374, Oropeza y Wong, noviembre 17/1995; JALISCO: Mpio. Cabo Corrientes. Río Horcones (bajo el puente), aproximadamente 27 km al sur de Puerto Vallarta, altitud aproximada 350 m, Novelo 1825, Ramos, Oropeza, Murguía 379 y García, marzo 18/1997.

2. *Oserya* Tul. & Wedd.

Es un género del Nuevo Mundo con siete especies (van Royen, 1954; Novelo y Philbrick, 1995). En México sólo se establecen *Oserya coulteriana* y *O. longifolia*. Cinco especies se encuentran en el norte de Brasil y noreste de Sudamérica. Cuatro de estas especies se conocen únicamente de los ejemplares tipo (Philbrick y Novelo, 1995).

Las especies mexicanas de *Oserya* varían en algunos caracteres comparadas con sus equivalentes en Sudamérica. En las especies de México la dehiscencia es introrsa, mientras que en las especies sudamericanas la dehiscencia es típicamente extrorsa. *Oserya coulteriana* a menudo se asocia con *Marathrum schiedeianum*.

El género *Oserya* contiene especies anuales o perennes. Son hierbas pequeñas con raíces alargadas, postradas y aplanadas. Los tallos surgen lateralmente a lo largo de las raíces, opuestos o subopuestos. Hojas dísticas; pecíolo cilíndrico o aplanado, hoja repetidamente bifurcada, a veces con una vaina y una estípula interpeciolar. Flores hermafroditas, zigomorfas, pediceladas, solitarias, axilares, cubiertas por una espátula en forma de saco o en forma de clava. Tépalos 2, con apariencia escamosa. Estambres 1 a 2, deciduos; anteras basifijas, con dehiscencia introrsa, extrorsa a lateral. Polen liberado en mónadas. Ovario bilocular, con 2 carpelos desiguales. Estigmas 2, libres o basalmente fusionados, cónicos; óvulos numerosos; placenta axilar. Cápsula bilocular, con 2 valvas desiguales, una de las valvas a veces caduca, 6 a 14 costillas, los márgenes de sutura engrosados. Semillas numerosas.

Oserya coulteriana Tul. (Fig. 4) es una hierba pequeña, anual o perenne. Sus raíces son postradas y aplanadas, de hasta 15 cm de largo, 0.5 a 1.8 mm de diámetro. Hojas 2 a 10 cm de largo; pecíolos aplanados; lámina 3 a 5(6) veces dividida, las últimas divisiones 0.1 a 0.3 mm de ancho, ápice agudo. Tépalos (2)3(4), subulados, tépalos laterales 0.7 a

1.5 mm de largo, tépalo sobre el andropodio 0.4 a 0.8 mm de largo. Estambres (1)2(3); andropodio 0.9 a 1.5 mm de largo, filamentos 0.4 a 1.4 mm de largo; anteras 0.4 a 1.1 mm de largo. Estigmas 0.2 a 0.6 mm de largo. Pedicelos 1.5 a 7 mm de largo. Cápsulas 1.6 a 2.8 mm de largo y 0.8 a 1.2 mm de diámetro; valvas con tres costillas. En promedio 30 semillas por cápsula.

Distribución: *Oserya coulteriana* es endémica de México. Se distribuye en la vertiente del Pacífico, desde Sonora hasta Guerrero, Morelos y en Baja California Sur. La especie se encuentra desde el nivel del mar hasta los 2 000 msnm.

Las muestras estudiadas corresponden a: **GUERRERO:** Mpio. Placeres del Oro. Río del Oro, junto al poblado Placeres del Oro, aproximadamente 30 km al suroeste de Cd. Altamirano, altitud: 250 m, *Novelo 1449, Ramos, Rutishauser, Oropeza y Murguía 376*, marzo 19/1996; **JALISCO:** Mpio. Cabo Corrientes. Río Horcones (bajo el puente), aproximadamente 27 km al sur de Puerto Vallarta, altitud: 350 m. *Novelo 1826, Ramos, Oropeza, Murguía 380 y García*, marzo 18/1997. Mpio. El Tuito. Río Las Juntas, 2 km al sur de El Tuito, rumbo a Chamela, altitud: 100 m, *Novelo 1830, Ramos, Oropeza, Murguía 382 y García*, marzo 20/1997.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

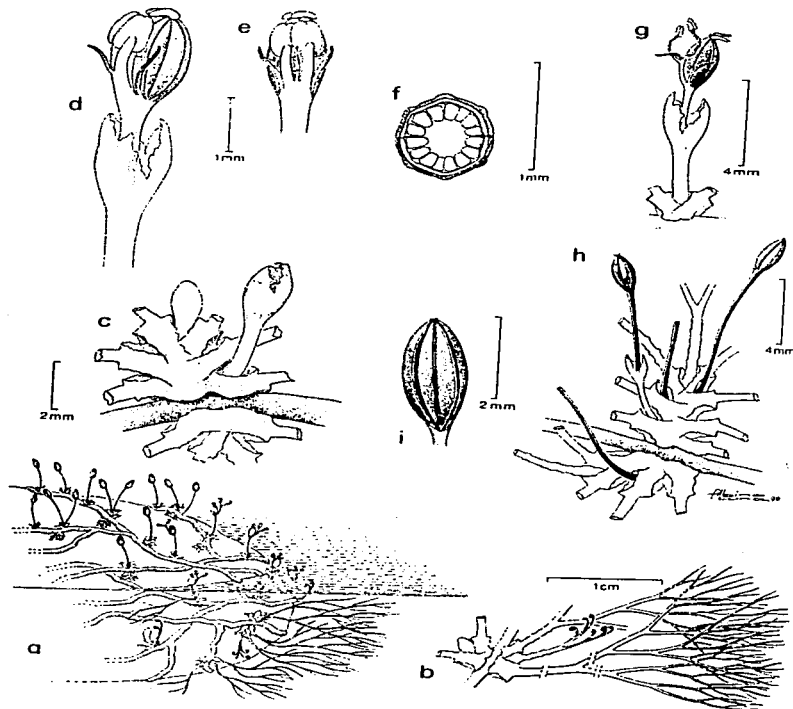


Figura 4. *Oserya coulteriana* Tul. a. Aspecto general de la planta. b. Detalle de una raíz de la que emergen nuevos vástagos con hojas sumergidas. c. Detalle de las vainas dobles de las hojas en donde emergen las flores. d. Flor joven emergiendo de la espata. e. Flor joven vista por el lado donde se encuentra el androceo. f. Corte transversal del ovario. g. Flor madura. h. Planta expuesta al aire con frutos maduros. i. Detalle de la cápsula.
(Novelo y Philbrick, 2000).

3. *Podostemum Michx.*

Es un género con alrededor de 21 especies (Philbrick y Novelo, 1995). Su distribución es principalmente tropical (van Royen, 1954; Mathew y Satheesh, 1997). El género se extiende desde el noreste de América del Norte, a través de las Antillas, México, América Central, hasta el sur de Brasil, Uruguay, Paraguay y norte de Argentina. En Ceylán e India se mencionan tres especies, pero su posición en *Podostemum* no está clara, aunque muchos autores las consideran dentro de *Zeylanidium* (van Royen, 1954; Cusset, 1992; Mathew y Satheesh, 1997). *Podostemum ceratophyllum* Michx. es la única especie de clima templado (Philbrick y Crow, 1983). *Podostemum ricciiforme* es la especie representante del género en México (Novelo y Philbrick, 1997).

Podostemum es un género perenne que se caracteriza por tener sus raíces alargadas, postradas y aplanadas. Los tallos surgen opuestos a lo largo de los márgenes de raíces ramificadas. Las hojas son dísticas, enteras o repetidamente bifurcadas, a veces insertas de manera oblicua, con una estípula intrapeciolar. Las flores son hermafroditas, zigomorfas, pediceladas, solitarias, axilares, cubiertas por una espátela en forma de saco. La espátela es clavada. Los tépalos son 3, con apariencia escamosa, uno a cada lado del andropodio y el tercer tépalo en la bifurcación entre los dos filamentos. Estambres 2, surgiendo de un andropodio, decúduos, anteras basifijas, con dehiscencia introrsa o latrorsa. El polen es liberado en diadas. Ovario bilocular, con dos carpelos desiguales. Estigmas 2, libres, cónicos; óvulos numerosos, placenta axilar. Cápsulas biloculares, con dos valvas desiguales, una de las valvas caduca, y con 3 a 8 costillas, los márgenes de la sutura engrosados. Semillas numerosas.

Podostemum ricciiforme (Liebm.) P. Royen. (Fig. 5) es una hierba pequeña, perenne. Sus raíces son postradas y aplanadas, de 0.4 a 1.4 mm de diámetro, ramificadas, creciendo entretejidas. Tallos erectos hasta de 2 cm de largo, a veces divididos. Hojas jóvenes sésiles, espatuladas, hojas maduras pecioladas hasta de 8 mm de largo; pecíolos hasta de 2.5 mm de largo; lámina 1 a 3 dividida, las últimas divisiones de 0.3 a 1.2 mm de ancho, ápice redondeado. Tépalos lineares, los laterales de 0.55 a

0.9 mm de largo, tépalo sobre el andropodio de 0.5 a 0.8 mm de largo. Andropodio de 1.3 a 2.5 mm de largo; filamentos de 0.4 a 0.7 mm de largo; anteras de 0.45 a 0.6 mm de largo. Estigmas de 0.35 a 0.6 mm de largo. Pedicelos de 0.8 a 4 mm de largo. Cápsulas de 1.2 a 1.9 mm de largo y de 0.8 a 1.2 mm de diámetro; 2 valvas, cada una con tres costillas. Raramente produce semillas.

Distribución: *Podostemum ricciiforme* es endémica de la vertiente Atlántica de México, principalmente en los estados de Oaxaca, Puebla, Tabasco y Veracruz, desde el nivel del mar hasta los 1500 m.

Las muestras estudiadas corresponden a: **TABASCO:** Mpio. Huimanguillo. Río Pedregal, a la altura de la población Carlos A. Madrazo, en los límites de los estados de Veracruz y Tabasco altitud: 127 m, *Novelo 2066* y *Ramos*, febrero 9/1998.

4. *Vanroyenella* Novelo & Philbrick

Es un género monotípico endémico de México (Novelo y Philbrick, 1993). Se caracteriza por ser anual; sus raíces alargadas están postradas y son aplanadas, lo mismo que el tallo. Las hojas estipuladas, surgen en grupos opuestos o subopuestos a lo largo del tallo. Pecíolos anchos en la base; lámina con un prominente raquis central expandido, ensiforme, plumosa, las divisiones más pequeñas a lo largo de los márgenes del raquis y capiláceas, enteras o posteriormente divididas; el ápice de las divisiones agudo. Inflorescencia fasciculada, piramidal, pedunculada. Flores de 4 a 10, hermafroditas, zigomorfas, emergiendo secuencialmente en pares, cubiertas por una spatela delgada en forma de saco. Tépalos 3, libres, subulados. Estambres 2, libres, alternos con los tépalos, confinados a un lado de la flor; los filamentos se elongan durante la antesis, posteriormente se endurecen y permanecen adheridos al receptáculo incluso hasta la maduración del fruto, anteras basifijas, con dehiscencia introrsa o latrorsa. Polen liberado en mónadas. Ovario bilocular. Estigmas 2, libres, cónicos; óvulos numerosos, placenta axial. Cápsulas biloculares, con dos valvas iguales, persistentes, cada una con tres costillas, los márgenes de la sutura engrosados. Semillas numerosas.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

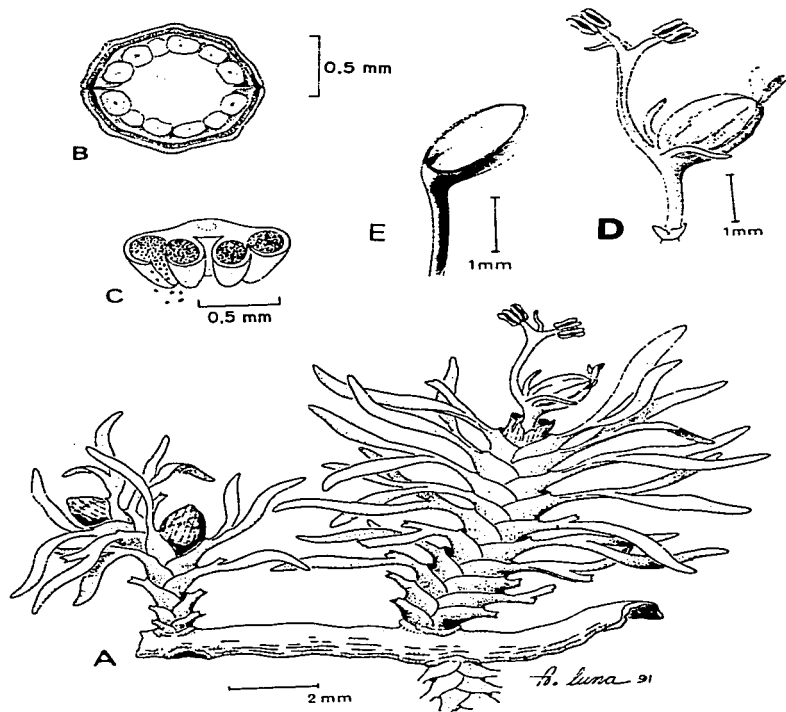


Figura 5. *Podostemum riccifforme*. A. Hábito. B. Vista transversal del ovario mostrando la placenta y los óvulos. C. Sección transversal de la antera. D. Vista lateral de la flor madura (se observan los estigmas, el ovario, el andropodio con dos estambres y tres tépalos. Se ha retirado la espátula). E. Cápsula madura dehiscente mostrando la valva persistente de la cápsula.

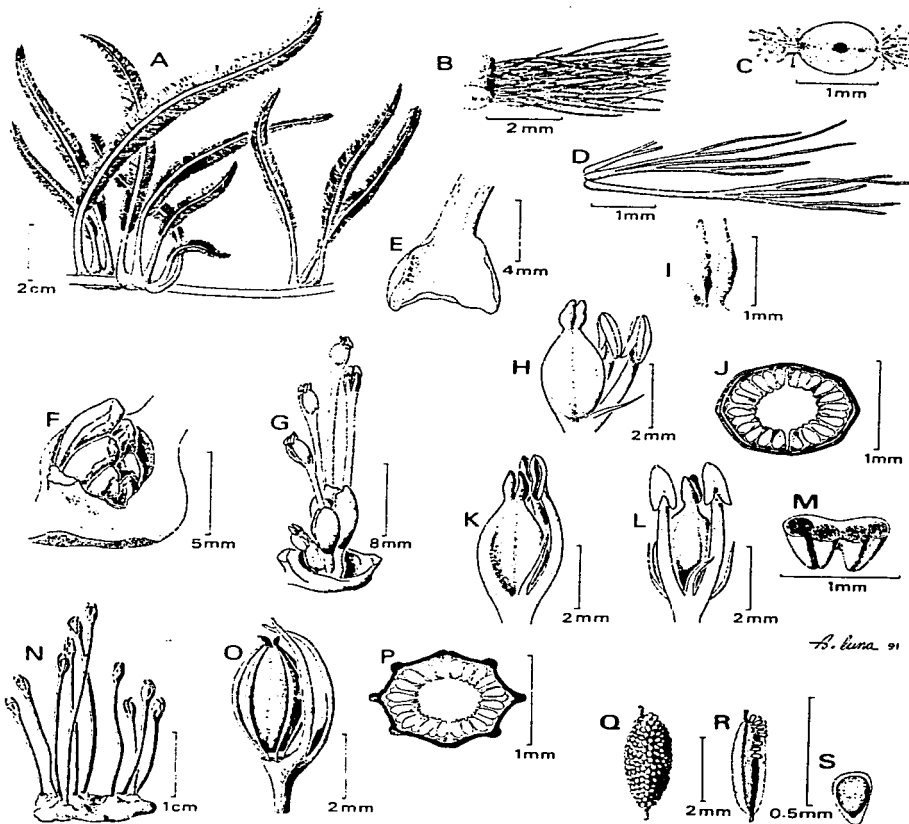
(Novelo y Philbrick, 1997).

Vanroyenella plumosa Novelo & Philbrick. (Fig. 6) es una hierba anual. Tiene raíces de hasta 8 mm de diámetro. De 1 a 5 hojas, de 4 a 12 cm de largo, de 0.8 a 1 cm de ancho; la base del pecíolo hasta tres veces más ancha que el pecíolo, pecíolos de 1 a 3 cm; ápice de la hoja de agudo a obtuso, las divisiones más pequeñas hasta 6 mm de largo y 0.1 mm de ancho, enteras ó 1 a 3 veces divididas. Pedúnculos más largos en las flores que emergen primero (hasta 3 cm) que en las que emergen posteriormente (ca. 1 cm). Pedicelos más largos en las flores que emergen primero (hasta 3 cm), que en las que emergen después. Tépalos 1.8 a 2.2 mm de largo. Anteras 1 a 1.5 mm de largo; filamentos 3.5 a 5 mm de largo. Estigmas 0.6 a 1.3 mm de largo. Cápsulas (2.8)3.5 a 4.2 mm de largo y 1.2 a 1.7 mm de diámetro. En promedio 333 semillas por cápsula.

Vanroyenella plumosa a menudo comparte el hábitat con especies de *Marathrum*, *Oserya coulteriana* y *Tristicha trifaria*. Sin embargo, *V. plumosa* está restringida a áreas donde la corriente es más rápida y se encuentra en las partes más altas de las rocas con relación a otras podostemáceas. *Vanroyenella plumosa* se caracteriza por su lámina plumosa, por las divisiones filamentosas de las hojas que surgen dísticas de la costilla central hinchada, sus inflorescencias en fascículos y los filamentos del estambre que se endurecen luego de la antesis y permanecen adheridos aún cuando el fruto ha madurado (Novelo & Philbrick, 1993).

Distribución: *Vanroyenella plumosa* se conoce de dos localidades, una en Jalisco y la otra en Oaxaca, ambas localidades se encuentran en la vertiente del Pacífico, en altitudes de 200 a 800 m.

Las muestras estudiadas corresponden a: **OAXACA:** Mpio. San Gabriel Mixtepec. Río El Casquito o Ranita, 3.3 km al norte de San Gabriel Mixtepec y a 48 km al norte de Puerto Escondido, altitud: 670 m, *Novelo 1392, Philbrick, Crow y Oropeza*, diciembre 10/1994; *Murguía 373, Oropeza y Wong*, noviembre 16/1995; *Novelo 1821, Ramos, Oropeza y Murguía 377*, diciembre 2/1996; **JALISCO:** Mpio. Cabo Corrientes. Río Horcones, (bajo el puente), aproximadamente a 27 km al S de Puerto Vallarta rumbo a Manzanillo, altitud: 350 m, *Novelo s/n*, marzo 15/1995; *Novelo 1828, Ramos, Oropeza, Murguía 381 y García*, marzo 19/1997.



A. Luna 91

Figura 6. *Vanroyenella plumosa*. A. Hábito. B. Detalle de la hoja, se observa el raquis y sus divisiones. C. Vista transversal del raquis. D. Divisiones filiformes de la hoja. E. Base foliar con peciolo. F. Inflorescencia joven emergiendo entre la base de las hojas; cada flor está cubierta por una espátula. G. Inflorescencia madura. H. Flor joven antes de la dehiscencia de la antera y receptividad del estigma; la espátula se ha retirado. I. Estigmas maduros. J. Vista transversal del ovario bicarpelar mostrando la placenta y óvulos numerosos. K. Flor madura mostrando la orientación de los estigmas y las anteras dehiscentes. L. Vista adaxial de la flor madura mostrando estambres y tépalos. M. sección transversal de la antera. N. Vista general de la planta mostrando frutos maduros que se proyectan del tallo postrado. O. Detalle del fruto mostrando los filamentos persistentes y su adnación al pedicelo. P. Vista transversal del fruto maduro, se observan las costillas, puntos de dehiscencia de la cápsula y semillas adheridas a la placenta. Q. Placenta con semillas maduras. R. Placenta con semillas retiradas. S. Semilla.

(Novelo and Philbrick, 1993).

Subfamilia Tristichoideae

5. *Tristicha* Du Petit-Thouars

Hierba anual o perenne con apariencia de musgo, ramificada. Raíces alargadas, postradas y delgadas, aplanadas, brotes radiculares endógenos que dan lugar a tallos en la superficie adaxial. Hojas escamosas, arregladas en ramuli, generalmente trísticas, sésiles, membranosas, sin nervaduras o con sólo una nervadura. Flores hermafroditas, protegidas por dos brácteas. Tépalos 3, persistentes, usualmente unidos en la base. Estambres 1(2), filamentos delgados, anteras basifijas con dehiscencia introrsa y latrorsa. Polen liberado en mónadas. Ovario trilocular. Estigmas 3, libres, cilíndricos; óvulos numerosos, placenta axial. Cápsulas con tres valvas iguales, persistentes, cada una con tres costillas, márgenes de la sutura no engrosados. Semillas numerosas.

Tristicha trifaria (Bory ex Willd.) Spreng. (Fig.7) es una hierba perenne con raíces postradas, de 0.3 a 1.2 mm de diámetro. Tallos erectos, 1 a 11 cm de largo. Hojas 0.6 a 1.7(7) mm de largo y 0.4 a 0.9 mm de ancho, ápice agudo a redondeado. La bráctea inferior en la base del pedicelo 1.1 a 2.8 mm de largo, la bráctea floral superior 1 a 2.6 mm de largo. Pedicelos 0.15 a 1.5 cm de largo. Tépalos 1.3 a 2 mm de largo, unidos en la base. Estambres 1(2); filamentos 0.8 a 1.9 mm de largo; anteras 0.3 a 0.6(0.9) mm de largo. Estigmas 0.2 a 0.6(0.7) mm de largo. Cápsulas 1 a 2 mm de largo y 0.7 a 1.5 mm de diámetro; valvas con (2)3 costillas. Semillas 0.18 a 0.24 mm de largo y 0.10 a 0.14 mm de ancho. 30 semillas por cápsula).

T. trifaria es la única especie de este género que se encuentra en el Nuevo Mundo. Se encuentra ampliamente distribuída en el trópico y subtrópico de América, África y Madagascar. Aunque Cusset y Cusset (1988b) señalan que en México se encuentran dos subespecies de *T. trifaria* (ssp. *trifaria* y ssp. *tlatlayana* (Matuda) C. & G. Cusset), Novelo y Philbrick (1997) no reconocen distinciones subespecíficas en *T. trifaria* en México.

Distribución: *Tristicha trifaria* es la podostemácea más común en México, ya que se establece tanto en la vertiente del Pacífico (desde Nayarit hasta Chiapas) como en la

vertiente del Atlántico (desde San Luis Potosí hasta el sureste de Veracruz) y en el estado de México, en la parte central del país. Se encuentra desde el nivel del mar hasta 1 300 m.

Las muestras estudiadas corresponden a **OAXACA**: Mpio. Santa María Jacatepec. Río de Rancho Alegre, *Novelo 1435, Ramos, Rutishauser, Oropeza y Murguía 375*, marzo 13/1996; Mpio. San Gabriel Mixtepec. Río El Casquito o Ranita 3.5 km al norte de San Gabriel Mixtepec, altitud: 670 m. *Novelo 1823, Ramos, Oropeza y Murguía 378*, diciembre 3/1996.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

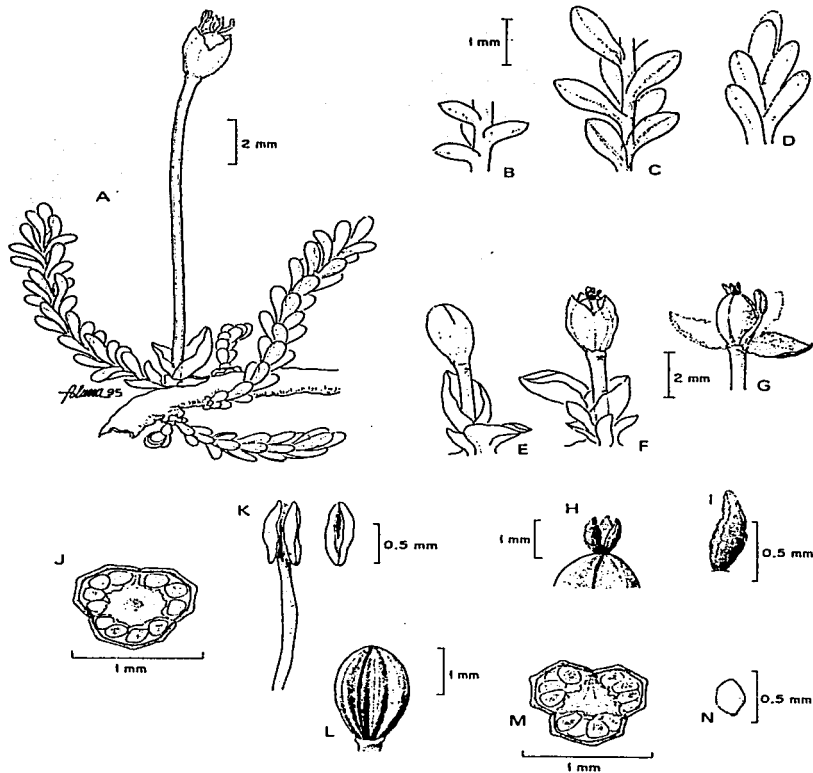


Figura 7. *Tristicha trifaria*. A. Hábito. Base del pedicelo surgiendo entre dos brácteas. B, C, D. Porciones de un tallo, desde la base al ápice. E. Botón floral emergiendo entre dos brácteas. F. Flor madura con perianto. G. Flor madura con partes del perianto desplazadas para mostrar el estambre. H. Ápice del ovario mostrando tres estigmas lineares al momento de la anthesis. I. Un estigma maduro. J. Sección transversal del ovario tricarpelar mostrando la placenta y numerosos óvulos. K. Vista adaxial del estambre y vista lateral de la antera. L. Cápsula madura. M. Sección transversal de una cápsula mostrando las costillas y puntos de dehiscencia de las valvas de la cápsula. N. Semilla.

(Novelo y Philbrick, 1997).

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

4. Metodología

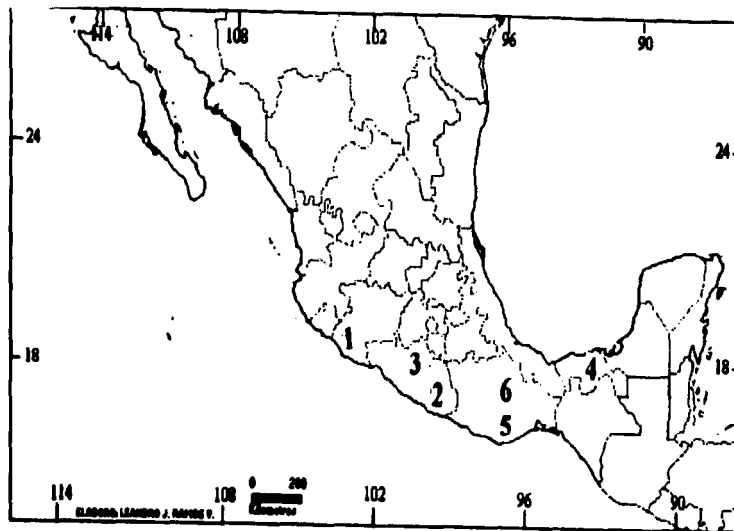
4.1 Trabajo de campo

De 1995 a 1998, durante la época de secas (de noviembre a marzo), se recolectaron diferentes etapas del desarrollo floral (desde primordios florales, hasta flores en antesis) de cuatro especies de la subfamilia Podostemoideae que se encuentran en México: *Marathrum rubrum*, *Oserya coulteriana*, *Podostemum ricciiforme* y *Vanroyenella plumosa* y de una especie de la subfamilia Tristichioideae: *Tristicha trifaria*. Se visitaron los ríos Horcones, Jalisco; El Veleró y Placeres del Oro, Guerrero; Casquito o Ranita y Rancho Alegre, Oaxaca; Pedregal, Tabasco (Fig. 8). Las muestras se obtuvieron de plantas que se encontraban creciendo sobre diferentes rocas en cada río; se visitaron dos localidades diferentes o se cubrieron al menos dos períodos de floración para cada especie, excepto *P. ricciiforme* de la que sólo se estudió una población (Cuadro 4). Se recolectaron muestras en áreas de aproximadamente 5 cm² y siguiendo transectos de 0 a 5 cm y 5 a 10 cm de profundidad. Los ejemplares de referencia se depositaron en el Herbario Nacional de México (MEXU), del Instituto de Biología de la Universidad Nacional Autónoma de México.

Se estudió el desarrollo de los fascículos florales de *V. plumosa* y se comparó con el desarrollo floral de las cuatro restantes: *M. rubrum*, *O. coulteriana*, *P. ricciiforme* y *T. trifaria*. Las muestras de *V. plumosa* se dividieron en cinco etapas de desarrollo: **etapa I)** fascículos tempranos inmersos en la región basal expandida del tallo postrado, no visibles sobre su superficie; **etapa II)** fascículos visibles sólo como protuberancias sobre la superficie del tallo postrado materno (Fig. 17); **etapa III)** fascículos emergiendo menos de 5 mm en el tallo postrado; **etapa IV)** fascículos emergiendo más de 5 mm sobre el tallo postrado (Fig. 18); **etapa V)** fascículos en antesis, sobre pedicelos alargados (Fig. 14). En el resto de las especies estudiadas se formaron igual número de grupos tomando como base únicamente el tamaño, ya que se producen flores solitarias.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

Figura 8. Mapa de localidades y especies de la familia Podostemaceae recolectadas para el presente estudio.



- | | |
|--------------------------------|---|
| 1. Río Horcones, Jal. | (<i>Marathrum rubrum</i> , <i>Oserya coulteriana</i> , <i>Vanroyenella plumosa</i>) |
| 2. Río El Veleiro, Gro. | (<i>Marathrum rubrum</i>) |
| 3. Río Placeres del Oro, Gro. | (<i>Oserya coulteriana</i>) |
| 4. Río Pedregal, Tab. | (<i>Podostemum ricciiforme</i>) |
| 5. Río Casquito o Ranita, Oax. | (<i>Tristicha trifaria</i> , <i>Vanroyenella plumosa</i>) |
| 6. Río Rancho Alegre, Oax. | (<i>Tristicha trifaria</i>) |

En *M. rubrum* y *V. plumosa* las muestras florales fueron extraídas del tallo en el campo directamente, mientras que las pequeñas dimensiones de *O. coulteriana*, *P. ricciiforme* y *T. trifaria* obligaron a recolectar fragmentos de la planta madre con el fin de realizar disecciones en el laboratorio para extraer el material a estudiar con la ayuda de un microscopio estereoscópico. Se obtuvieron fotografías de las especies en su ambiente natural.

Las muestras fueron fijadas directamente en el campo usando dos soluciones fijadoras: a) se utilizó FAA (formaldehído, alcohol etílico de 96°, ácido acético glacial y agua, en una proporción de 5:50:10:35) y el material permaneció en esta solución a temperatura ambiente y b) se utilizó una mezcla de glutaraldehído al 5% + paraformaldehído al 4% en buffer de s-collidina (0.1 mol/L, pH 7.2) (Ruzin, 1999) a una temperatura de ~4 °C por 24 h. En este último caso, después de 24 h, se desechó la solución fijadora. Posteriormente las muestras fueron lavadas con buffer de s-collidina (a la misma concentración y pH) y permanecieron en esta solución hasta el momento de su procesamiento en el laboratorio (Cuadro 4).

4.2 Trabajo de laboratorio

Procesamiento del material biológico

Para las muestras de *Vanroyenella plumosa* procedentes de los fijadores FAA y Glutaraldehído-paraformaldehído, cada fascículo se dividió en sentido longitudinal para obtener dos mitades iguales: una de éstas fue deshidratada en una serie gradual de alcohol etílico (etOH) e incluida en Paraplast p.f. 57-60 °C, siguiendo la técnica de inclusión en parafina descrita por Johansen (1940); la otra mitad fue deshidratada en una serie gradual de acetona e incluida en la resina sintética JB-4 (Valley, 1976). En el caso de *Marathrum rubrum*, *Oserya coulteriana*, *Podostemum ricciiforme* y *Tristicha trifaria*, las muestras fijadas en FAA se incluyeron en Paraplast y las muestras fijadas en glutaraldehído-paraformaldehído fueron incluidas en la resina sintética JB-4.

Cuadro 4. Relación de material biológico estudiado, localidades de recolecta, fecha y tipo de fijador utilizado.

Especie	Localidad (ríos)	Fecha	Fijador
<i>Marathrum rubrum</i>	Horcones, Jal.	[Novelo 1361, dic. 5/94] [Novelo 1825, Murguía 379, mar. 18/97]	- Farmer - FAA y Glutaraldehído-paraformaldehído
<i>Oserya coulteriana</i>	El Velero, Gro. Placeres del Oro, Gro.	[Murguía 374, Oropeza y Wong, nov. 17/95] [Novelo 1449, Ramos, Rutishauser, Oropeza y Murguía 376, mar. 19/96]	- Glutaraldehído-paraformaldehído - FAA y Glutaraldehído-paraformaldehído
	Horcones, Jal.	[Novelo 1826, Ramos, Oropeza, Murguía 380 y García, mar. 18/97] [Novelo 1830, Ramos, Oropeza, Murguía 382 y García, mar. 20/97]	- FAA y Glutaraldehído-paraformaldehído - FAA y Glutaraldehído-paraformaldehído
<i>Podostemum ricciiforme</i>	Pedregal, Tab.	[Novelo 2066, feb. 9/98]	- FAA
<i>Tristicha trifaria</i>	Casquito o Ranita, Oax. Rancho Alegre, Oax.	[Novelo 1823, Ramos, Oropeza, y Murguía 378, dic. 2/96] [Novelo 1435, Murguía 375, mar. 13/96]	- FAA y Glutaraldehído-paraformaldehído - FAA y Glutaraldehído-paraformaldehído
<i>Vanroyenella plumosa</i>	Horcones, Jal. Casquito ó Ranita, Oax.	[Novelo s/n, mar. 15/95] [Novelo 1392, Philbrick, Crow y Oropeza, dic. 10/94] [Murguía 373, Oropeza y Wong, nov. 18/95] [Novelo 1821, Ramos, Oropeza y Murguía 377, dic. 3/96] [Novelo 1828, Ramos, Oropeza, Murguía 381 y García, mar. 18/97]	- FAA - Farmer - FAA y Glutaraldehído-paraformaldehído - FAA - FAA y Glutaraldehído-paraformaldehído

El material incluido en Paraplast se cortó en un microtomo rotatorio obteniendo secciones de 8 μm de grosor, las que fueron teñidas con safranina-verde rápido y montadas con resina sintética. Estas preparaciones permanentes se utilizaron para describir el desarrollo floral y en algunos casos se obtuvieron fotomicrografías. Otras secciones del mismo grosor fueron usadas para detectar la presencia de almidón, lípidos, polisacáridos insolubles y proteínas, mediante la aplicación de los siguientes reactivos: lugol, rojo 'O' de aceite, ácido peryódico-reactivo de Schiff y azul negro de naftol, respectivamente. Se obtuvieron laminillas semipermanentes y temporales de las que se analizó la tinción correspondiente y en algunos casos se obtuvieron fotomicrografías (Fig. 9).

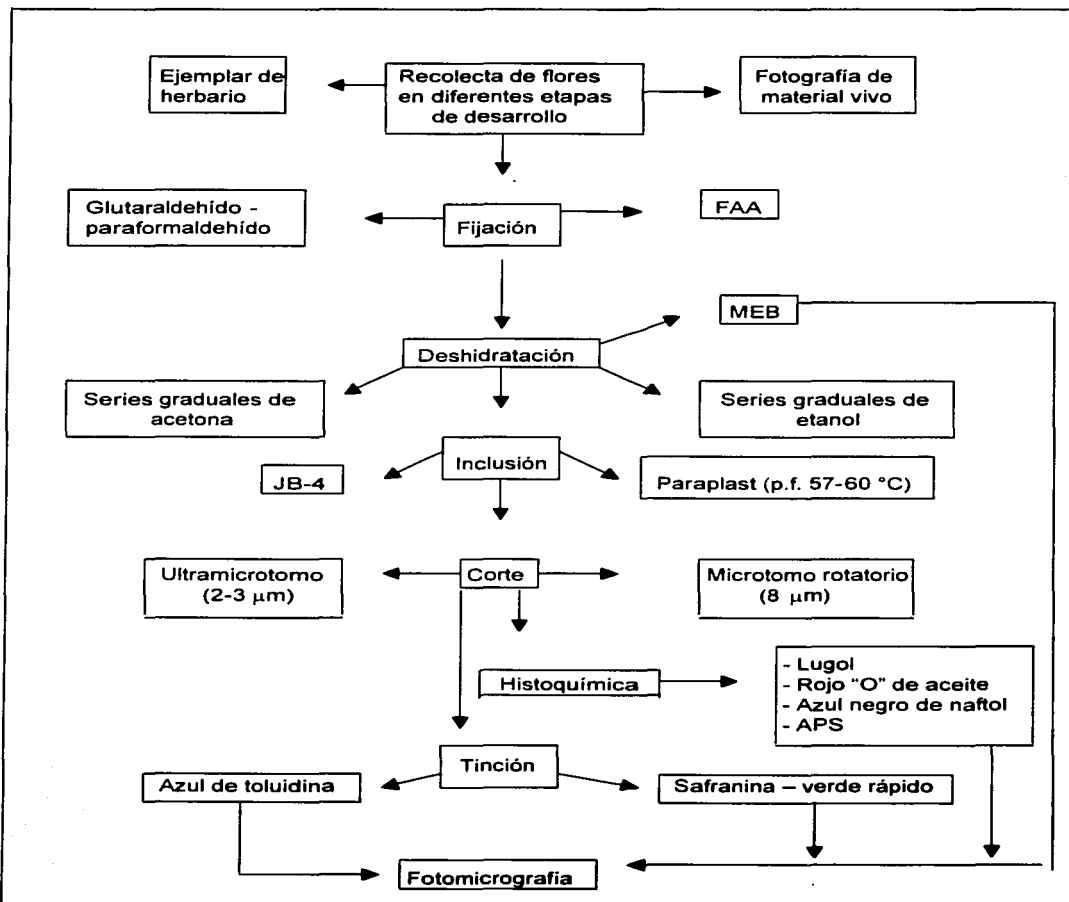
Para cortar el material incluido en JB-4, se utilizó un ultramicrotomo marca MT-2 Sorvall con navaja de vidrio. Los cortes de 2 a 3 μm de grosor fueron teñidos con azul de toluidina y cubiertos con resina sintética. Estas laminillas permanentes se utilizaron para obtener fotomicrografías (Fig. 9).

Para observar las diferentes etapas del desarrollo de los fascículos de *V. plumosa* con microscopio de barrido, algunas muestras fijadas en FAA fueron deshidratadas en una serie de alcoholes graduales hasta alcohol absoluto y posteriormente se pasaron a punto crítico (deshidratación adicional con CO_2 líquido). Los fascículos se adhirieron a portamuestras con cinta doble adhesiva y luego fueron cubiertos con oro. Las fotografías se obtuvieron con película T-MAX 100 de Kodak utilizando un microscopio marca JEOL. Este trabajo se realizó en el Laboratorio de Microscopía electrónica de barrido de la Facultad de Ciencias-UNAM (Fig. 9).

El trabajo de fotografía se realizó en el Laboratorio de Microcine de la Facultad de Ciencias-UNAM, utilizando un fotomicroscopio marca Zeiss. Se usaron rollos de película ASA 100 de 35 mm: T-MAX para fotografías en blanco y negro y Agfa color para diapositivas a color.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

Figura 9. Metodología de trabajo en campo y en laboratorio (diagrama de flujo) para el presente estudio.



TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

El material obtenido en esta investigación (laminillas, diapositivas y fotografías) se depositó en el Laboratorio del Desarrollo en Plantas de la Facultad de Ciencias - UNAM.

4.3 Descripción embriológica

Se describió el desarrollo de los verticilos sexuales de cada una de las especies incluídas en la presente investigación, procedentes de una localidad o fecha de recolecta específica. En cada caso, los resultados se compararon con los obtenidos de las mismas especies que procedían de otras localidades o fechas de recolecta, con el fin de ratificar que los caracteres embriológicos observados se mantuvieran constantes.

La disposición de los botones florales en los fascículos de *V. plumosa* permitió una descripción detallada de la secuencia del desarrollo de los verticilos sexuales y de los gametos, misma que se tomó como base para describir este proceso en *M. rubrum*, *O. coulteriana*, *P. ricciiforme* y *T. trifaria*. Se elaboraron tablas comparativas.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

RESULTADOS

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

5. Desarrollo de la flor

La floración de *Marathrum rubrum*, *Oserya coulteriana*, *Podostemum ricciiforme*, *Tristicha trifaria* y *Vanroyenella plumosa* ocurre hacia el final de la época de lluvias, cuando ha disminuído el volumen de los ríos (Fig. 10, 11). El cuerpo vegetativo está a sólo unos pocos centímetros de profundidad y en él se observan diferentes etapas del desarrollo floral. En este apartado se describe el desarrollo de la flor de *V. plumosa* y se compara con el de *M. rubrum*, *O. coulteriana*, *P. ricciiforme* y *T. trifaria*.

El cuerpo vegetativo de *V. plumosa* se mantiene adherido firmemente a un substrato rocoso (Fig. 12) a través de su tallo taloide dorsiventralmente aplanado, del que emergen las hojas de apariencia plumosa (Fig. 13). Durante la etapa reproductiva, entre las hojas maduras se forman cavidades en cuyo interior se desarrollan los fascículos florales (Fig. 14). En cada uno de éstos, los botones más grandes son los que emergen primero y los más pequeños son los que surgen después (Fig. 15). Los fascículos constan de 2 a 5 pares florales que surgen secuencialmente, dando a la estructura reproductiva una apariencia piramidal escaleriforme (Fig. 16). En el cuerpo vegetativo se encuentran inmersos fascículos en diferentes etapas de desarrollo (Fig. 17) y, a medida que se acerca la antesis, los fascículos emergen de la planta materna (Fig. 18). En los fascículos más pequeños, las flores en desarrollo se van definiendo (Fig. 19-22).

La morfogénesis floral de *V. plumosa* se presenta en los fascículos más pequeños aquí estudiados y denominados etapa I y etapa II (Fig. 17), posteriormente sólo ocurre el incremento en tamaño de las estructuras florales (Fig. 23), según se describe más adelante. *M. rubrum* (Fig. 24) presenta flores solitarias que emergen de entre la base de las hojas. *O. coulteriana* (Fig. 25), *P. ricciiforme* y *T. trifaria* también producen flores solitarias. *P. ricciiforme* y *T. trifaria* desarrollan tallos erectos, pero sólo en la primera especie las flores en desarrollo surgen de estas ramas mientras que en *T. trifaria* se desarrollan en la base del tallo. En *O. coulteriana* las flores surgen de la base de las hojas.

Como es típico para la subfamilia Podostemoideae, en las especies aquí estudiadas cada flor está cubierta por una espátula en forma de saco, mientras que las flores de *T. trifaria* están

protegidas por brácteas. En *V. plumosa* la espátela surge del tejido materno en forma de collar por divisiones anticlinales de la epidermis externa, así como por divisiones periclinales y anticlinales de la epidermis interna y no se cierra en el ápice. A lo largo de la espátela la epidermis interna forma un parénquima que tiene un grosor de 2 a 3 estratos de células nucleadas, mientras que en el ápice se observa un mayor número de células parenquimáticas sin núcleos. En la epidermis las paredes celulares externas son lisas y rectas y se continúan por la superficie interior de la espátela. A medida que transcurre el desarrollo floral la espátela crece y no presenta vascularización; contiene en su interior a los tépalos, al androceo y al gineceo en formación. En la espátela no se acumula almidón en las primeras etapas del desarrollo, aunque posteriormente se detectan escasos gránulos en sus células.

Mientras que en *P. ricciiforme* y *V. plumosa* las paredes celulares externas de la espátela son rectas, en *M. rubrum* son convexas. En *O. coulteriana* se encontró que la epidermis de la espátela estaba parasitada por microorganismos (hongos y bacterias) de modo que la pared celular externa se destruyó; el parénquima está formado por 3 a 4 estratos, uno de los cuales presenta cristales rectangulares de superficie regular, cuya composición química puede ser oxalato de calcio.

Las flores de *V. plumosa* son las únicas que presentan un pedúnculo en la base del pedicelo, el cual no está protegido por la espátela. Las flores de *M. rubrum* carecen de pedúnculo, pero en la base del perianto se observó una banda meristemática; esto sugiere que el alargamiento del pedicelo ocurre por la producción de nuevas células en esta región. En las cuatro especies de Podostemoideae aquí estudiadas, hacia la antesis el ápice de la espátela se abre al emerger la flor a causa del rápido crecimiento del pedicelo para ubicar a la flor fuera de la superficie del agua (Fig. 12, 14). En *T. trifaria* el meristemo y el botón floral están rodeados por dos brácteas que presentan cristales rectangulares en la epidermis interna y externa. Los cristales de la epidermis interna son regulares y se encuentran dentro de las células, mientras que los de la epidermis externa son irregulares y parecen localizarse sobre la superficie externa.

V. plumosa (Fig. 23), *O. coulteriana* y *P. ricciiforme* presentan dos estambres, pero en las dos últimas los estambres se originan de un andropodio, el cual está restringido a un solo lado de la flor. *T. trifaria* tiene un solo estambre y *M. rubrum* tiene 7 a 8 estambres repartidos alrededor del pistilo (Fig. 24). En todos los casos, se presentan pequeños tépalos alternos con los filamentos

del androceo y la antera es tetralocular; el polen se libera en mónadas, excepto *Pricciiforme* que lo libera en diadas. El gineceo es bicarpelar, bilocular y biestigmático en las especies de Podostemoideae, mientras que en Tristichoideae es tricarpelar, triestigmático y trilocular. El tejido vascular entra a la flor desde el pedicelo y se distribuye hacia el estambre, la pared del ovario y la placenta, pero no a los óvulos ni a los tépalos.

Los fascículos más chicos de *V. plumosa* aquí estudiados tienen primordios florales que miden (\pm) 1.5 mm de longitud los más pequeños y (\pm) 2.8 mm los más grandes (Fig. 17, 19); todos son translúcidos al microscopio de disección y sólo el gineceo se distingue por su tono marrón. Con estas muestras fue posible obtener cortes longitudinales que incluyen al mismo tiempo cuatro o cinco primordios en los cuales se aprecian cambios morfogenéticos significativos (Fig. 22). La siguiente etapa en el desarrollo del fascículo (etapa III) emerge desde el tejido materno, como protuberancia que conserva su apariencia escaleriforme debido a la diferente longitud de cada par floral (Cuadro 9, Fig. 16).

Cuadro 9. Longitud de los botones en cada par floral en inflorescencias de *V. plumosa* de la etapa III (distancia entre la base y el ápice de cada par de botones, n = 30 pares florales).

Longitud (mm)	número de par floral en la inflorescencia				
	1	2	3	4	5
Izquierdo	4.6 \pm 0.5	6.1 \pm 1.2	7.5 \pm 1.3	8.7 \pm 1.2	10.0 \pm 1.2
Derecho	4.5 \pm 0.6	6.6 \pm 0.9	8.2 \pm 1.0	9.2 \pm 1.0	10.5 \pm 1.3

A partir de la etapa III todos los pares florales presentan la misma etapa de desarrollo, sin importar su posición en el fascículo, siendo en esta etapa que tanto los óvulos como los granos de polen han completado su desarrollo. Cada flor está protegida por una espátela y en sus verticilos florales se detectan polisacáridos, lípidos y proteínas (Cuadro 10). Estos caracteres son compartidos por *M. rubrum*, *O. coulteriana*, *P. ricciiforme* y *T. trifaria*.

Cuando las flores de *M. rubrum* y *V. plumosa* han emergido de la espátela, los estigmas están muy próximos entre sí y las anteras aún no liberan el polen. Posteriormente, los estigmas se separan y las anteras han liberado el polen.

Cuadro 10. Histoquímica floral de *Vanroyenella plumosa* en la etapa III del desarrollo.

Estructura floral	Compuestos químicos			
	lípidos	polisacáridos insolubles	granos de almidón	proteínas
Espatela	en cutícula de la epidermis externa	en paredes celulares	- - - - -	- - - - -
Estambre	en cutícula	en paredes celulares	en parénquima del filamento	- - - - -
Polen	en exina	en exina	en citoplasma	en exina y citoplasma
Estigmas	en cutícula	en idioblastos	en parénquima	en idioblastos y epidermis
Tejido de transmisión	en paredes celulares	en paredes celulares	- - - - -	en citoplasma
Pared del ovario	en cutícula externa e interna y en el citoplasma de la epidermis interna	en paredes celulares	en parénquima	- - - - -
Óvulos	en cutícula del tegumento interno	- - - - -	en tegumento externo	- - - - -

Discusión.

- Señales externas e internas para el inicio de la fase sexual del ciclo de vida

El estudio del desarrollo floral en *M. rubrum*, *O. coulteriana*, *P. ricciiforme*, *T. trifaria* y *V. plumosa* mostró una secuencia morfogenética uniforme, sin importar la orientación de las plantas sobre las rocas. En *M. rubrum* y *V. plumosa* el desarrollo de los órganos reproductivos masculino y femenino ocurre en las primeras etapas de la diferenciación floral, cuando la longitud de los botones es menor de 5 mm. En *O. coulteriana*, *P. ricciiforme* y *T. trifaria* no fue posible hacer un seguimiento del desarrollo floral tan preciso debido a que las dimensiones florales son pequeñas, comparadas con *M. rubrum* y *V. plumosa*. En las cinco especies, las diferentes etapas del desarrollo floral se encuentran a profundidades entre 0 a 5 cm, donde la temperatura y la iluminación son mayores, porque la carga de agua en torno a las plantas es menor.

Mohan Ram y Sehgal (1997) mencionan que en las Podostemaceae hay una estrecha relación entre la disminución del nivel del agua y el inicio de la floración, es decir, a menor profundidad de la planta, mayor probabilidad de que ocurra este proceso. Philbrick (1984) observó que en regiones templadas de Norteamérica, *Podostemum ceratophyllum* no produce floración en años en los que no se presenta la disminución usual del nivel del agua. Rutishauser y Grubert (2000) señalan que en Sudamérica, los brotes reproductivos de *Apinagia multibranchiata* emergen de la planta madre cuando baja el nivel del agua. Incluso, de manera experimental fué posible estimular la floración mediante la inducción de estrés hídrico y la reducción paulatina de la cantidad de nutrientes (en condiciones "in vitro") en *Indotristicha ramosissima* (Tristichoideae) (Mohan Ram y Sehgal, 1997) y en *Polypleurum stylosum* (Podostemoideae) (Sehgal *et al.*, 1993).

Es un hecho interesante que el inicio de la formación de los botones florales ocurre a diferentes profundidades entre las especies de podostemáceas. Sehgal *et al.* (1993) mencionan que en la naturaleza los botones florales de las especies de Podostemaceae se forman cuando las plantas están sumergidas entre 20 y 30 cm bajo la superficie del agua. En los ríos Netravati de Karnataka y Kunthipuzha de Kerala en la India, *Polypleurum stylosum* var. *stylosum* y *Polypleurum stylosum* var. *laciniata* inician la formación de los botones florales cuando la profundidad de la columna de agua que fluye sobre las plantas es de alrededor de 10 a 12 cm. En cambio, en el río Caroní de Venezuela, *Apinagia multibranchiata* muestra un dimorfismo extremo respecto al tamaño y forma del ápice que tienen correlación con factores ecológicos (Grubert, 1991). Cuando *A. multibranchiata* se establece en las áreas profundas de los rápidos, los brotes vegetativos crecen hasta más de un metro y normalmente no están ramificados, mientras que en los márgenes poco profundos de los rápidos, las raíces desarrollan ápices florales cortos y ramificados (Rutishauser y Grubert, 2000).

A medida que los órganos florales aumentan de tamaño en *M. rubrum*, *O. coulteriana*, *P. ricciiforme*, *T. trifaria* y *V. plumosa*, se desarrollan cutículas gruesas que pueden representar una estrategia de protección contra la humedad en el ambiente acuático o la desecación en el ambiente aéreo, por sus características hidrofóbicas.

Si bien en el presente estudio no se estableció una correlación entre el inicio del ciclo sexual y la edad de la planta, se observa en la literatura que otro factor que puede regular la

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

producción de flores es la condición de desarrollo de la planta, como ocurre en *Apinagia multibranchiata*, cuyos brotes reproductivos tienen de 1 a 15 cm de largo y son erectos, no se ramifican y producen una sola flor, pero cuando es más vigoroso el brote, entonces presenta la ramificación simpodial hasta con 15 flores. La señal para que ocurra la diferenciación a brotes reproductivos ocurre después de que se han formado 3 a 5 hojas (Rutishauser y Grubert, 2000) y entre cada dos hojas emerge una flor (Grubert, 1991).

Los conocimientos acerca de la respuesta de las podostemáceas a estímulos ambientales para que dé inicio la fase sexual de su ciclo de vida son aún escasos y si bien es correcto que los botones florales se forman en el interior de la planta cuando ésta aún crece bajo el agua, el estudio de los procesos embriológicos en las especies de Podostemaceae hasta ahora estudiadas aún no ha abordado el problema de establecer si existen patrones similares o diferentes en la morfogénesis floral. En este sentido, Jäger-Zürn (1997) señaló que *Weddellina squamulosa* desarrolla los gametos inmediatamente antes de que la flor quede expuesta al aire; esto puede indicar que aunque los botones florales se formen bajo el agua, la gametogénesis puede expresarse cuando se acerca la antesis. Es necesario estudiar de manera comparada tanto el papel de la profundidad en el inicio del desarrollo floral, como los procesos morfogenéticos que ocurren entre las especies de esta familia; más aún ahora que las técnicas de análisis molecular han definido grupos biogeográficos y se han sugerido ideas acerca de la evolución en la familia como se aprecia en el trabajo de Kita y Kato (2001).

- Sistemas de polinización

En la familia Podostemaceae se encuentra una marcada tendencia hacia la zigomorfía floral, lo que se asocia con la pérdida de la entomofilia y su reemplazo por la anemofilia (Sculthorpe, 1967). En la mayoría de los taxa de esta familia no se ha resuelto el patrón que siguen los sistemas de polinización, aún cuando existe evidencia de su diversidad. En el caso de *Indotristicha*, un género menos especializado, las flores son usualmente fragantes y entomófilas (Sculthorpe, 1967). Gessner y Hammer (1962, en Rutishauser y Grubert, 2000) sugieren que las flores de *Apinagia multibranchiata* son entomófilas, debido a que sus filamentos y pedicelos rosados atraen insectos como *Trigona clavipes*. Estos autores también han observado pequeñas

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

abejas trignonas en las flores de *Mourera fluviatilis*, *Apinagia exilis* y *Rhyncholacis* sp., que se encuentran en la misma localidad que *Apinagia multibranchiata*. En las Guyanas, otras especies de *Apinagia* (como *A. stabeliana*), además de ser coloridas producen flores aromáticas (Went, 1926, en: Schnell, 1998); a su vez, *Mourera* y *Tulasneantha* son claramente polinizadas por insectos (Cook, 1999).

Aunque se cree que la mayoría de las especies en Podostemaceae son anemófilas (Rutishauser, 1997), se ha reportado autopolinización y aún cleistogamia pre-antesis en varios miembros de Podostemoideae (Khosla *et al.*, 2000). Estos autores consideran que la autogamia y la cleistogamia parecen ser prevalecientes en Podostemoideae y Tristichoideae. Jäger-Zürn (1997) señala que en *Weddellina squamulosa* (Weddellinoideae) se presenta autogamia. Otras Podostemoideae como *Polypleurum stylosum* var. *stylosum* y *P. stylosum* var. *laciniata* son autocompatibles y predominantemente autopolinizadas, aunque algunos granos de polen son liberados al aire durante la dehiscencia de la antera y otros caen al agua (Khosla *et al.*, 2000). En cambio, en *Polypleurum dichotomum* el polen es liberado en forma de nubes muy cerca del estigma (Rutishauser, 1997), hecho que puede ser considerado como anemofilia y/o autopolinización. Como se ha mencionado para otras Podostemaceae (Philbrick, 1984; Khosla y Mohan Ram, 1993), *M. rubrum* es una especie autocompatible, pero no es exclusivamente autógena, ya que también se tiene evidencia de que ocurre anemofilia (Philbrick y Novelo, 1998). Como complemento con las investigaciones de campo, los estudios *in vitro* pueden ser útiles para investigar los sistemas sexuales de reproducción en Podostemaceae, debido a que permiten simular las condiciones naturales de manera artificial (Mohan Ram y Sehgal, 1997).

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

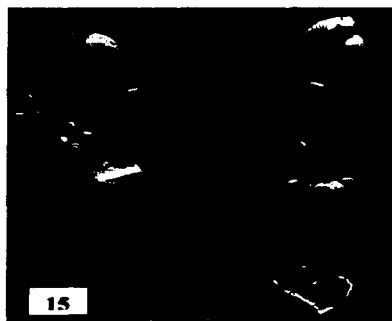
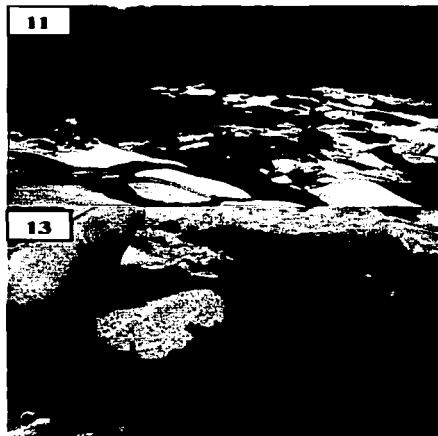
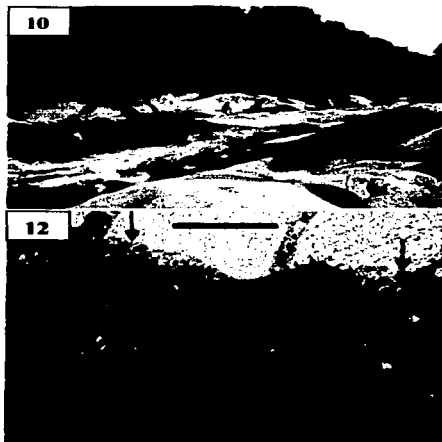


LÁMINA I

Figura 10. Vista general del río Horcones, Jalisco, con grandes rocas y fuerte corriente.

Figura 11. Recolecta a la orilla del río Casquito, Oaxaca.

Figura 12. Vista de una roca con *Vanroyenella plumosa* en el Río Casquito, Oaxaca. Las flores pediceladas y los frutos están ubicados por encima del nivel del agua. La flecha señala el límite de la zona húmeda.

Figura 13. Acercamiento de una roca con plantas de *V. plumosa* por encima del nivel del agua. Se aprecian los tallos taloides aplanados, de donde salen las hojas plumosas y en la base de estas se encuentran los fascículos florales. Las flechas señalan el límite de la zona húmeda.

Figura 14. Fascículos florales (etapas III-V) del transecto 0-5 cm de profundidad emergiendo del tallo taloide aplanado. Los pedicelos más largos sostienen frutos en proceso de maduración.

Figura 15. Botón pequeño y botón grande disectados de fascículos florales de la etapa III del desarrollo. En el primero se observa el gineceo biestigmático, una de las dos anteras laterales y un pequeño tépalo. En el segundo botón se observa la longitud del pedicelo y la cicatriz que queda en la base al desprender la espátela.

Antera (an), espátela (sp), filamento (f), fruto (fr), pared del ovario (po), pedicelo (pe), tépalos (tp).

(Figura 14, escala = 20 cm. Figura 15, escala = 1 cm)

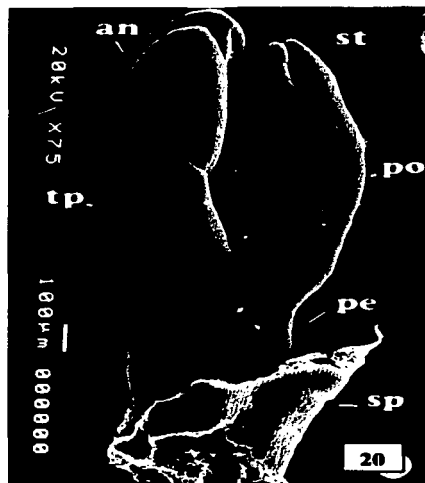
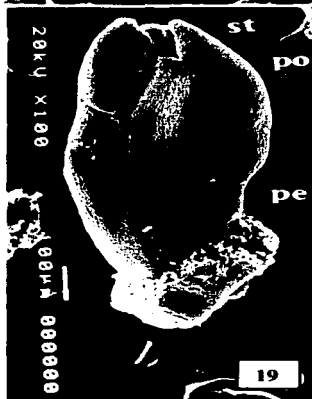


LÁMINA II

Figura 16. Fascículo floral de *Vanroyenella plumosa* de la etapa III del desarrollo floral. Se ha abierto longitudinalmente (b) para mostrar la longitud de cada botón y se muestra el fascículo completo (a) para ver el arreglo en pares de los botones florales.

Figura 17. Las flores fasciculadas están inmersas en la parte interior del tallo aplanado, etapas I a la derecha y II a la izquierda (flechas).

Figura 18. Fascículos de las etapas III y IV del desarrollo emergiendo del tallo postrado aplanado.

Figura 19. Etapa I del desarrollo, botón del par 5 en el fascículo.

Figura 20. Etapa I del desarrollo, botón del par 3 en el fascículo.

Antera (an), espátela (sp), estigmas (st), filamento (f), membrana de la cavidad (cv), pared del ovario (po), pedicelo (pe), tépalos (tp).

(Figura 16, escala = 5 mm. Figuras 17 y 18, escala = 1 cm. Figuras 19 y 20, se ha retirado la espátela)

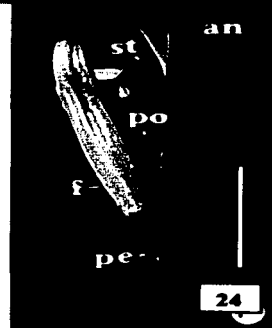


LÁMINA III

Figura 21. Etapa I del desarrollo floral en *Vanroyenella plumosa*, botones del par 1 en el fascículo.

Figura 22. Corte longitudinal de un fascículo de la etapa I del desarrollo. Se observan los botones del par 3, 4 y 5, este último muestra a los meiocitos en los lóculos de la antera, escala = 100 μ m.

Figura 23. Botón floral de la etapa IV del desarrollo en *Vanroyenella plumosa*. Se han retirado la espátula y una parte del pedicelo, para exponer al gineceo y los tépalos alternos con los estambres.

Figura 24. Flor de *Marathrum rubrum*. Se han retirado la espátula y una parte del pedicelo, para exponer al gineceo y a los estambres.

Figura 25. Flor de *Oserya coulteriana*.

Antera (an), espátula (sp), estigmas (st), filamento (f), meiocitos (me), nucela (nu), pared del ovario (po), pedicelo (pe), placenta (pl), tépalos (tp).

(Figura 23 a 25, escala = 2 mm)

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

6. Desarrollo del Androceo

Los estudios acerca del desarrollo del androceo en la familia Podostemaceae son escasos y la información que proporcionan los autores es incompleta, por lo que a continuación se describe su desarrollo en *Vanroyenella plumosa* (hasta la etapa de antesis) y se compara con el desarrollo de este órgano floral en *Marathrum rubrum*, *Oserya coulteriana*, *Podostemum ricciiforme* y *Tristicha trifaria*.

a) Desarrollo de la pared de la antera

En los fascículos de la etapa I se observa el desarrollo de la pared de la antera y la transformación del tejido esporógeno en células madres del polen. El primordio de la antera está formado por células parenquimáticas rodeadas por la protodermis que dará origen a la epidermis. En la subepidermis de cada teca pronto se diferencian células arquesporiales, estas se dividen periclinalmente formando dos capas: una capa parietal primaria en posición hipodérmica y una capa más interna que dará origen al tejido esporógeno. A su vez, la capa parietal primaria se divide periclinalmente, originando la capa parietal secundaria externa, adyacente a la protodermis y la capa parietal secundaria interna, que rodea al tejido esporógeno.

La capa parietal secundaria interna se divide periclinalmente y forma una capa media interna y el tapete (Fig. 26); a continuación, la capa parietal secundaria externa se divide periclinalmente y así da origen al endotecio y una capa media externa (Fig. 27). Una u otra de las capas medias puede experimentar una división periclinal adicional. De este modo la pared de la antera inmadura queda formada por cinco o seis capas: la epidermis, el endotecio, dos a tres capas medias y el tapete (Fig. 28).

En los botones más grandes de fascículos de la etapa I, las células de las capas medias ya no se dividen anticlinalmente, sólo se alargan y adelgazan en sentido periclinal, a medida que se incrementan el número y las dimensiones celulares del resto de las capas de la pared de la antera (Fig. 29). Cuando en los lóculos de la antera las células madres de las microsporas están a punto de entrar en meiosis, la pared de la antera está constituida por tres capas: la epidermis, el endotecio y el tapete monoestratificado del tipo secretor, con células mononucleadas u ocasionalmente binucleadas, las capas medias están obliteradas (Fig. 30)

En fascículos de la etapa II del desarrollo, la pared de la antera conserva la epidermis y el endotecio, ya que el tapete se ha desintegrado a medida que transcurre la microgametogénesis (Fig. 32). En los botones más pequeños de esta etapa, las células epidérmicas han depositado una cutícula en la pared celular externa; éstas células y las del endotecio, contienen granos de almidón.

En las etapas III a V del desarrollo, las células del endotecio han incrementado su tamaño y presentan, en el interior de las paredes celulares tangenciales, engrosamientos de apariencia fibrosa, en forma de espiral. En estas etapas, el endotecio circunda a los sacos polínicos, incluso en la región del tejido conectivo (Fig. 33), cuyas células contienen granos de almidón. Las dos anteras de cada flor son tetrasporangiadas y difieren morfológicamente. Secciones transversales (Fig. 34) muestran una distancia diferente entre las tecas de cada antera. En ambas la dehiscencia es introrsa. En el Cuadro 11 se resumen los eventos morfogénéticos que ocurren en la etapa I del desarrollo del botón floral en *V. plumosa*, donde se relaciona la longitud de éste con el grosor y estructura de las capas que constituyen la pared de la antera.

Cuadro 11. Formación de la pared de la antera de *Vanroyenella plumosa* en fascículos de la etapa I del desarrollo floral. (n = 4 fascículos)

botón floral long (mm)	Grosor de la pared (μm)	Estratos celulares
1.53	7.5	Dos capas: epidermis y células arquesporales
---	12.0	Tres capas: epidermis y bicapa de células parietales secundarias (una externa y una interna)
1.73	15.0	Cuatro capas: epidermis, una capa parietal secundaria externa, una capa media y el tapete
2.27	21.0	Cinco capas: epidermis, endotecio, capa media externa, capa media interna y tapete
2.51	21.0	Cinco capas: epidermis, endotecio, capas medias alargadas y delgadas periclinalmente, tapete
27.0	---	Tres capas: epidermis, endotecio y tapete

En *M. rubrum*, *O. coulteriana* y *P. ricciiiforme* los botones florales más pequeños aquí estudiados ya han rebasado la etapa morfogenética de la pared de la antera, por lo que no se estableció el tipo de desarrollo de ésta. En estas especies se observó el polen ya formado y la pared de la antera únicamente presenta epidermis y endotecio, como en *V. plumosa*. En *M. rubrum* (7 a 10 estambres por flor) eventualmente se observan, en una o dos de sus anteras, aberraciones del saco polínico en una o en ambas tecas, lo que produce polen anómalo. Durante el desarrollo normal de la antera, el tapete inicia su degradación cuando en el lóculo ocurre la separación de las microsporas que provienen de la tétrada.

En el desarrollo de la pared de la antera de *Tristicha trifaria* la capa parietal secundaria externa da origen al endotecio y una capa media, mientras que la parietal secundaria interna origina directamente al tapete. Así, la pared consiste de cuatro capas: epidermis, endotecio, una capa media y tapete que rodea al tejido esporógeno. En esta etapa la epidermis está formada por células cúbicas a esféricas, con núcleos prominentes, que son muy grandes comparadas con las demás células en la pared (Fig. 35). Durante el desarrollo, la epidermis presenta reacción positiva a lípidos. A diferencia de las otras cuatro especies, en *T. trifaria*, la pared de la antera consiste de epidermis, endotecio y tapete con un estrato celular. Las células epidérmicas tienen forma rectangular y aplanada en el sentido periclinal y el citoplasma contiene gotas de lípidos. Aunque el polen ya está formado, el endotecio no presenta engrosamientos, pero sí se detectan gránulos de almidón. En *T. trifaria* el tapete presenta células uninucleadas que han aumentado su volumen pero no se desintegran aunque el polen ya está formado (Fig. 36). En las cinco especies aquí estudiadas el estomio es introrso y el conectivo no contiene gránulos de almidón, excepto en *T. trifaria*.

Discusión

Con base en los patrones de desarrollo observados en las capas parietales secundarias, e incluyendo a la epidermis como la primera capa, Davis (1966) reconoció cuatro tipos de desarrollo de la pared de la antera: 1) **Básico** (ambas capas parietales se dividen, la externa origina al endotecio y una capa media externa y la interna da origen a una capa media interna y al tapete = 5 capas), 2) **Dicotiledóneo** (la capa externa se divide y forma al endotecio y una capa media, mientras que la interna se diferencia directamente en el tapete = 4 capas), 3)

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

Monocotiledóneo (la capa externa forma al endotecio y la interna se divide periclinalmente formando una capa media y al tapete = 4 capas) y **4) Reducido** (ambas capas directamente se diferencian en endotecio y tapete = 3 capas). Estos tipos son específicos al nivel de familia y Davis (1966) considera que el tipo Básico de desarrollo de la pared de la antera es ancestral, mientras que el tipo Reducido es el derivado, de lo cual se desprende que los tipos monocotiledóneo y dicotiledóneo ocupan una posición intermedia, sin que la autora mencione cuál de estos representa el estado ancestral o el derivado.

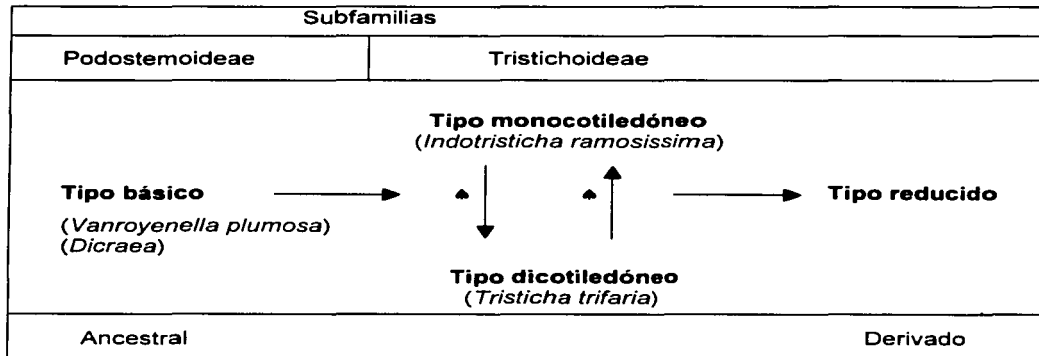
En la familia Podostemaceae son pocas las investigaciones que han abordado el estudio ontogenético del androceo y hasta ahora ninguna hace referencia específica al tipo de desarrollo de la pared de la antera. Con los datos que se mencionan en la literatura especializada se puede concluir que en esta familia la pared de la antera está formada por cuatro capas celulares (epidermis, endotecio, una capa media efímera y el tapete que es del tipo glandular o secretor) (Davis, 1966; Kapil, 1970; Johri *et al.*, 1992), pero no se precisa cuál es el origen de la capa media. Si aplicamos los criterios propuestos por Davis (1966), entonces el tipo de desarrollo de la pared de la antera puede ser Mono o Dicotiledóneo en las especies hasta ahora estudiadas de esta familia.

En el presente estudio y de acuerdo con la clasificación de Davis (1966), se encontró que el tipo de desarrollo de la pared de la antera en *V. plumosa* corresponde al tipo Básico, porque las dos capas medias se originan por la división periclinal de las capas parietales secundarias interna y externa, respectivamente. En cambio, el desarrollo de la pared de la antera en *T. trifaria* es del tipo Dicotiledóneo, porque la única capa media se origina de la capa parietal secundaria externa.

En *Dicraea* (= *Polypleurum*) (Podostemoideae) hay una capa media adicional (Kapil, 1970) lo cual, si bien no está señalado explícitamente, puede corresponder a un desarrollo de la pared de la antera del tipo Básico. Chopra y Mukkada (1966) describen con mayor precisión que antes de que ocurra la microsporogénesis en *Indotristicha ramosissima* (Tristichoideae), la capa parietal secundaria externa directamente forma el endotecio y la capa parietal secundaria interna se divide para formar una capa media y el tapete, por lo que, si bien los autores no lo especifican claramente, en esta especie el desarrollo de la pared de la antera corresponde al tipo Monocotiledóneo (Cuadro 12).

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

Cuadro 12. Tendencias evolutivas del desarrollo de la pared de la antera en la familia Podostemaceae, de acuerdo con Davis (1966).
 (▲ = se indican las tendencias posibles en el origen de los tipos de desarrollo dicotiledóneo y monocotiledóneo)



Es evidente que para definir el tipo de desarrollo de la pared de la antera, es necesario no sólo estudiar las etapas previas a la meiosis, sino también analizar este carácter que puede tener valor taxonómico. Algunos autores abordan este aspecto embriológico (Razi, 1949; Chopra y Mukkada, 1966; Mukkada, 1969; Kapil, 1970; Jäger-Zürn, 1997), pero no incluyen una discusión en términos de Davis (1966). En *Terniola* (= *Dalzelia*) *zeylanica* (Mukkada, 1969) y *Griffithella* (= *Cladopus*) *hookeriana* Razi (1949) de la subfamilia Podostemoideae, se menciona que al momento de la meiosis, la pared de la antera ya está formada; en ambas especies ésta consiste de cuatro capas: la subepidermis (con una cutícula gruesa), el endotecio, una capa media y el tapete secretor uninucleado. Debido a que los autores no explican el origen de esta capa media, no puede definirse si el tipo de desarrollo es Dicotiledóneo ó Monocotiledóneo. En *Weddellina squamulosa*, de la subfamilia Weddellinoideae la pared de la antera presenta 4 a 5 capas celulares, con una o dos capas medias (Jäger-Zürn, 1997). Así, la ausencia de este dato impide establecer si el desarrollo de la pared de la antera es del tipo Monocotiledóneo (= 4 capas), Dicotiledóneo (= 4 capas) o Básico (= 5 capas).

La evidencia disponible, aunque limitada, sugiere que en las subfamilias Tristichoideae y Podostemoideae ocurren diferentes patrones en el desarrollo de la pared de la antera y tal vez

sólo el tipo Reducido (el más evolucionado según Davis, 1966) no se presente (Cuadro 13). Así, la afirmación de Davis (1966) acerca de que este carácter es distintivo al nivel de familia parece no cumplirse para la familia Podostemaceae. La evidencia disponible también sugiere que entre las subfamilias se encuentran no sólo diferentes patrones de desarrollo de la pared de la antera (aunque aparentemente no se presenta el tipo Reducido de desarrollo), sino también al parecer, diferentes momentos en los que se ha completado la formación de la pared de la antera entre los taxa. Estos caracteres requieren mayor investigación en la familia Podostemaceae.

En *T. trifaria* y *V. plumosa*, el desarrollo de la pared de la antera se completa antes de que los esporocitos inicien la síntesis de calosa. En estas especies, lo mismo que en *M. rubrum*, *O. coulteriana* y *P. ricciiforme*, las capas medias se han desintegrado cuando se inicia la meiosis y sólo persisten tres capas celulares en la pared de la antera (epidermis, endotecio y tapete). El tapete es conspicuo y activo biológicamente durante la microesporogénesis y la microgametogénesis, ya que su actividad está muy estrechamente relacionada con la nutrición del tejido esporógeno, con la secreción de calasa. Además, contribuye a la formación de la pared del grano de polen, mientras que el endotecio sólo es mecánicamente activo e interviene hacia el final de la gametogénesis, promoviendo la dehiscencia de la antera para liberar al polen maduro.

En las angiospermas, la degradación del tapete acompaña las últimas etapas de la formación de la pared del grano de polen, al depositar en la superficie de éste un agregado de sustancias químicas ("pollenkit") involucradas en la dispersión, protección, reconocimiento e hidratación del gametofito masculino (Bedinger *et al.*, 1994). En el presente estudio se encontró que en *T. trifaria*, el tapete persiste aún cuando la pared del polen ya se formó; esto sugiere que puede haber un intervalo entre los aportes gametofítico (esporopolenina) por parte de la microspora y esporofítico (esporopolenina y "pollenkitt") por parte del tapete, para la formación de la pared polínica y que sólo hasta que se acerque la antesis el tapete concluya su función.

Adicionalmente, las características del tapete secretor y el polen bicelular en la familia Podostemaceae contrastan con el tapete del tipo ameboideo (periplasmoidal) y polen tricelular que se presenta en otras familias de plantas acuáticas, como las Alismatidae (Sculthorpe, 1967), Lemnaceae (Maheshwari, 1954), *Butomus* y *Typha* (Johri, 1984).

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

Cuadro 13. Tipos de desarrollo de la pared de la antera en algunas especies de la familia Podostemaceae.

Tipo de desarrollo	BÁSICO	MONOCOTILEDÓNEO	DICOTILEDÓNEO
Epidermis →	Epidermis	Epidermis	Epidermis
Parietal 2ª externa ↘	Endotecio	Endotecio	Endotecio
	Capa media externa	—	Capa media
Parietal 2ª interna ↘	Capa media interna	Capa media	—
	Tapete	Tapete	Tapete
Tejido esporógeno →	Esporocitos	Esporocitos	Esporocitos
	<i>Vanroyenella plumosa</i> <i>Dicraea</i> (Kapil, 1970)	<i>Indotristicha ramosissima</i> (Chopra y Mukkada, 1966)	<i>Tristicha trifaria</i>
Subfamilias	(Podostemoideae)	(Tristichoideae)	(Tristichoideae)

En las Podostemoideae *Griffithella hookeriana* (Razi, 1949) y *Terniola zeylanica* (Mukkada, 1969), es difícil saber si presentan el tipo de desarrollo Monocotiledóneo o Dicotiledóneo porque, si bien cada una presenta cuatro capas celulares en la pared de la antera, no se precisa el origen de la capa media.

En *Weddellina squamulosa*, de la subfamilia Weddellinoideae (Jäger-Zürn, 1997), la presencia de 1 ó 2 capas medias hace difícil referirla a los tipos de desarrollo Dicotiledóneo, Monocotiledóneo o Básico.

b) Microesporogénesis y microgametogénesis

En los fascículos de la etapa I del desarrollo floral de *V. plumosa*, se observa la formación del tejido esporógeno, el depósito de calosa en torno a los esporocitos y la diferenciación de éstos en células madres del polen o meiocitos. En la etapa II ocurre la esporogénesis, la gametogénesis y la formación de la pared del grano de polen.

En la etapa I, las anteras de los botones más grandes contienen células del tejido esporógeno envueltas por una pared de calosa (Fig. 29), que posteriormente funcionan como meiocitos (Fig. 30). En los botones florales más pequeños de la etapa II, las anteras producen tétradas tetrahédricas como resultado de la meiosis (Fig. 31) y la citocinesis es simultánea; pero cuando la pared de calosa desaparece, las microsporas se liberan en el lóculo. En los botones florales más grandes de esta etapa, las células del tapete se desintegran y el contenido se adhiere a la pared de los granos de polen. Cada grano de polen tiene dos células, una es la célula vegetativa y la otra es la célula generatriz (Fig. 32). Los granos de polen contienen carbohidratos, lípidos y proteínas. Al momento de la antesis (etapa V), éstos son bicelulares y se diseminan en mónadas. Este carácter es compartido por *M. rubrum*, *O. coulteriana*, *T. trifaria* (Figs. 36 y 37) y *V. plumosa*. En *P. ricciiforme* la meiosis produce tétradas al parecer isobilaterales, con citocinesis sucesiva (Fig. 38) y las microsporas únicamente se separan en diadas, de modo que el polen es doble y bicelular (Fig. 39). En *O. coulteriana* y *T. trifaria* no se observó la meiosis, la citocinesis o la forma de las tétradas.

Discusión

En las Podostemaceae se ha encontrado que las tétradas en algunas especies son tetraédricas y en otras son isobilaterales (Kapil, 1970) y que en *Indotristicha* (Chopra y Mukkada, 1966) y *Terniola* (Mukkada, 1969) la citocinesis es simultánea, pero en *Dicraea stylosa* (= *Polypleurum stylosum*) es sucesiva (Mukkada, 1962). En este estudio, *Marathrum rubrum* y *Vanroyenella plumosa* presentan tétradas tetraédricas y *Podostemum ricciiforme* produce tétradas isobilaterales, lo que coincide con lo observado en la familia. Sin embargo, hacen falta estudios para determinar cómo es el comportamiento de estos caracteres, ya que la información disponible indica que no hay un patrón específico en las subfamilias Podostemoideae y Tristichoideae, además de que este dato se desconoce para Weddellinoideae (Jäger-Zürn, 1997).

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

En esta familia el polen es colgado o porado (O'Neill *et al.*, 1997), bicelular y puede ser liberado en mónadas o en diadas (Kapil, 1970). En *M. rubrum*, *O. coulteriana*, *T. trifaria* y *V. plumosa*, el polen es bicelular y es liberado en mónadas (Fig. 37). En cambio, cada célula de la diada en *Podostemum ricciiiforme* realiza una mitosis para producir polen doble y bicelular (Fig. 33). En *Griffithella* (= *Cladopus*) *hookeriana* el polen es liberado en diadas (Razi, 1949), al igual que en *Podostemum* (= *Zeylanidium*) *subulatus* e *Hydrobryum olivaceum* (Magnus, 1913), *Dicraea* (= *Terniola*) (Mukkada, 1962), *Polypleurum stylosum* (Khosla *et al.*, 2000), que son taxa asiáticos. También en *Mniopsis* (= *Crenias*) y *Lophogyne* de Sudamérica, así como en *Angolea* de África (Went, 1910, 1912). Este carácter requiere un análisis más detallado con relación al criterio de grupos geográficos propuesto por Cook y Rutishauser (en prensa) para la subfamilia Podostemoideae.

En la familia Podostemaceae la superficie del polen se ha descrito en sólo ocho especies, utilizando microscopía electrónica de barrido (MEB). Seis de éstas pertenecen a la subfamilia Podostemoideae: *Farmeria indica* Willis, *Griffithella* (= *Cladopus*) *hookeriana* (Tul.) Warm., *Hydrobryum floribundum* Koidz., *Mourera fluviatilis* Aublet, *Polypleurum* (= *Dicraea*) *stylosum* (Wight) Hall y *Zeylanidium lichenoides* (Kurz) Engler. Estas especies presentan polen tricolgado (O'Neill *et al.*, 1977). En la subfamilia Tristichoideae, *Indostristicha ramosissima* (Wight) Van Royen tiene polen pantoporado (Rutishauser y Huber, 1991) y en Weddellinoideae, *Weddellina squamulosa* Tul. el polen es colgado (Rutishauser, 1997).

O'Neill *et al.* (1997) describieron la micromorfología y ultraestructura de *M. rubrum*, *O. coulteriana*, *P. ceratophyllum*, *T. trifaria* y *V. plumosa*, utilizando microscopía electrónica de transmisión (MET) y microscopía electrónica de barrido (MEB). Los caracteres sobresalientes fueron el polen microequinado, con cojines basales en la región interapertural y sin cojines basales en la región de aberturas; los cinco taxa comparten los caracteres de la sexina tectado-granular y la nexina gruesa en las regiones interaperturales y en las regiones de abertura, la sexina es semitectada y la nexina es delgada. El polen es tricolgado en *Marathrum rubrum*, *Podostemum ceratophyllum* y *Vanroyenella plumosa* y en *Oserya coulteriana* es 3 a 5-colgado, mientras que en *Tristicha trifaria* el polen es pantoporado.

El tipo y número de aberturas puede variar entre los taxa colgados, como ocurre en las Podostemoideae, donde se observa que *Oserya coulteriana* produce polen 5-colgado (O'Neill *et al.*,

1997), *Polypleurum stylosum* presenta el polen 3 ó 4-colpado (Rutishauser, 1997), mientras que en otras especies de Podostemaceae de África, Bezuidenhout (1964, en: O'Neill *et al.*, 1997), identificó mónadas 'nonacolpadas', mónadas 'nonacolpadas derivativas con seis colpos', mónadas 'zonadas' y diadas 'zonadas', utilizando microscopía de luz. Más aún, recientemente se ha encontrado que *Marathrum schiedeianum* (Cham.) Tul. produce mónadas espiraperturadas (O'Neill *et al.*, 1997).

En resumen, mientras que en Tristichoideae (*Tristicha* e *Indotristicha*) el polen es pantoporado, en Weddellinoideae (*Weddellina*) el polen es colporado y en Podostemoideae parece haber una gama de polen colpado, según se ha señalado anteriormente.

El aporte más significativo para esta familia, en cuanto al estudio palinológico de O'Neill *et al.* (1997), ha sido la descripción de un infratectum granular en la exina. Este tipo de infraestructura se ha considerado restringido para las angiospermas primitivas, como las Magnoliales (Walker y Skvarla, 1975; Doyle y Hotton, 1991 en: O'Neill *et al.*, 1997) y también estrechamente relacionado a plantas que producen polen del tipo de las gimnospermas como Gnetales, Bennettitales, Pentoxylales y *Eucommiidites* (= Anthophytas) (Osborn y Taylor, 1995). Este carácter y la presencia de un desarrollo de la antera del tipo Básico en la familia, el cual es considerado primitivo por Davis (1966), debieran llamar la atención en las consideraciones filogenéticas que se han hecho en Podostemaceae.

Es interesante que Cusset y Cusset (1988a, 1988b) hayan sugerido una clasificación que eleva a Podostemaceae a la categoría taxonómica de clase (Podostemopsida), junto a las clases Magnoliopsida y Liliopsida en las que tradicionalmente se ha separado a las angiospermas. Más aún, en un análisis filogenético inicial utilizando datos de secuencias del gen *rbcL*, las podostemáceas quedan en posición basal (Les *et al.*, 1997), pero los autores descartan estos resultados. En opinión de O'Neill *et al.* (1997), los resultados de su estudio palinológico pueden indicar que una pared polínica granular en las angiospermas puede tener implicaciones filogenéticas en algunos grupos y ecológicas en otros. En este último caso, la arquitectura granular del infratectum de la exina puede tener significado para un hábito acuático. Por ejemplo, otras angiospermas acuáticas no relacionadas con Podostemaceae también tienen un

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

componente granular en su pared polínica, como en *Ottelia*, Hydrocharitaceae (Takahashi, 1994 en: O'Neill *et al.*, 1997) y *Callitriche*, Callitrichaceae (Osborn y Philbrick, 1994).

Finalmente, varios autores han sugerido relaciones taxonómicas entre Podostemaceae, Saxifragaceae y Crassulaceae (van Royen, 1951; Cronquist, 1981; Les *et al.*, 1997) y los caracteres palinológicos considerados han sido la forma del grano, el tamaño y los tipos de abertura. Sin embargo, el infratectum granular de Podostemaceae es claramente distinto a la capa columelar infratectal que se menciona para Saxifragaceae y Crassulaceae (Verbeek-Reuvers, 1980; Parnell, 1991 en: O'Neill *et al.*, 1997).

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

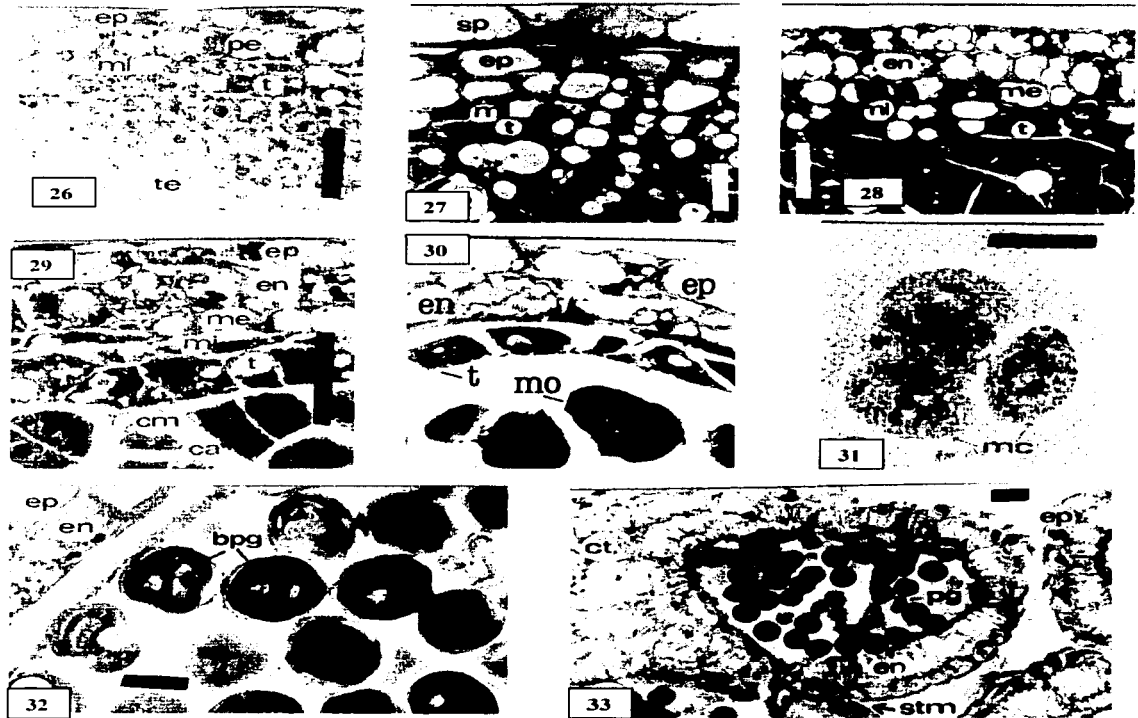


LÁMINA IV

Figura 26 y 27. Botones pequeños de la etapa I.

Figura 26. La división de la capa parietal secundaria interna origina una capa media interna y el tapete.

Figura 27. División periclinal de la capa parietal secundaria externa.

Fig. 28 a 33. Botones grandes de la etapa I.

Figura 28. Pared de la antera del tipo Básico de desarrollo. Epidermis, endoteco, capa media externa, capa media interna y tapete. Este último delimita a las células madres de las microsporas.

Figura 29. Pared de la antera mostrando el alargamiento en sentido periclinal de las capas media externa interna, el tapete prominente y las células madres del polen inmersas en la pared de calosa.

Figura 30. Pared de la antera formada por la epidermis, el endoteco y el tapete. Se observan los meiocitos.

Figura 31. Tétrada tetraédrica de microsporas

Figura 32. Botón de la etapa II. Granos de polen bicelular.

Figura 33. Botón de la etapa IV. Endoteco rodeando al lóculo de la antera, incluye la zona del conectivo.

Figuras 26 a 28 escala = 10 μ m.

Figuras 29 a 33, escala = 12 μ m.

Capa media interna (mi), capa parietal secundaria externa (pe), células madres de las microsporas (cm), epidermis (ep), endoteco (en), espátula (sp), granos de polen (pg), meiocitos (mo), microsporas (mc), pared de calosa (ca), polen bicelular (bpg), estomio (stm), tapete (t), tejido conectivo (ct), tejido esporógeno (te).

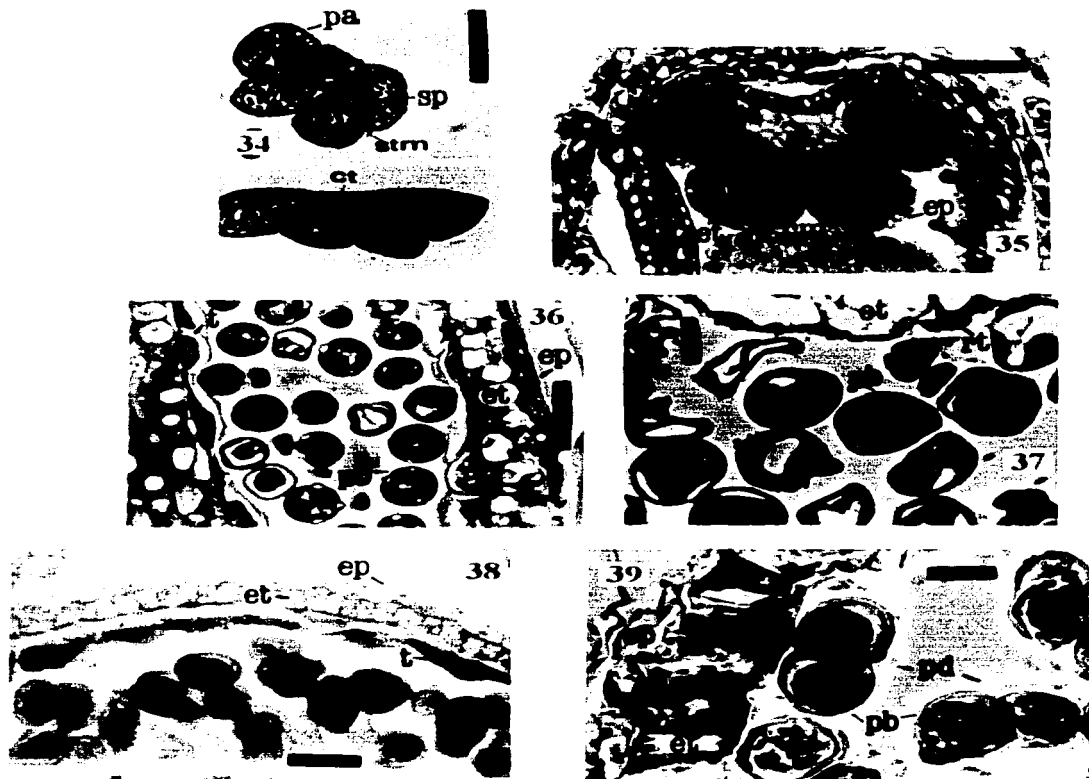


LÁMINA V

Figura 34. *Vanroyenella plumosa*. Botón de la etapa III. Corte transversal de las anteras maduras, se observa la forma desigual entre ellas, escala = 0.3 mm.

Figura 35. *Tristicha trifaria*. Se observa la pared de la antera inmadura con cuatro capas; la epidermis presenta células grandes.

Figura 36. *T. trifaria*. Lóculo de la antera delimitado por el tapete. Polen bicelular.

Figura 37. *Oserya coultieriana*. Polen en monadas bicelulares.

Figura 38. *Podostemum riccifforme*. Mitosis en diadas.

Figura 39. *P. riccifforme*. Polen en diadas bicelulares.

Figuras 35 a 39, escala = 12 μ m.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

Brácteas (br), capa media (cm), célula vegetativa (cv), célula generatriz (cg), epidermis (ep) endotecio (et), esporocitos (e), estomio (stm), meiosis (mei), pared de la antera (pa), polen bicelular (pb), polen doble (pd), restos del tapete (rt), tapete (t), tejido conectivo (ct).

7. Desarrollo del gineceo y del óvulo

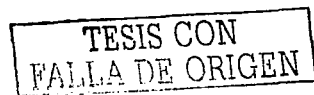
En las investigaciones embriológicas de la familia Podostemaceae, el desarrollo del gineceo ha sido escasamente abordado (Magnus, 1913; Razi, 1949; Chopra y Mukkada, 1966), a pesar de que la estructura receptiva del polen ha sido considerada indistintamente como estilo (Novelo y Philbrick, 1993), estilodio (Jäger-Zürn, 1997) o estigma (Tur, 1997; Mathew y Satheesh, 1997; Novelo y Philbrick, 1997; Rutishauser *et al.*, 1999; Cook y Rutishauser, en prensa) y también a pesar de que el ovario sostiene el desarrollo y la maduración de las semillas por varias semanas aún cuando la planta madre ha muerto (Philbrick y Novelo, 1994); en estos aspectos se carece de un análisis estructural que permita entender las estrategias de las podostemáceas para la polinización, la fecundación y el desarrollo de la unidad de dispersión. Los estudios del óvulo han enfocado su interés en el desarrollo del saco embrionario y del plasmodio nucelar, pero no se ha analizado de manera comparada la dinámica morfogénica de ambas estructuras en las tres subfamilias de Podostemaceae.

En esta familia se encuentran tres tipos principales de gineceo. En la subfamilia Weddellinoideae (Jäger-Zürn, 1997; Kita y Kato, 2001) el gineceo consiste de un ovario bicarpelar y bilocular cuya parte superior es paracárpica, con el septo incompleto y la región basal sincárpica; de este ovario surge el estilo bien diferenciado con un estigma globular y papiloso en posición distal (Jäger-Zürn, 1997). La subfamilia Podostemoideae presenta un ovario bicarpelar y bilocular sincárpico, con un septo delgado y en el ápice dos estigmas sésiles. En la subfamilia Tristichoideae el ovario es tricarpelar y trilocular sincárpico, con tres estigmas lineares sésiles (Cook y Rutishauser, en prensa).

A continuación se analiza el desarrollo del gineceo y del óvulo de *Vanroyenella plumosa* y se compara con el de *M. rubrum*, *P. ricciiforme*, *O. coulteriana* (todas ellas incluidas en la subfamilia Podostemoideae) y *T. trifaria* (de la subfamilia Tristichoideae).

a) Desarrollo del estigma

En el desarrollo temprano del gineceo de *V. plumosa*, que corresponde al intervalo en que se han diferenciado los verticilos sexuales a partir del meristemo floral (Fig. 40, etapa I), se forman dos protuberancias de parénquima en el ápice, como una continuación del carpelo; este tejido constituye el primordio de los estigmas y está delimitado por una epidermis (Fig. 41, etapa



I). En el parénquima de estas estructuras muy pronto se diferencian pequeños idioblastos que se distribuyen a intervalos cortos por todo la región subepidérmica; cada idioblasto presenta una vacuola que desplaza al citoplasma y al núcleo celular hacia la periferia. Conforme avanza el desarrollo de estas células el volumen de la vacuola aumenta (Fig. 42, etapa I) y en la madurez los idioblastos han aumentado varias veces su tamaño (Fig. 43, etapa IV) y contienen carbohidratos e inclusiones de naturaleza protéica.

La epidermis estigmática es lisa (no papilada) y está protegida por una cutícula; estas células presentan reacción positiva para carbohidratos y su citoplasma contiene proteínas. En imagen de MEB, el ápice de cada estigma no es continuo, sino bi o trifurcado (Fig. 44, etapa V), aunque Rutishauser *et al.* (1999) afirman que en *V. plumosa* la mayoría de las flores tiene lóbulos estigmáticos enteros. En las superficies dorsal y ventral de cada estigma, resaltan los idioblastos como protuberancias (Fig. 45, etapa V). Una vez completado su desarrollo los dos estigmas son sésiles y cada uno tiene apariencia cónica con una región dorsal oblicua y otra ventral recta; esta última es plana (Fig. 46, etapa IV) y los estigmas están próximos entre sí, pero se alejan uno del otro al momento de la anthesis, formando ángulos de $\pm 45^\circ$.

El desarrollo de los estigmas en *M. rubrum* es similar al de *V. plumosa*, ya que también se producen idioblastos subepidérmicos; en cambio, el desarrollo de los estigmas de *P. ricciiiforme* es similar al de *T. trifaria*. En estas dos especies las células de la epidermis estigmática son cuadrangulares cuando inmaduras (Fig. 47) y piriformes en la madurez, con apariencia de papilas (Fig. 48), mientras que en *O. coulteriana* las células de la epidermis estigmática son rectangulares en empalizada (Fig. 49).

En todos los casos los estigmas son sésiles y su forma no es linear, son más bien anchos en la base y la forma del ápice varía: en *Marathrum* y *Vanroyenella* es cónica, aunque en *V. plumosa* el ápice puede ser ocasionalmente bifurcado (Rutishauser *et al.*, 1999). En *O. coulteriana* el ápice es oval, en *P. ricciiiforme* es obtuso y en *T. trifaria* es agudo.

Discusión

- Morfología del estigma

Cook y Rutishauser (en prensa) mencionan que en las podostemáceas los estigmas son lineares, que en la subfamilia Podostemoideae los dos estigmas son libres y que en la subfamilia

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

Tristichoideae los tres estigmas son simples, a excepción de muestras australianas de *Tristicha trifaria* que presentan estigmas bifurcados. Estas son algunas generalizaciones acerca de la morfología del estigma que, aludiendo a caracteres como el número, la forma, el contorno o la posición no han sido consideradas para fines de comparación a pesar de que varían entre los taxa, como puede apreciarse a continuación.

En *Hydrobryum griffithii* y *Zeylanidium lichenoides* cada par de estigmas presenta una gama “que va de simple, estrecha, subulada a ampliamente obcuneada con muchos dientes” (Willis, 1902b en: Cook y Rutishauser, en prensa). En el género *Crenias*, excepto una especie, los dos estigmas son multilobados mientras que en el género *Podostemum*, cercanamente relacionado, los estigmas son enteros. En una especie del género *Angolaea* se presenta un solo estigma semigloboso conectado al ovario por un estilo corto (Cook y Rutishauser, en prensa) y en Weddellinoideae se presenta sólo un estigma globoso sobre un estilo largo (Jäger-Zürn (1997). Unos pocos taxa muestran los lóbulos estigmáticos libres, como *Vanroyenella* y *Marathrum* (Rutishauser *et al.*, 1999), aunque en *M. schiedeanum* Cook y Rutishauser (en prensa) observan que los estigmas están unidos basalmente en una corta región estilar, similar a *Hydrobryum micrantherum* (Cusset, 1992). En *Polypleurum stylosum* los dos estigmas se curvan hacia el lado ventral del ovario; durante su desarrollo uno crece encima del otro, de modo que puede distinguirse un estigma superior y otro inferior (Khosla *et al.*, 2000).

- Superficie estigmática

En lo descrito anteriormente se observa que no sólo existe variación morfológica en la apariencia de los dos estigmas que caracterizan a la subfamilia, sino también que la superficie puede ser “dentada, lobulada, entera o semiglobosa” (Cook y Rutishauser, en prensa). Esta podría ser la causa de que, por ejemplo, Jäger-Zürn (1997) les llame estilodios en general, mientras que otros autores les nombren como estigmas (Magnus, 1913; Philbrick, 1984; Cusset y Cusset, 1988b), o que en géneros como *Indotristicha* y *Dicraea* Sculthorpe (1967) les llame estilos o estigmas indistintamente, pero en *Cladopus*, *Torrenticola* y *Farmeria* el mismo autor les llame propiamente estigmas. Trabajos taxonómicos recientes los refieren como estigmas (Tur, 1997; Mathew y Satheesh, 1997; Novelo y Philbrick, 1997; Cook y Rutishauser, en prensa; Murguía *et al.*, 2001) y los resultados del presente estudio apoyan esta consideración e indican que el

estudio de la estructura celular de los estigmas en la familia Podostemaceae es un campo que aún no ha sido abordado de manera sistemática y que puede ser una fuente de datos que permitan establecer las afinidades anatómicas entre los taxa que forman parte de la familia.

En general, las células del estigma son de naturaleza más o menos glandular (Raghavan, 1997) y los productos celulares que las cubren en la madurez pueden ser abundantes (estigma "húmedo") o escasos (estigma "seco") (Heslop-Harrison y Shivanna, 1977). Los estigmas que generalmente son papilosos y cuya superficie tiene patrones celulares específicos son del tipo seco, mientras que los estigmas que tienen pocas papilas, o que carecen de ellas, son del tipo húmedo; aunque este carácter ha sido escasamente estudiado, se ha observado que algunas familias de monocotiledóneas (Amaryllidaceae, Commelinaceae y Liliaceae) y de dicotiledóneas (Onagraceae y Rosaceae) incluyen géneros con ambos tipos de estigmas; incluso en *Linum grandiflorum* las flores que exhiben los morfos pin, presentan el estigma seco, mientras que los morfos florales thrum tienen el estigma húmedo (Raghavan, 1997).

En las Podostemaceae aquí estudiadas, la ausencia de papilas en los estigmas de *M. rubrum*, *V. plumosa* y *O. coulteriana* pueden corresponder al tipo de estigma húmedo y la apariencia papilosa de los estigmas de *P. ricciiforme* y *T. trifaria* parecen ajustarse al tipo de estigma seco en la clasificación elaborada por Heslop-Harrison y Shivanna (1977). En el primer caso, los idioblastos que se presentan en *M. rubrum* y *V. plumosa* (y que contienen carbohidratos e inclusiones de naturaleza protéica) sugieren una actividad secretora, lo que podría justificar la inclusión de estas especies en el grupo de los estigmas húmedos; sin embargo, Philbrick y Novelo (1998) describen estigmas secos en la antesis de *M. rubrum* y el estigma de *O. coulteriana* no muestra alguna modificación durante su desarrollo, aspectos que merecen ser reinvestigados.

En otras plantas acuáticas como *Typha* (Typhaceae), *Potamogeton* (Potamogetonaceae), *Amphibolis* y *Thalassodendron* (Cymodoceaceae), la superficie estigmática es lisa y seca (Grant, 1989), pero en Rosaceae, una familia relacionadas con Podostemaceae, en los estigmas secos se encuentran dos tipos celulares, como se observa en *Potentilla* cuyo estigma es liso; en cambio *Filipendula* y *Geum* tienen superficie estigmática papilada (Grant, 1989). A su vez en Saxifragaceae, que es otra familia relacionada con Podostemaceae, se encontró que de nueve

géneros estudiados por Heslop-Harrison y Shivanna (1977), tres géneros tienen estigmas papilados secos y en los seis restantes, los estigmas son papilados y húmedos.

- *Histoquímica del estigma*

Mattsson *et al.* (1974, en: Raghavan, 1997) encontraron que en la superficie estigmática de algunas plantas se deposita una capa protéico-lipídica extracelular e hidratada a la que denominan película (pellicle); ésta, en asociación con las células epidérmicas, facilita la captura e hidratación del polen y constituye el sitio de reconocimiento durante las interacciones polen-estigma. Aunque en investigaciones posteriores se ha visto que la película se encuentra tanto en estigmas secos como en estigmas húmedos, hasta ahora no se ha determinado con precisión su origen (Raghavan, 1997), además de que los conocimientos actuales han emanado principalmente del estudio de papilas estigmáticas. Por su parte, Endress (1994) señala que los estigmas secos tienen una capa protéica que yace sobre una cutícula discontinua.

En este estudio, la presencia de cutícula en la epidermis estigmática tanto de *P. ricciiforme* y *T. trifaria*, como de *M. rubrum*, *O. coulteriana* y *V. plumosa* conduce a investigar con mayor precisión las características histoquímicas de este depósito extracelular, pues podría corresponder a la película anteriormente mencionada. Por ejemplo, Rutishauser (1997) observa que los estigmas de *Zeylanidium lichenoides* (India) y *Tristicha trifaria* (África) exhiben polen adherido únicamente en la superficie adaxial; en *Polypleurum stylosum* Khosla *et al.* (2000) encontraron que casi la mitad del estigma superior y el ápice del estigma inferior dan positivo para la detección de proteínas, lo que indica que la superficie entera del lóbulo estigmático puede no ser receptiva; en cambio, en *M. rubrum* “la superficie completa de los estilos parece ser receptiva” pues se observaron numerosos tubos polínicos (Philbrick y Novelo, 1998). Aunque en estos tres ejemplos no se realizaron estudios anatómicos, es posible que la adhesión del polen a la superficie estigmática ocurra de manera diferencial en los primeros casos y sea uniforme en el tercer caso. Este aspecto requiere de mayor investigación pues puede aportar datos para la interpretación de los tipos de polinización que se han sugerido para la familia, a saber, anemofilia y entomofilia (Philbrick y Novelo, 1993).

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

Se sabe que en general las vacuolas que se desarrollan en el citoplasma de las plantas pueden contener, además de agua y un pH frecuentemente ácido, antocianinas y flavonas responsables del color de flores y frutos, cristales de oxalato de calcio (drusas y rafidios) como productos del metabolismo o reservorios de calcio. Además se han identificado taninos, grasas, ácidos orgánicos y enzimas (amilasas, lipasas, proteasas) que desempeñan diversas funciones en la actividad celular, o inulina como carbohidrato de reserva similar al almidón, e incluso granos de aleurona que están formados por un cristal protéico y gránulos de fitina, resinas, aceites esenciales, glucósidos y alcaloides (Thomas-Domenech, 1970).

En los idioblastos subepidérmicos del estigma de *M. rubrum* y *V. plumosa* la presencia de carbohidratos, lípidos y proteínas en un volumen significativo, comparado con el resto del tejido estigmático y de transmisión, sugiere un papel importante en la recepción del polen y/o en la alimentación de los tubos polínicos. Por ejemplo, en *Petunia hybrida* el metabolismo de carbohidratos y lípidos en las capas subepidérmicas parece estar involucrado en la diferenciación de papilas bicelulares estigmáticas, pues éstas llegan a estar llenas con almidón y glóbulos de aceite (Konar y Linskens, 1966 en: Raghavan, 1997). Las sustancias lipoidales protegen el estigma contra la desecación y mantienen la humedad, también facilitan la captura del polen y su adherencia a la superficie del estigma, además de que los carbohidratos probablemente ayudan en la germinación del polen (Raghavan, 1997). Si bien no se incluyeron flores polinizadas en la presente investigación, es de esperar que los contenidos idioblásticos sean expulsados en algún momento posterior a la antesis, pues no se observó ningún cambio en la estructura ni en los contenidos de los idioblastos en flores recién abiertas.

Si bien escasos, los conocimientos que se han generado acerca de la estructura celular del estigma y de sus productos han mostrado que son pertinentes para ampliar nuestra comprensión del control de los sistemas reproductivos en las plantas, incluido el fenómeno de la polinización, como sugiere la presencia de los idioblastos que se encuentran distribuidos en todo el parénquima subestigmático de las regiones abaxial y adaxial de cada estigma en *V. plumosa* y *M. rubrum*. Esto parece indicar una función secretora, que puede tener implicaciones en la recepción del polen y/o en la alimentación del tubo polínico durante su recorrido por el estigma. Por ejemplo, en su estudio del sistema reproductivo de *M. rubrum*, Philbrick y Novelo

(1998) han encontrado que los estigmas son receptivos tan pronto como la espátula se rompe y antes de la dehiscencia de la antera (protoginia), la cual ocurre hasta la tarde del mismo día o la mañana del día siguiente.

Entre las especies estudiadas, las diferencias más notables se aprecian en la estructura celular del estigma y de la pared del ovario (Cuadro 14). Con respecto al estigma, se conforman tres grupos: en el primero, *V. plumosa* y *M. rubrum* tienen epidermis estigmática lisa con células periclinalmente rectangulares y la presencia de idioblastos subepidérmicos; en el segundo grupo *O. coulteriana* se encuentra en posición intermedia por su epidermis estigmática con células en empalizada y sin idioblastos; el tercer grupo lo constituyen *P. ricciiforme* y *T. trifaria* cuya epidermis estigmática es papilosa. Respecto a la pared del ovario, se distinguen dos grupos: *V. plumosa*, *M. rubrum*, *O. coulteriana* y *P. ricciiforme* presentan la epidermis interna con lípidos y taninos, mientras que en *T. trifaria* la epidermis externa es la que presenta este carácter.

Cuadro 14. Características celulares del estigma y de la pared del ovario en 5 especies de la familia Podostemaceae.

Subfamilia	Podostemoideae				Tristichoideae
Especie	<i>V. plumosa</i>	<i>M. rubrum</i>	<i>O. coulteriana</i>	<i>P. ricciiforme</i>	<i>T. trifaria</i>
<u>Estigma</u>					
Epidermis	lisa	lisa	lisa	papilosa	papilosa
Forma de las células	rectangulares periclinalmente	rectangulares periclinalmente	rectangulares anticlinalmente	piriformes	piriformes
Ubicación de los idioblastos	estigma	estigma, pared del ovario y de la placenta	-----	-----	-----
<u>Ovario</u>					
Lípidos y taninos	epidermis interna				epidermis externa

b) Tejido de transmisión

Mientras se desarrollan los primordios de los estigmas, entre las células del parénquima estigmático de *V. plumosa* (desde la base hacia el ápice de cada estigma) se diferencian hileras longitudinales de células que se distinguen por su forma estrecha y alargada (Fig. 42); estas

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

ESTA TESIS NO SALE
DE LA BIBLIOTECA

células posteriormente se definen como bandas de tejido de transmisión que se caracterizan por su citoplasma denso, con acumulaciones de naturaleza lipídica y carbohidratos. Este tejido, que podría ser mixto por la presencia de células de tejido de transmisión inmersas en el parénquima, comunica a los estigmas con el septo de la parte superior de la placenta (Figs. 43, 46). Tanto en *P. ricciiforme* como en *O. coulteriana* (Fig. 49) se observan algunas hileras de células largas y estrechas que por su apariencia pueden corresponder al tejido de transmisión, si bien no presentan el citoplasma denso como en *V. plumosa* (Fig. 46), *M. rubrum* y *T. trifaria*.

Discusión

Por definición, el estilo es la parte entre el ovario y el estigma y su estructura es alargada generalmente (Tootil, 1988); se delimita por la epidermis y en su interior un córtex envuelve a los tejidos vascular y de transmisión (Raghavan, 1997). De acuerdo con la definición anterior, en la familia Podostemaceae sólo el gineceo de *Weddellina squamulosa* (Weddellinoideae) presenta estilo. En el resto de las especies de esta familia y particularmente en las aquí estudiadas (*M. rubrum*, *P. ricciiforme*, *O. coulteriana* y *T. trifaria*) el ovario carece de estilo y, aunque Rutishauser *et al.* (1999) señalan que puede haber un estilo corto en *Vanroyenella* y *Marathrum*, ésto no se observó en las especies analizadas. En éstas, el tejido de transmisión se extiende intercalado en el parénquima, desde el septo del ápice de la placenta hasta la región subepidérmica del estigma y no se observan haces vasculares, lo que refuerza el hecho de que las podostemáceas aquí estudiadas carecen de estilo.

En diversas familias de angiospermas pueden encontrarse ejemplos de estigmas sésiles, así ocurre en *Drimys* (Winteraceae) (Bhojwani y Bhatnagar, 1981), *Papaver rhoeas* (Papaveraceae) (Franklin-Tong y Franklin, 1993) o *Zea mays* (Poaceae) (Bedinger *et al.*, 1994) que no presentan un estilo bien diferenciado. En las dos primeras especies el carpelo carece de estilo, así que el estigma se localiza directamente sobre el ovario y el tejido de transmisión se desplaza a través del parénquima hacia la placenta, sin vascularización aparente; en el caso del maíz, cuyo estigma es de los más largos entre las angiospermas (hasta 75 cm), la epidermis estigmática delimita a un parénquima en el que van inmersos dos haces vasculares y el tejido de transmisión.

Un análisis de quimeras periclinales de *Datura stramonium* ha mostrado que las capas superficiales del estigma, las células del estilo y la epidermis placentaria en el ovario derivan de la

misma capa meristemática y así como las células de la epidermis estigmática se especializan en la producción de sustancias involucradas en la recepción, adhesión, hidratación y germinación del polen, las células del estilo tienen la función de alimentar, reconocer y dirigir el crecimiento del tubo polínico y reciben el nombre de tejido de transmisión (Raghavan, 1997). Aunque no hay estilo en las especies de Podostemaceae aquí estudiadas, la formación de idioblastos subepidérmicos en la región estigmática muy pronto es acompañada por la formación de las células del tejido de transmisión, lo que indica que está asegurada la función de nutrición del tubo polínico.

Aunque los estudios de la estructura celular y del metabolismo del tejido de transmisión se han realizado en especies con estilo bien diferenciado, como se observa en *Petunia hybrida*, *Nicotiana tabacum*, *N. alata*, *Brugmansia suaveolens* y *Triticum aestivum* (Raghavan (1997), se ha puesto énfasis precisamente en las células de este tejido de transmisión y las características descritas coinciden en varios aspectos con las del tejido de transmisión en las especies estudiadas en el presente trabajo. Por ejemplo, las células son generalmente alargadas, algo fusiformes en sentido axial, siempre se distribuyen desde el estigma hasta el septo del ovario que conduce hacia la placenta y el citoplasma es denso. Entre las sustancias que componen los fluidos producidos por estas células se han detectado pectinas, polisacáridos, taninos, proteínas, compuestos fenólicos y lípidos (dependiendo de las especies, se les detecta solos o mezclas de ellos), así como enzimas como esterases, fosfatasa ácida y glucosa 6-fosfatasa (Knox, 1984b, en: Raghavan, 1997) en cuya síntesis participan diferentes organelos o sistemas de membranas en el citoplasma celular. Aunque no se realizó una investigación histoquímica profunda en las especies aquí abordadas, la detección de células con citoplasma denso y contenidos lipídicos y de carbohidratos principalmente, además de su morfología, permitió diferenciar este tejido del parénquima ordinario. Incluso en la antesis abunda más el tejido de transmisión que el parénquima ordinario del estigma. Es de esperar que el estudio de la ontogenia del estigma y del tejido de transmisión (para el que tal vez pudiera acuñarse el término de transmisénquima) entre las especies de la familia Podostemaceae permitirá establecer con mayor precisión las semejanzas y diferencias existentes entre ellas, respecto a la estructura celular, a los componentes químicos y su comportamiento durante la fase progámica.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

c) Desarrollo del ovario

Desde las etapas más tempranas del desarrollo floral de *V. plumosa*, la pared del ovario presenta 5-7 capas celulares (Fig. 50); las células que forman estas capas aumentan su tamaño y los cambios más evidentes corresponden al aumento del contenido de sustancias químicas que se almacenan en este tejido. En los fascículos muy jóvenes (etapa I), las células de la pared del ovario en los botones más pequeños, no contienen almidón o lípidos. Estas sustancias aparecen en los botones de mayor longitud, en la misma inflorescencia. Posteriormente, las células de la epidermis interna de la pared del ovario empiezan a acumular inclusiones esféricas lipídicas que aumentan de volumen, al mismo tiempo se deposita una delgada cutícula en la superficie que mira al lóculo (Fig. 51) luego, las gotas de lípidos coalescen llenando completamente estas células y en la superficie de la epidermis interna del ovario la cutícula continúa su engrosamiento (fig. 52). En este proceso, las dos capas celulares más próximas a la epidermis interna del ovario contienen también acumulaciones lipídicas, además de gránulos de almidón y la cutícula se ha compactado (Fig. 53). Una vez diferenciada, la pared del ovario presenta dos regiones estructuralmente diferentes: las zonas costal e intercostal. Las costillas tienen haces vasculares y fibras (Fig. 54), mientras que las zonas intercostales no los presentan (Fig. 55). En ambos casos, las células epidérmicas externas del ovario presentan perfiles rectangulares en sentido periclinal; las células contienen gránulos de almidón y una cutícula mucho más delgada que la correspondiente a la epidermis interna. Se detectaron grandes cantidades de almidón en el parénquima de ambas regiones. En *M. rubrum*, *O. coulteriana*, *P. ricciiforme* (Podostemoideae) *T. trifaria* (Tristichoideae) el parénquima de la pared del ovario también presenta almidón abundante.

En *M. rubrum*, el desarrollo del gineceo es casi idéntico al descrito en *V. plumosa* pero, mientras que en *V. plumosa* se observan idioblastos únicamente en el estigma (Murguía *et al.*, 2001), en *M. rubrum* éstos se extienden hasta la pared del ovario (Fig. 56) y se les observa también en el parénquima de la placenta adyacente al funículo (Fig. 57). El resto de las especies aquí estudiadas no presenta estos caracteres.

En *Tristicha trifaria* (Tristichoideae), desde las etapas más tempranas de su desarrollo, la pared del ovario presenta 4 capas celulares; en esta etapa las células de la pared del ovario no

presentan almidón o lípidos, estas sustancias aparecen masivamente en los botones con mayor desarrollo. De manera opuesta a lo que ocurre en las Podostemoideae aquí estudiadas, en *T. trifaria* las células de la epidermis externa de la pared del ovario empiezan a acumular inclusiones esféricas lipídicas; posteriormente los lípidos (y posiblemente también taninos) llenan las células completamente. En este proceso, la capa subepidérmica también acumula lípidos (Fig. 58). Comparativamente, las células de la epidermis interna forman un estrato de células más pequeñas que el resto de las capas de la pared del ovario; éstas presentan núcleos muy pequeños y sobre ellas se deposita una delgada cutícula hacia el interior del lóculo; se observan granos de almidón en los estratos externos de la pared del ovario (Fig. 59).

Discusión.

Las referencias a la ontogenia y estructura del ovario son muy escasas para las especies de la familia Podostemaceae y la información que se proporciona está incompleta. Por ejemplo, se describe que "el ovario contiene almidón abundante" y que "las células de la epidermis interna del ovario son binucleadas y semejantes a un tapete" (Kapil, 1970). En *Lawia ceylanica* la epidermis externa de la pared del ovario es similar a la de otras partes de la flor, pero las células de la epidermis interna son más grandes que las externas; las tres o cuatro capas de parénquima que siguen son grandes y contienen almidón (Razi, 1949); la pared del ovario de *Indotristicha ramosissima* (Tristichoideae) "presenta abundantes granos de almidón y la epidermis interna es semejante al tapete, es binucleada" (Mukkada y Chopra, 1973).

En sentido estricto, estas citas llevan a inferir primero que *Lawia ceylanica* e *Indotristicha ramosissima* comparten con *M. rubrum*, *O. coulteriana*, *P. ricciiforme* (Podostemoideae), y *T. trifaria* (Tristichoideae) el carácter de presencia de almidón en la pared del ovario, en segundo lugar sugieren que la epidermis interna del ovario es similar a la observada en las especies de Podostemoideae aquí estudiadas y en tercer lugar resaltan que puede haber un error de apreciación al considerar el parecido con un tapete, lo que en realidad es un proceso de coalescencia de materiales ergásticos en el citoplasma. En todo caso, la epidermis del ovario en estas especies acumula lípidos y tal vez también taninos pero, mientras que en *I. ramosissima* se observan en la epidermis interna, en *T. trifaria* se observan en la epidermis externa, no obstante que ambas pertenecen a la subfamilia Tristichoideae.

La pared del ovario de *Weddellina squamulosa* (Jäger-Zürn, 1997) es similar en su estructura celular a la encontrada en las especies de Podostemoideae aquí estudiadas, pues tanto la epidermis interna como la subepidermis presentan modificaciones. La primera tiene paredes celulares engrosadas, lo que disminuye el lumen celular, mientras que la hipodermis, que es referida como “células prosenquimáticas” (Jäger-Zürn, 1997), sufre engrosamientos de sus paredes en forma de V y esta estructura persiste en la cápsula madura. No se menciona su naturaleza química, aunque se aprecia una cutícula gruesa sobre la epidermis y no se presenta vascularización en la pared del ovario, pero las ondulaciones conspicuas en la cápsula se deben a engrosamientos irregulares, verticalmente orientados, que se originan en las células prosenquimáticas subhipodérmicas (Jäger-Zürn, 1997), sin que hasta ahora se haya realizado un análisis del desarrollo del ovario y del estigma en esta familia. La estructura del ovario en *Dalzellia ceylanica* e *I. ramosissima* (Tristichoideae) y *W. squamulosa* (Weddellinoideae), así como en otras especies de Podostemoideae que han sido estudiadas en décadas pasadas, es similar a la encontrada en *V. plumosa* (Murguía et al., 2001), *M. rubrum*, *O. coulteriana* y *P. ricciiforme* (Podostemoideae). En cambio, se presenta una situación inversa en el ovario de *T. trifaria* (Tristichoideae) ya que es la epidermis externa la que acumula lípidos y posibles taninos.

Philbrick y Novelo (1994) señalan que en *V. plumosa* y en algunas Podostemaceae de México, la maduración de la semilla ocurre durante un período aproximado de tres semanas después de que los tejidos fotosintéticos (hojas, tallos y raíces) se han desprendido, desaparecido o secado. Así, la protección de los óvulos fecundados contra la desecación y las reservas necesarias para el desarrollo de las semillas, no parecen provenir directamente de los tejidos fotosintéticos vegetativos, sino que al parecer provienen de los lípidos y el almidón almacenados en grandes cantidades en la pared del ovario y en la placenta. Esto no se ha observado en ninguna otra familia de angiospermas.

Óvulo

a) Desarrollo del megasporangio, plasmodio nucelar y megagametofito

En el ovario de *V. plumosa* se producen más de 400 óvulos sobre una placenta axilar (Fig. 60). Cada óvulo es tenuinucelado, bitégmico, anátropo y exóstomo, con un funículo muy

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

corto. La placenta de *V. plumosa* presenta un eje vascularizado que une el receptáculo con la base del tejido de transmisión, los haces vasculares no se extienden más allá del ápice del ovario ni entran a los óvulos.

En las flores fasciculadas de *V. plumosa* de la etapa I, dentro del ovario de los botones florales más pequeños se observa el crecimiento y curvatura inicial de la nucela. Los numerosos primordios nucelares emergen de la placenta (Fig. 61); cada uno está representado por una célula central prominente que está rodeada por la epidermis de la placenta; ésta al proliferar por crecimiento y divisiones anticlinales, constituye la protodermis nucelar (Fig. 62). Divisiones anticlinales de la protodermis nucelar y periclinales de la célula central acompañan el crecimiento de la nucela que empieza a curvarse (Fig. 63). En los botones más grandes de la etapa I, la nucela ha completado su curvatura y presenta una epidermis nucelar que delimita una hilera de 5 a 7 células nucelares (Fig. 64).

En la etapa II del desarrollo floral se forman los tegumentos, el plasmodio nucelar y el saco embrionario. En los botones florales más pequeños de esta etapa se ha diferenciado el funículo y el tegumento externo empieza a rodear la nucela desde la región calazal, mientras que en el extremo micropilar se ha diferenciado una célula arqueosporial (Fig. 65); en el extremo calazal de la nucela se aprecia el surgimiento lateral del tegumento interno (Fig. 66). El tegumento externo se desarrolla primero y de manera asimétrica, por lo que en su crecimiento adquiere la curvatura propia de un óvulo anátropo, forma el micrópilo y presenta un funículo muy corto; en cambio, el tegumento interno se desarrolla simétrica y lentamente, es más corto y únicamente delimita el extremo calazal de la nucela. En este momento la célula arqueosporial ya se ha diferenciado, dando lugar a la célula madre de la megaspora, la cual permanece fuera del tegumento interno, en contacto con el tegumento externo y rodeada sólo por la epidermis nucelar en su extremo micropilar (Fig. 67).

En los botones más desarrollados de la etapa II, la célula madre de la megaspora está en la etapa final de la interfase (Fig. 68). Cuando se observa el alineamiento metafásico de sus cromosomas, ha dado inicio el proceso meiótico; al mismo tiempo las células de la epidermis nucelar y de la nucela adyacentes a la célula madre de la megaspora, se han alargado (Fig. 69). En la díada resultante las células son desiguales, la célula del extremo calazal de la díada es

mucho mayor que la célula del extremo micropilar; el citoplasma de las células nucelares adyacentes al extremo calazal de la díada se torna denso y en las células nucelares del extremo micropilar las paredes celulares son más gruesas (Fig. 70). En el óvulo, la región de la cálaza muestra una hilera de 4 a 5 células nucelares que se mantiene sin cambios y las células adyacentes al extremo calazal de la díada continúan alargadas y con el citoplasma denso (Fig. 71). La célula calazal de la díada completa la segunda división meiótica pero no ocurre citocinesis. De los dos núcleos resultantes, el que está en posición micropilar es más grande. El más pequeño se desplaza hacia el extremo calazal en el citoplasma, sin participar en las posteriores divisiones mitóticas para formar el saco embrionario. En este momento el alargamiento de las células nucelares no sufre cambios. El componente micropilar de la díada degenera y adquiere apariencia picnótica (Fig. 72).

En la díada funcional el núcleo haploide del extremo micropilar se divide periclinalmente y la citocinesis produce una célula micropilar y una célula calazal, ambas entran en mitosis; la célula micropilar se divide primero y el huso mitótico es transversal produciendo dos sinérgidas, a continuación la célula calazal se divide, el huso mitótico es longitudinal y origina la ovocélula y una célula polar. Una vez que el saco embrionario tetracelular se ha formado, persiste el componente de la díada micropilar de apariencia picnótica y con forma de "luna creciente", como se observa en otras podostemáceas. Mientras esto ocurre, se degradan las paredes celulares de la nucela adyacente al extremo calazal del saco embrionario y los núcleos remanentes en su mayoría se desplazan hacia el extremo calazal de esta estructura que ahora recibe el nombre de plasmodio nucelar o "pseudo-saco embrionario"; las células de la epidermis nucelar que rodean el saco embrionario en el extremo micropilar, han aumentado el grosor de su pared primaria (Fig. 73). El plasmodio nucelar o "pseudo-saco embrionario" ocupa la cavidad rodeada por el tegumento interno; a su vez, el plasmodio está delimitado por una delgada cutícula nucelar en su vecindad con la capa más interna de este tegumento (Fig. 74).

A partir de la etapa III, los tegumentos crecen considerablemente. El tegumento externo está formado por 4 a 5 estratos celulares parenquimáticos y contiene almidón abundante; el tegumento interno no presenta almidón y consiste de dos capas celulares con paredes muy gruesas. Su superficie interna, que da hacia la cavidad ocupada por el plasmodio, tiene una cutícula. El óvulo maduro contiene un saco embrionario tetracelular que es rodeado

por la epidermis de la nucela en su extremo micropilar y un plasmodio nucelar que conserva una hilera de 3 a 5 pequeñas células en el extremo calazal y que se encuentra protegido por el tegumento interno (Fig. 75). No se observa vascularización en el óvulo.

Habiendo encontrado que en las flores fasciculadas de *Vanroyenella plumosa* la megasporogénesis y la megagametogénesis ocurren en los botones florales más pequeños (etapas I y II) (Murguía *et al.* 2001, 2002), se procedió a analizar las primeras etapas del desarrollo floral en botones pequeños de *Marathrum rubrum*, *Oserya coulteriana*, *Podostemum ricciiforme*, (Podostemoideae) y en *Tristicha trifaria* (Tristichoideae).

En *M. rubrum*, la formación de los tegumentos, el saco embrionario y el plasmodio nucelar es muy similar a como ocurre en *V. plumosa*: el tegumento externo surge primero y después emerge el tegumento interno. Cuando en la célula calazal de la díada se completa la meiosis-II, la cariocinesis es asimétrica y sólo es funcional el núcleo del extremo micropilar (Fig. 76). Pero, a diferencia de *V. plumosa*, en *M. rubrum* el plasmodio nucelar se ha formado antes que el saco embrionario (Fig. 77).

En *O. coulteriana*, *P. ricciiforme* y *T. trifaria* no fue posible observar la meiosis, por lo que no se estableció el tipo de desarrollo del gametofito femenino y tampoco se observó la formación del tegumento interno. Esto se debe a que las primeras etapas del desarrollo floral seleccionadas para el estudio no fueron lo suficientemente cercanas entre sí para registrar el proceso meiótico; sin embargo, en la nucela la presencia de la célula madre de la megaspora en posición hipodérmica indica que el desarrollo del óvulo es tenuinucelado.

En estas especies no se forma el plasmodio nucelar de la misma manera como ocurre en *M. rubrum* y *V. plumosa*, sino que, a pesar de estar ya formado el saco embrionario tetracelular y de que persiste el elemento micropilar de la díada con apariencia picnótica, en *O. coulteriana*, *P. ricciiforme* y *T. trifaria*, las células nucleares adyacentes al saco embrionario y las delimitadas por el tegumento interno incrementan su tamaño, se mantienen nucleadas y únicamente su pared celular se adelgaza; la morfología celular de este tejido hipertrofiado difiere entre las especies. Cuando en *P. ricciiforme* el saco embrionario ya es tetracelular, persisten de 9 a 11 células nucleares que conservan su núcleo, según se muestra en secciones transversales de óvulos, lo cual indica que estas células rectangulares y alargadas de la nucela aún no han completado la

degradación de sus paredes celulares para conformar el plasmodio nucelar (Fig. 78); de la misma manera, en corte longitudinal del óvulo de *O. coulteriana* se observan 3 a 4 células muy alargadas y fusiformes que conservan su núcleo, aunque el mayor volumen parece ser vacuolado (Figs. 79, 80). En *T. trifaria* las células nucleares permanecen intactas en 3 a 4 hileras de células; cada hilera está formada por 3 a 4 células grandes, rectangulares en sentido longitudinal y conservan el núcleo. Comparativamente, en *T. trifaria* en lugar de haber elongación de las células adyacentes al saco embrionario, como ocurre en *M. rubrum* y *V. plumosa*, parece haber proliferación celular previa a la formación del plasmodio nucelar (Fig. 81). Como en *V. plumosa*, en todas las especies persisten 4-6 células nucleares pequeñas en el extremo calazal.

En *O. coulteriana*, *P. ricciiforme* y *T. trifaria*, como en *M. rubrum* y *V. plumosa* el óvulo es anátropo, bitégmico, exóstomo, tenuinucelado y carece de vascularización. En *T. trifaria* las células epidérmicas del tegumento externo tienen paredes celulares convexas, lo que les da una apariencia de cuentas, mientras que en el óvulo de las restantes cuatro especies las paredes de la epidermis son rectas. En todos los casos, el tegumento externo contiene almidón abundante. En *O. coulteriana* el grosor de este tegumento es de 4 a 5 estratos celulares, en *P. ricciiforme* es de al menos 4 estratos, mientras que en *T. trifaria* consiste de 3 a 4 estratos. El tegumento interno presenta dos capas celulares, la externa con almidón y la interna con gotas lipídicas. El saco embrionario es tetracelular y persiste el elemento micropilar de la díada de apariencia picnótica.

A diferencia de las primeras cuatro especies, donde surge primero el tegumento externo y después el interno, en *T. trifaria* los tegumentos surgen al mismo tiempo, pero se desarrolla más rápido el externo. Esto último coincide con lo observado por Jäger-Zürn (1997) en *Weddellina squamulosa*.

Discusión.

- Desarrollo de los tegumentos

Si bien en la subfamilia Podostemoideae el tegumento externo surge primero (Jäger-Zürn, 1997) muy pronto se observó que hay variaciones en el momento en que surge el tegumento interno, como ocurre en *A. imthurnii*, donde sólo hasta que el tegumento externo ha rodeado la mitad del óvulo, el tegumento interno inicia su desarrollo; esta observación "constituyó una primera diferencia entre las angiospermas" (Went, 1908). En *M. rubrum*, *P.*

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

ricciiiforme y *V. plumosa* se observó esta misma tendencia. En *Polypleurum elongatum* (= *Dicraea elongata*) ocurre cuando el tegumento externo ya se ha desarrollado hacia el ápice de la nucela y en *Zeyanidium olivaceum* (= *Hydrobryum olivaceum*) hasta que ya se ha formado el micrópilo (Magnus, 1913).

En *Weddellina squamulosa* (Weddellinoideae) ambos tegumentos se desarrollan de manera simultánea (Jäger-Zürn, 1997), así como en especies de la subfamilia Tristichoideae como *Dalzellia ceylanica* (= *Lawia zeylanica*, Magnus, 1913) e *Indotristicha ramosissima* (Chopra y Mukkada, 1966). *Tristicha trifaria* desarrolla el tegumento externo hacia la célula arqueosporial y después son visibles las células iniciales del tegumento interno (Jäger-Zürn, 1967 en: Jäger-Zürn, 1997). De este modo *T. trifaria* (Tristichoideae) muestra el mismo patrón de desarrollo de los tegumentos tal como se presenta en Podostemoideae. Al final del desarrollo el óvulo es exóstomo en Podostemaceae y este carácter es compartido con otras familias, entre las que se hallan las Caryophyllaceae, Crassulaceae y Euphorbiaceae (Bhojwani y Bhatnagar, 1981).

- Plasmodio nucelar

En la mayoría de las angiospermas, la nucela completa permanece en el espacio delimitado por el tegumento interno; sin embargo, no son raros los ejemplos de familias cuyos óvulos expanden la nucela fuera de la cavidad del tegumento interno o del óvulo unitégmico. En los óvulos bitégmicos y crasinucelados de las Caryophyllaceae y Euphorbiaceae, la nucela crece hacia el endóstomo pero no lo rebasa (en la primera familia), o se extiende hacia el exterior de éste formando un pico nucelar (en la segunda). En las euforbiáceas no se presenta un micrópilo bien definido debido a la protrusión de la nucela pero, en el caso de que sí haya micrópilo, éste puede ser ambístomo o exóstomo (Johri *et al.*, 1992).

Los óvulos bitégmicos y exóstomos en Podostemaceae y en *Tillaea aquatica* (= *Crassula aquatica*, Crassulaceae), presentan el extremo micropilar de la nucela por fuera del tegumento interno pero existen dos caracteres que diferencian estos taxa: en el primero, el óvulo es tenuinucelado y la nucela tiene esa posición desde la etapa de célula madre de la megaspóra, mientras que en el segundo, el óvulo es crasinucelado y sólo hasta después que se ha formado el saco embrionario adquiere la posición descrita.

En *Pentaphragma* (Pentaphragmataceae) el óvulo es unitégmico y tenuinucelado y presenta una condición similar a *T. aquatica*, pues en su saco embrionario, con siete células y ocho

núcleos, únicamente el aparato del huevo y el núcleo fusionado de la célula central permanecen en el extremo micropilar, mientras que las antípodas se quedan en la región calazal que se extiende al interior del tegumento. Esta cercanía de la nucela a la abertura micropilar puede favorecer la entrada del tubo polínico, como se ha visto en Loranthaceae (M. en C. R.M. Cid, comunicación personal), donde el saco embrionario puede extenderse hasta el estigma (Bhojwani y Bhatnagar, 1981; Johri *et al.*, 1992).

En la mayoría de las angiospermas la nucela aporta nutrimentos, por lo que generalmente se degrada; si persiste, se transforma en perispermo como ocurre en algunos miembros de las familias Piperaceae, Zingiberaceae y Proteaceae, así como en Caryophyllales, donde funciona como tejido de nutrición durante la germinación (Johri *et al.* 1992). En las Proteaceae, la nucela de *Cenarrhenes nitida* no se transforma en perispermo sino que degrada sus paredes celulares, quedando en su lugar un plasmodio nucelar formado por protoplastos densos que se han fusionado y donde algunos núcleos permanecen suspendidos (Venkata Rao, 1967 en: Bhojwani y Bhatnagar, 1981).

En Podostemaceae la nucela también se transforma en plasmodio nucelar, el cual es un carácter embriológico que distingue ésta de otras familias de angiospermas (Davis, 1966). Incluso, el momento de la iniciación del plasmodio nucelar es un carácter que permite separar las subfamilias de Podostemaceae. Mientras que en Podostemoideae la formación del plasmodio nucelar da inicio antes de la fecundación, en la subfamilia Tristichoideae se inicia después de la fecundación (Arekal y Nagendran, 1977b). Sin embargo, puede haber varios patrones morfogénéticos en el proceso de desarrollo del plasmodio nucelar, como se describe en el análisis del siguiente apartado.

i) Inicio de la formación del plasmodio nucelar

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

Aunque en las subfamilias Podostemoideae y Weddellinoideae la formación del plasmodio nucelar empieza antes de la fecundación (Grupo I), la etapa precisa de este comienzo varía entre las especies, ya que puede coincidir con el inicio de la meiosis-I, como ocurre en dos especies de Asia (*Dicraea stylosa* y *Podostemum subulatus*) (Nagendran *et al.*, 1980; Mukkada, 1962) y dos de América del norte (*V. plumosa* y *M. rubrum*) (Murguía *et al.*, 2001, 2002). La referencia más

común es que el inicio de la formación del plasmodio nucelar acompaña la etapa de saco embrionario binucleado, como se ha observado en diez especies de Asia (Razi, 1949; Arekal y Nagendran, 1975a; Nagendran *et al.*, 1976; Arekal y Nagendran, 1976; Nagendran *et al.*, 1977; Arekal y Nagendran, 1977a); o que también ocurre cuando el saco embrionario está maduro, según se observa en *W. squamulosa* de Sudamérica (Jäger-Zürn, 1997) (Cuadro 15). En este estudio no se obtuvo este dato para *O. coulteriana*, *P. ricciiforme* y *T. trifaria* porque no fue posible seleccionar etapas del desarrollo floral más cercanas entre sí.

En la subfamilia Tristichoideae la formación del plasmodio nucelar ocurre después de la fertilización (Grupo II) y también comienza en diferentes momentos. En especies de Asia, como *Lawia zeylanica* (= *Dalzellia*) se inicia cuando el saco embrionario está maduro (Razi, 1949) o, inmediatamente después de la fertilización de la fertilización en esta misma especie (Arekal y Nagendran, 1977b); en *Indotristicha ramosissima* comienza al momento de la fecundación o del desarrollo temprano del cigoto (Chopra y Mukkada, 1966), o inmediatamente después de la fecundación, como en *T. trifaria* (Jäger-Zürn, 1967) que tiene una distribución pantropical (Cuadro 15).

El agrupamiento que se muestra en el Cuadro 15, en relación al momento de inicio de la formación del plasmodio nucelar entre algunas especies de Podostemaceae, coincide con los agrupamientos obtenidos por Kita y Kato (2001) en su estudio filogenético del gen *matK* del cloroplasto y por Oropeza *et al.* (1998, 2002) en su análisis del cariotipo.

Respecto a los patrones de inicio del desarrollo del plasmodio nucelar, es necesario precisar la relación que guarda este proceso con el desarrollo floral ya que, como señala Schnell (1998), en esta familia la flor generalmente se forma en el interior de la planta madre; esto se observó en *V. plumosa* y *M. rubrum*; en ambas dicho proceso ocurre mucho antes de la antesis, cuando los botones florales son muy pequeños (2 a 3 mm) y están inmersos en el tejido materno, mientras que en *W. squamulosa* este proceso ocurre al principio de la antesis (Jäger-Zürn, 1997) Esto significa que tal proceso de desarrollo puede tener relación con la forma de vida entre las especies o con el hábitat en que se establecen.

Cuadro 15. Inicio de la formación del plasmodio nucelar en algunas especies de Podostemáceas.

Grupo I Antes de la fertilización (Podostemoideae y Weddellinoideae *)

Durante la meiosis-I

<i>Dicraea stylosa</i>	(Asia)	(Mukkada, 1962)
<i>Podostemum subulatus</i>	(Asia)	(Nagendran <i>et al.</i> , 1980)
<i>Vanroyella plumosa</i>	(América)	(Murguía <i>et al.</i> , 2002)
<i>Marathrum rubrum</i>	(América)	(el presente estudio)

Cuando el saco embrionario es binucleado
(especies de Asia)

<i>Cladopus hookerianus</i> (= <i>Griffithella hookeriana</i>)		(Razi, 1949)
<i>Hydrobryopsis sessilis</i> y <i>Maferria indica</i> (= <i>Farmeria indica</i>)		(Arekal y Nagendran, 1975a)
<i>Hydrobryum griffithii</i>		(Nagendran <i>et al.</i> , 1976)
<i>Willisia selaginoides</i>		(Arekal y Nagendran, 1976)
<i>Polypleurum filifolium</i> , <i>Polypleurum dichotomum</i> y <i>Polypleurum munnarensis</i>		(Nagendran <i>et al.</i> , 1977),
<i>Zeylanidium olivaceum</i> y <i>Zeylanidium johnsonii</i>		(Arekal y Nagendran, 1977a)

Cuando el saco embrionario está maduro

<i>Weddellina squamulosa</i> *	(Sudamérica)	(Jäger-Zürn, 1997)
--------------------------------	--------------	--------------------

Grupo II Después de la fertilización (Tristichoideae)

Cuando el saco embrionario está maduro

<i>Lawia zeylanica</i> (= <i>Dalzellia</i>)	(Asia)	(Razi, 1949)
--	--------	--------------

Al momento de la fertilización o
durante el desarrollo temprano del cigoto

<i>Indotristicha ramosissima</i>	(Asia)	(Chopra y Mukkada, 1966)
----------------------------------	--------	--------------------------

Inmediatamente después de la fertilización

<i>Tristicha trifaria</i>	(Pantropical)	(Jäger-Zürn, 1967)
<i>Dalzellia zeylanica</i>	(Asia)	(Arekal y Nagendran, 1977b)

Sin embargo, *O. coulteriana* y *P. ricciiforme* (Podostemoideae) presentan el saco embrionario tetranucleado y tetracelular, acompañado de células de la nucela que no han iniciado la desorganización de sus delgadas paredes celulares, adquiriendo apariencia de hipertrofia, pero no está claramente definido un plasmodio nucelar.

En el presente estudio no se abordaron procesos de desarrollo postantesis, pero se puede señalar que si bien en la subfamilia Tristichoideae el desarrollo del plasmodio nucelar está asociado con la fecundación o con el desarrollo del cigoto, en *T. trifaria* se observó que previamente a la antesis las células nucleares adyacentes a la región calazal del saco embrionario ya han incrementado sus dimensiones de manera notable pero sin evidencia de desorganización, es decir que aunque ya iniciado, el proceso morfogénico hasta plasmodio nucelar se ha detenido.

ii) Desorganización de las células nucleares

Una vez que se ha diferenciado la célula madre de la megaspora y que el saco embrionario está maduro en las especies de Podostemaceae aquí estudiadas, la nucela se puede diferenciar en varias regiones claramente definidas (Fig. 82, 83).

- a) Cuerpo de la nucela.- Permanece en la cavidad delimitada por el tegumento interno y consiste de una hilera y una epidermis nucleares.
- b) Cabeza de la nucela.- Se mantiene por fuera del endóstomo y está representada únicamente por la epidermis nucelar que delimita a la célula madre de la megaspora y al saco embrionario.

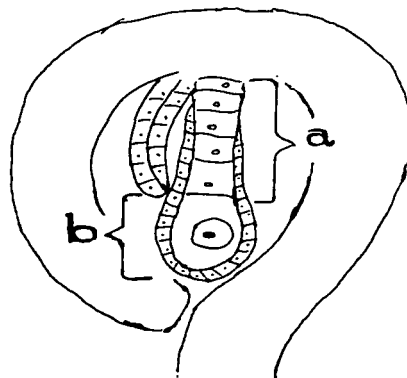


Figura 82. Regionalización de la nucela en la etapa de célula madre de la megaspora, en *M. rubrum*, *P. ricciiforme*, *T. trifaria* y *V. plumosa*.

En *M. rubrum*, *O. coulteriana*, *P. ricciiiforme*, *T. trifaria* y *V. plumosa* la hilera nucelar presenta dos regiones:

1) Región calazal que persiste en el óvulo maduro y 2) Región intermedia de células nucelares adyacentes a la región calazal del saco embrionario, que darán origen al plasmodio nucelar.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

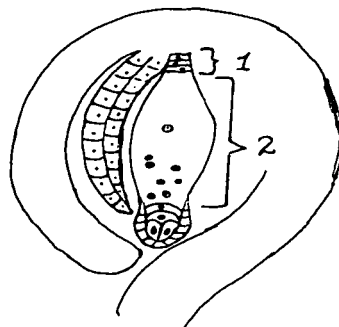


Figura 83. Regionalización de la nucela en la etapa de plasmodio nucelar o de plasmodio en formación.

En *O. coulteriana* y *P. ricciiiforme* las células de la región nucelar intermedia (cp) están hipertrofiadas, conservan los núcleos y sus paredes celulares están muy adelgazadas; en cambio en *T. trifaria* las células de esta misma región sólo han incrementado su tamaño, sin evidencia aparente de hipertrofia.

En *Weddellina squamulosa* se encuentra un patrón de desarrollo del plasmodio nucelar que al parecer es diferente pues ocurre en tres etapas: primero interviene la hilera central de la nucela (5 a 7 células), donde la célula más próxima al extremo calazal del meiocito se distingue por su tinción. Pasada la meiosis esta célula ya no es visible y la hilera central se desintegra formando una cavidad vacuolizada sin un plasmodio. Éste aparentemente sólo se desarrolla a partir de la desorganización de las paredes de la epidermis nucelar, cuyos núcleos no parecen degenerar sino que permanecen visibles durante el desarrollo del embrión y de la Osemilla joven en el "pseudosaco embrionario" plasmodial (Jäger-Zürn, 1997). En *Farmeria indica* "los núcleos se alargan muchas veces su tamaño original y llegan a ser conspicuos" (Arekal y Nagendran, 1975a) una vez que se ha formado el plasmodio nucelar.

En *W. squamulosa* (Weddellinoideae) e *Indotristicha ramosissima*, *Dalzelia ceylanica* y *Tristicha trifaria* (Tristichoideae), la nucela consiste de una hilera central de 5 a 7 (o más) células, rodeadas por una capa unicelular de 6 a 7 hileras de células epidérmicas arregladas longitudinalmente, mientras que en especies como *Apinagia imthurnii*, *Oserya perpusilla* (= *Apinagia perpusilla*), *Cladopus rymani*, *Sphaerothylox abyssinica* (*Anastropaea abyssinica*), *Maferria indica* (= *Farmeria indica*) y otras

Podostemoideae, la nucela sólo tiene una o dos células tanto en el interior como en la epidermis que la rodea. Estas células se estrechan considerablemente durante el crecimiento prolongado de los tegumentos (Jäger-Zürn, 1997). Estas observaciones contrastan notablemente con los resultados del presente trabajo, donde se encontraron las siguientes diferencias: *M. rubrum*, *O. coulteriana*, *P. ricciiiforme*, *T. trifaria* y *V. plumosa* tienen la hilera nucelar central con 4 a 6 células delimitadas por la epidermis. En *M. rubrum*, *O. coulteriana*, *P. ricciiiforme* y *V. plumosa* las células que se alargan durante el crecimiento de los tegumentos son las células que darán origen al plasmodio nucelar (Fig. 82) y en *T. trifaria* se forman más células nucleares mientras se desarrolla en saco embrionario.

Como puede apreciarse, aunque el plasmodio nucelar es un carácter generalizado en las Podostemaceae, parece haber variantes en su desarrollo que es necesario investigar con el objetivo de establecer cómo se expresan en las subfamilias Podostemoideae y Tristichoideae. Hasta ahora lo único claro es que la formación del plasmodio nucelar ocurre previamente a la fecundación en Podostemoideae, lo que puede interpretarse como un desarrollo interrumpido (Jäger-Zürn, 1997).

Se considera que en las podostemáceas el plasmodio nucelar nutre el saco embrionario y, debido a que no hay doble fecundación ni desarrollo de endospermo (Battaglia, 1980), es consumido gradualmente por el embrión en desarrollo (Davis, 1966; Arekal and Nagendran, 1975a; Bhojwani y Bhatnagar, 1981), además de que protege al mismo de la desecación (Magnus, 1913). Los resultados del presente estudio sugieren que no todas las células de la nucela originan el plasmodio nucelar y que en el papel de nutrición que realiza el tejido nucelar se distinguen tres modalidades. En la primera, toda la nucela aporta nutrimentos a la célula arquesporial y a la célula madre de la megaspora y esto ocurre previamente a la desorganización de las paredes nucleares. En la segunda la nutrición del meiocito, la díada calazal y el saco embrionario en formación corre a cargo del plasmodio nucelar en formación. En la tercera modalidad, el plasmodio nucelar ya formado nutre al saco embrionario y después sostiene el desarrollo embrionario. En contraste, en Tristichoideae la nucela mantiene el desarrollo desde la célula arquesporial hasta el saco embrionario y el plasmodio nucelar aporta nutrimentos sólo hasta la fecundación o el desarrollo embrionario (Cuadro 16).

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

Cuadro 16. Presencia de la nucela y del plasmodio nucelar durante el desarrollo del saco embrionario en 6 especies de Podostemaceae.

Especie	célula arquesporrial	célula madre de la megaspora	meiocito	díada	saco embrionario
<i>V. plumosa</i> ¹	nucela	nucela	plasmodio en formación	plasmodio en formación	plasmodio
<i>M. rubrum</i> ¹	nucela	nucela	plasmodio en formación	plasmodio en formación	plasmodio
<i>O. coulteriana</i> ¹	----	----	----	----	plasmodio en formación
<i>P. ricciiforme</i> ¹	nucela	----	----	----	plasmodio en formación
<i>W. squamulosa</i> ²	nucela	nucela	nucela	nucela	plasmodio
<i>T. trifaria</i> ³	nucela	nucela	nucela	nucela	nucela

Podostemoideae ¹ , Weddellinoideae ² y Tristichoideae ³ .	(---) = se carece del dato.
--	-----------------------------

En ambos patrones de funcionamiento de las células del plasmodio en la nucela y del plasmodio nucelar, el citoplasma se torna denso, lo que indica un incremento en la actividad de síntesis protéica. Ésta actividad parece ser efímera en *W. squamulosa*, mientras que es persistente en *M. rubrum* y *V. plumosa*. En estas dos especies las células nucelares del extremo calazal no se desintegran, lo que puede ser un indicio de que la comunicación con el tegumento externo es continua. En este sentido, se observaron dos evidencias de que no hay comunicación lateral del plasmodio con el tegumento interno: las paredes celulares de éste son muy gruesas y la superficie que da al espacio ocupado por el plasmodio tiene una cutícula que puede tener función de impermeabilidad.

Estos hechos sugieren que una vez iniciada la meiosis en las especies aquí estudiadas de Podostemoideae, mucho antes de que ocurra la antesis en *M. rubrum* y *V. plumosa*, el tejido para la nutrición puede ser más eficiente en forma de plasmodio que de nucela celular, mientras que en *O. coulteriana* y *P. ricciiforme* las células del plasmodio simultáneamente cumplen su función nutritiva y continúan con la desorganización de sus paredes, aunque el saco embrionario ya está formado. En cambio, en *W. squamulosa* (Weddellinoideae), donde la transformación de la nucela ocurre cuando se aproxima la antesis, el plasmodio actúa sólo hasta el establecimiento del saco

embrionario (Jäger-Zürn, 1997). En *T. trifaria* (Tristichoideae) el plasmodio parece ser más eficiente hasta que ocurre la fecundación o que se inicia el desarrollo embrionario. En todo caso, es necesario correlacionar estos datos con la dinámica de la floración y del ambiente en que estas plantas se desarrollan.

Finalmente, en relación a los términos utilizados para caracterizar la desorganización de las paredes nucleares en las Podostemaceae, el término “plasmodio nuclear” refleja su ontogenia, organización y apariencia madura (Arekal and Nagendran, 1975b), mientras que el término “pseudo saco embrionario” (Went, 1910; Magnus, 1913) alude a la estructura multinucleada que ocupa el interior del tegumento interno, en lugar del saco embrionario. Al respecto, Jäger-Zürn (1997) unifica ambos términos como “pseudo saco embrionario plasmodial”.

- Desarrollo del saco embrionario

El estudio ontogenético del saco embrionario en los géneros de las Podostemaceae que habitan en México, mostró al menos dos de los tres caracteres embriológicos que distinguen claramente esta familia de otras angiospermas: 1) un saco embrionario tetracelular limitado al extremo micropilar en *Marathrum*, *Podostemum*, *Oserya* y *Vanroyenella* (Podostemoideae) y *Tristicha* (Tristichoideae) y 2) un plasmodio nuclear cuya formación a partir de la nucela se inicia al momento en que el proceso meiótico ocurre en la célula madre de la megaspora. Aunque en este trabajo no se abordó el estudio de la fase progámica, el tercer carácter es, según Battaglia (1971), la ausencia de doble fecundación y por tanto la no formación de endospermo.

El saco embrionario en las especies aquí estudiadas es tetracelular, como se ha descrito para otras especies de la familia Podostemaceae (Magnus, 1913; Razi, 1949; Chopra y Mukkada, 1966; Arekal y Nagendran, 1977a, 1977b; Nagendran *et al.*, 1980; Battaglia, 1987; Jäger Zürn, 1997; Murguía, *et al.*, 2001, 2002); sin embargo, en este trabajo se observó que la morfología de las sinérgidas difiere entre las especies estudiadas, excepto en *V. plumosa* y *M. rubrum* donde es muy similar, pues estas células son rectangulares, mientras que en *P. ricciiiforme* son triangulares y en *O. coulteriana* son piriformes. La variación en este carácter se observa también en *W.*

squamulosa cuyo saco embrionario es deltoide en el extremo micropilar y tiene forma de tubo en el extremo calazal, donde además hay una vacuola (Jäger-Zürn, 1997).

En *V. plumosa* y *M. rubrum* el componente micropilar de la díada, que inicia su degeneración casi al mismo tiempo que inicia el desarrollo del plasmodio nucelar y persiste junto al saco embrionario, se caracteriza por su núcleo picnótico y el citoplasma degenerado. Este proceso celular podría interpretarse, a la luz de las actuales investigaciones ultraestructurales acerca de la muerte celular programada en las angiospermas monospóricas, como una evidencia de actividad hidrolítica (Russell, 2001), tal cual es revelado por la citoquímica de peroxidasas, esterases y fosfatasa ácida (Bhojwani y Soh, 2001); en tanto que, en la megaspora funcional, las enzimas hidrolíticas permanecen contenidas en vacuolas. Además, la o las megasporas abortivas parecen degenerar en correlación con la expansión de los tejidos circundantes. No se sabe aún si ocurren otras características de la muerte celular programada, tal como se conoce hasta ahora, donde los cambios pueden incluir ruptura del DNA, activación de enzimas líticas y liberación de calcio (Russell, 2001).

Entre las angiospermas hasta ahora estudiadas, el saco embrionario tetracelular se encuentra en las familias Onagraceae y Podostemaceae (Johri, *et al.* 1992). Respecto a su origen en las onagráceas, la megaspora funcional que resulta de la meiosis es la micropilar y este desarrollo es monospórico (Raghavan, 1997) o monocariospórico (Battaglia, 1983) y se denomina *Oenothera*; en cambio, en las podostemáceas sólo el miembro calazal de la díada completa la meiosis y en ésta es funcional el núcleo micropilar, por lo que el desarrollo se considera monospórico (Nagendran, 1974) o bispórico, pero funcionalmente monospórico (ex-di-monocariospórico) (Battaglia, 1983); este desarrollo recibe el nombre de tipo *Apinagia* (Jäger-Zürn, 1997). En este caso, el núcleo calazal siempre es más pequeño, lo que sugiere a Battaglia (1987) que la región calazal parece estar fisiológicamente deprimida o hipofuncional y dicho núcleo degenera o no participa en la formación del saco embrionario (Nagendran, 1974; Murguía *et al.*, 2002). En los tipos *Oenothera* y *Apinagia* sólo ocurren dos procesos mitóticos para formar un saco embrionario con cuatro células genéticamente idénticas.

En *Schisandra chinensis* (Schisandraceae) también se describen sacos embrionarios tetracelulares similares al tipo *Oenothera*, pero una parte es de origen monospórico y otra es de

origen bispórico (Bhojwani y Bhatnagar, 1981). En ambos casos la posición calazal bien de la megaspora o bien del miembro de la díada podría corresponder a formas reducidas de los tipos *Polygonum* y *Allium*, respectivamente (Johri *et al.*, 1992), pero el hecho de que en el gametofito falta un núcleo polar y las antípodas, constituyen caracteres que pueden ser argumento para considerar dos nuevos tipos de desarrollo del saco embrionario (por ejemplo, *Schisandra A* y *B*). En el tipo *Schisandra A* (monospórico), los núcleos del saco embrionario son genéticamente idénticos, mientras que en el tipo *Schisandra B* (bispórico) se presentan dos constituciones genéticas diferentes.

Vázquez *et al.* (1998) han propuesto el tipo *Lacandonia* para el desarrollo del saco embrionario de *Lacandonia schismatica* (Lacandoniaceae) porque: (1) sólo hasta el final de la meiosis se obtiene una tétrada linear por citocinesis sucesiva, (2) el saco embrionario se origina de la megaspora micropilar y (3) ocurren tres procesos mitóticos para producir siete células y ocho núcleos. Es decir, el desarrollo del saco embrionario en *L. schismatica* no corresponde a los tipos tetraspóricos, pues éstos no forman pared celular al final de la meiosis, ni al tipo *Polygonum* cuyo saco embrionario se origina de la megaspora calazal, ni al tipo *Oenothera* ya que éste se origina de la megaspora micropilar y produce sólo cuatro células. No obstante, el tipo *Lacandonia* comparte con los dos últimos tipos de desarrollo el carácter de identidad genética de los núcleos en el saco embrionario.

Así, las especies de la familia Podostemaceae (excepto *Hydrobryopsis sessilis*, que aparentemente exhibe sacos embrionarios de origen bispórico) (Jäger-Zürn, 1997), *Schisandra chinensis* (Schisandraceae) y *Lacandonia schismatica* (Lacandoniaceae), son tres ejemplos de desarrollo del saco embrionario que no se encuentran representados en la clasificación vigente de los tipos de desarrollo (Maheshwari, 1950; Davis, 1966; Bhojwani y Bhatnagar, 1981; Johri, 1984; Raghavan, 1997).

En esta clasificación, el grupo de los sacos embrionarios monospóricos (cuyas células tienen idéntica información genética) podría incluir, junto a los tipos *Polygonum* y *Oenothera*, al tipo *Apinagia*, al tipo *Schisandra A* y al tipo *Lacandonia*; mientras que en el grupo de los sacos embrionarios bispóricos (con dos constituciones genéticas diferentes) se podrían incluir,

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

Cuadro 18. Clasificación de los tipos monosporico y bispórico de desarrollo del saco embrionario (s. e.) en las Podostemaceae.

Tipo	Megasporigénesis			Megagametogénesis			
	CMM	meiosis I	meiosis II	mitosis I	mitosis II	saco embrionario	
Monosporico	Apinagia B						
	Apinagia A						
Bispórico	Podostemum						
	Polypleurum (= Dicraea)						

(Modificado de Jäger-Zürn, 1997).

CMM = Célula madre de la megaspora

= Sinérgida

= Ovocélula ó célula polar

= Célula micropilar picnótica de la díada

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

En las Podostemaceae se han descrito, además del tipo *Apinagia* monospórico, dos tipos bispóricos: el tipo *Podostemum* y el tipo *Polypleurum* (Cuadro 18). Ambos se encuentran en *Hydrobryopsis sessilis* (Podostemoideae), donde 30% de los óvulos producen el tipo *Podostemum* de desarrollo del saco embrionario (con un arreglo celular similar al tipo *Apinagia*) y el 70% de los óvulos restantes exhibe el tipo *Polypleurum* de desarrollo del saco embrionario (una célula en el extremo micropilar, una célula central y dos células en el extremo calazal) (Arekal y Nagendran, 1975b; Jäger-Zürn, 1997). En todos los casos, las dos células del extremo micropilar son genéticamente idénticas a las dos del extremo calazal.

Estos patrones de desarrollo bispórico del gametofito femenino permanecen poco claros, sujetos a controversia y es necesario reinvestigarlos (Arekal y Nagendran, 1975a; Battaglia, 1987). Por ejemplo, el tipo bispórico *Podostemum* (Nagendran *et al.*, 1977), que había sido descrito en *Podostemum subulatum*, *Zeylanidium olivaceum*, *Farmeria metzgeroides* (Magnus, 1913) y *Weddellina squamulosa* (Chiarugi, 1933), o el tipo bispórico *Polypleurum* (= *Dicraea*) (Mukkada, 1962), que fue descrito en *Polypleurum dichotomum*, *P. stylosum*, *P. munnarensis*, *P. elongatum*, *Willisia selaginoides* y *Zeylanidium johnsonii* (= *Zeylanidium olivaceum*), en reinvestigaciones posteriores se demostró que en realidad, el desarrollo del saco embrionario corresponde al tipo *Apinagia* (Arekal y Nagendran, 1977a, 1977b; Nagendran *et al.*, 1980; Battaglia, 1987; Jäger Zürn, 1997).

Battaglia (1971) cuestiona y recomienda enfáticamente la reinvestigación de los taxa asiáticos de las Podostemoideae que presentan el “tipo *Polypleurum*” (*Polypleurum dichotomum*, *P. elongatum*, *P. munnarensis*, *P. stylosum*, *Zeylanidium johnsonii* (= *Z. olivaceum*) y *Willisia selaginoides*) y el “tipo *Podostemum*” que se había mencionado para *Weddellina squamulosa*, así como para *Hydrobryopsis sessilis* (especie que presenta ambos tipos). Jäger-Zürn (1997) reinvestigó el desarrollo del saco embrionario en *W. squamulosa* y encontró que es del tipo *Apinagia*.

Se discute también si en el saco embrionario tetracelular de los tipos *Apinagia* y *Podostemum* la célula del extremo calazal debiera ser considerada una célula polar o una antípoda ya que, como resultado de la fecundación, no se forma endospermo sino únicamente un cigoto (Battaglia, 1987). También se discute si en el tipo bispórico *Polypleurum* (donde el arreglo de las células en el saco embrionario está invertido) la célula del extremo micropilar

junto a los tipos Hyacinthoides (= tipo *Endymion*) y *Melica* (ex tipo *Allium*) (Battaglia, 1983), al tipo *Schisandra B* (Cuadro 17).

Cuadro 17. Clasificación de los tipos de desarrollo monospórico y bispórico del saco embrionario (s.e.*) que incluye a *Podostemaceae*, *Onagraceae*, *Lacandoniaceae* y *Schisandra chinensis* (*Schisandraceae*).
(El micrópilo está orientado hacia la parte superior de las figuras)

No. de megasporas	Tipo	célula madre de la megaspora	meiosis I	meiosis II	megaspora	mitosis I	mitosis II	mitosis III	organización cel. del s.e.*	
M o n o s p ó r i c o	{	<i>Polygonum</i>								
		<i>Lacandonia</i>								
		<i>Oenothera</i>								
		<i>Apinagia</i>								
		<i>Schisandra A</i>								
B i s p ó r i c o	{	<i>Allium</i>								
		<i>Endymion</i>								
		<i>Schisandra B</i>								
Megasporogénesis						Megagametogénesis				

(Modificado de Raghavan, 1997)

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

corresponde a la célula polar o a una sinérgida, en cuyo caso las dos células del extremo calazal podrían interpretarse como sinérgidas (Arekal y Nagendran, 1975b), o dos antípodas efímeras (Mukkada, 1962). Battaglia (1987) considera que tal vez en el saco embrionario de las podostemáceas los patrones sean simples variaciones del proceso de celularización dentro de la misma especie o dentro del mismo saco embrionario, pero hace falta investigar la embriología de más especies de esta familia.

Diversos autores (Magnus, 1913; Razi, 1949; Mukkada, 1962; Battaglia, 1971; Jäger-Zürn, 1997) han señalado la ausencia de endospermo en la familia Podostemaceae, a causa de que no ocurre la doble fecundación (Battaglia, 1980), lo que puede deberse a las siguientes razones: 1) la célula generatriz se diferencia directamente en una célula espermática (Battaglia, 1987), 2) una célula espermática permanece en el tubo polínico al momento de la singamia (Chopra y Mukkada, 1966), 3) si ésta segunda célula espermática sale del tubo polínico, puede no llegar hasta el núcleo polar para fusionarse con él (Johri *et al.*, 1992), 4) el único núcleo polar degenera (Walia, 1965 en: Kapil, 1970; Johri *et al.*, 1992), 5) el saco embrionario carece de núcleos polares (Ueda *et al.*, 1997).

Este espectro de hipótesis hace impostergable abordar la investigación de la fase progámica en las Podostemaceae involucrando de manera integral las técnicas de estudio anatómicas, ultraestructurales y de la biología molecular, con el fin de dilucidar la naturaleza de los procesos intracelulares que rigen la identidad de cada uno de los componetes de los gametofitos masculino y femenino.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

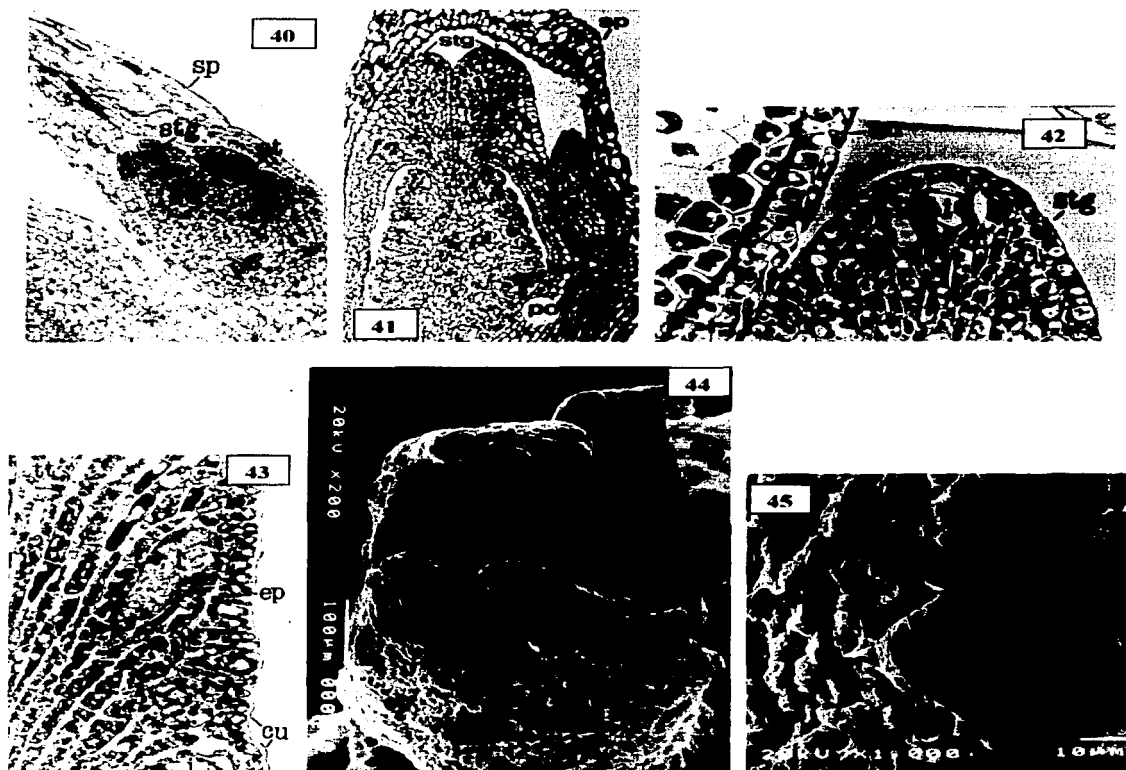


Lámina VI

Desarrollo del estigma de *Vanroyenella plumosa*

Figura 40. Verticilos sexuales en botón pequeño de la etapa I, escala = 300 μ m.

Figura 41. Protuberancias estigmáticas en botón mediano de la etapa I, escala = 300 μ m.

Figura 42. Diferenciación de idioblastos en botón grande de la etapa I, escala = 30 μ m.

Figura 43. Idioblastos maduros de la etapa IV, escala = 30 μ m.

Figura 44. Estigmas bi o trifurcados de la etapa V.

Figura 45. Detalle de la epidermis estigmática mostrando un idioblasto.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

Antera (a), cutícula (cu), epidermis (ep) espátula (sp), estambre (st), estigma (stg), filamento (f), idioblastos (i), nucela (nu), pared del ovario (po), parénquima (pa), pedicelo (pe), placenta (pl), tejido de transmisión (tt).

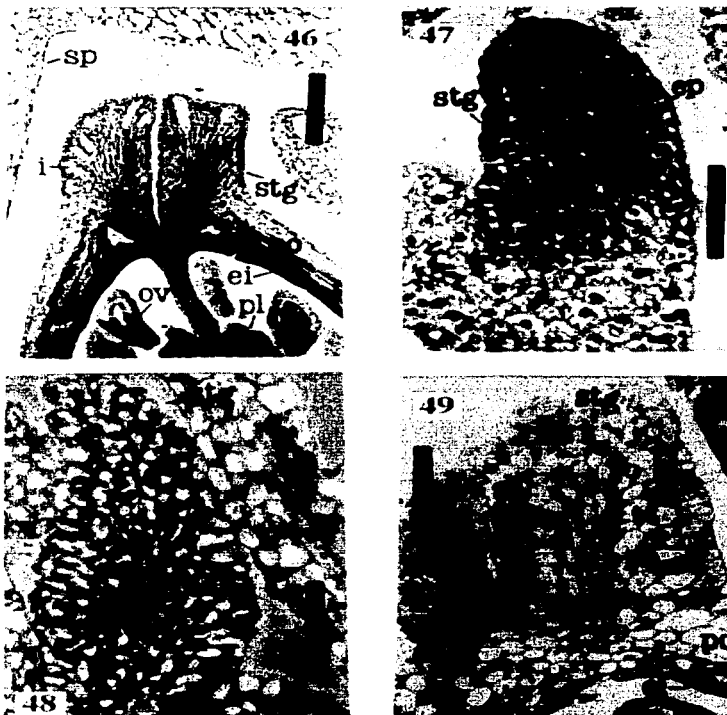


Lámina VII

Tipos celulares en el estigma de *Vanroyenella plumosa*,
Podostemum ricciiforme, *Tristicha trifaria* y *Oserya coulteriana*

Figura 46. Gineceo de *V. plumosa* de la etapa IV, escala = 200 μ m.

Figura 47. Etapa temprana del desarrollo del estigma de *P. ricciiforme*, escala = 30 μ m.

Figura 48. Estigma maduro de *T. trifaria* (es similar en *Podostemum ricciiforme*), escala = 50 μ m.

Figura 49. Estigma maduro de *O. coulteriana*, escala = 50 μ m.

Antera (an), bráctea (br), cristales en la bráctea (cr), epidermis (ep), epidermis interna (ei), espatela (sp), estigma (stg), idioblastos (i), óvulos (ov), pared del ovario (po), parénquima (pa), placenta (pl), tejido de transmisión (tt).

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN



Lámina VIII

Desarrollo de la pared del ovario de *V. plumosa*

Figura 50. Epidermis interna de la pared del ovario en botón pequeño de la etapa I.

Figura 51. Lípidos y cutícula en la epidermis interna de botón grande de la etapa II.

Figura 52. Vacuolas lipídicas en coalescencia en botón de la etapa IV.

Figura 53. Epidermis interna llena de lípidos y cutícula gruesa en botón de la etapa V.

Figura 54. Haz vascular en la región costal de la pared del ovario en botón de la etapa V.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

Cutícula (cu), epidermis externa (ee), epidermis interna (ei), gránulos de almidón (al), haz vascular (hv) nucela (nu), pared del ovario (po), tegumento externo (te), escala = 30 μm .

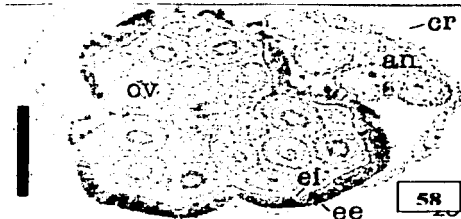
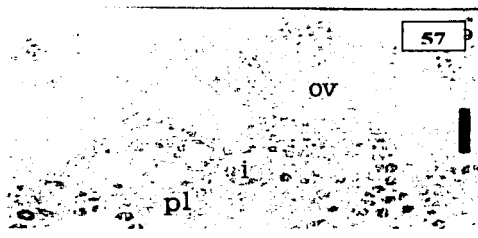
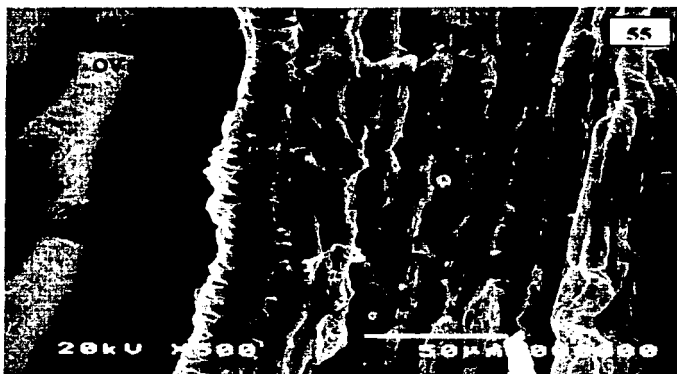


Lámina IX

Figura 55. *V. plumosa*. Región intercostal de la pared del ovario en botón de la etapa V.

Figura 56. Estigma maduro de *M. rubrum*, escala = 200 µm.

Figura 57. Idioblastos en placenta de *M. rubrum*, escala = 30 µm.

Figura 58. Epidermis externa e interna del ovario de *T. trifaria* escala = 100 µm.

Figura 59. Pared del ovario y pared de la antera de *T. trifaria*, escala = 25 µm.

TESIS CON
FOLIO DE ORIGEN

Antera (an), cutícula (cu), epidermis externa (ee), epidermis interna (ei), Idioblastos (i), óvulo (ov), pared de la antera (pa), pared del ovario (po), placenta (pl), tejido de transmisión (tt).

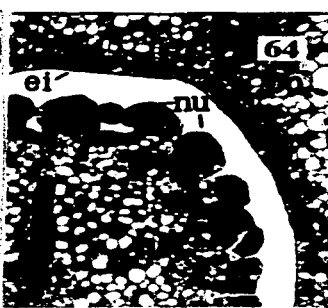


Lámina X
Desarrollo de la nucela en *Vanroyenella plumosa*

Figura 60. Ovario de la etapa IV.

Figura 61. Botón floral pequeño de la etapa I, escala = 30 μm.

Figura 62. Primordios nucelares en botón floral de la etapa I, escala = 15 μm.

Figura 63. Botón floral mediano de la etapa I, escala = 15 μm.

Figura 64. Botón floral grande de la etapa I, escala = 30 μm.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

Antera (an), cavidad del tegumento interno (ct), epidermis interna (ei), estigma (st), nucela (nu), óvulos (ov), pared del ovario (po), placenta (pl), plasmodio nucelar (pn).

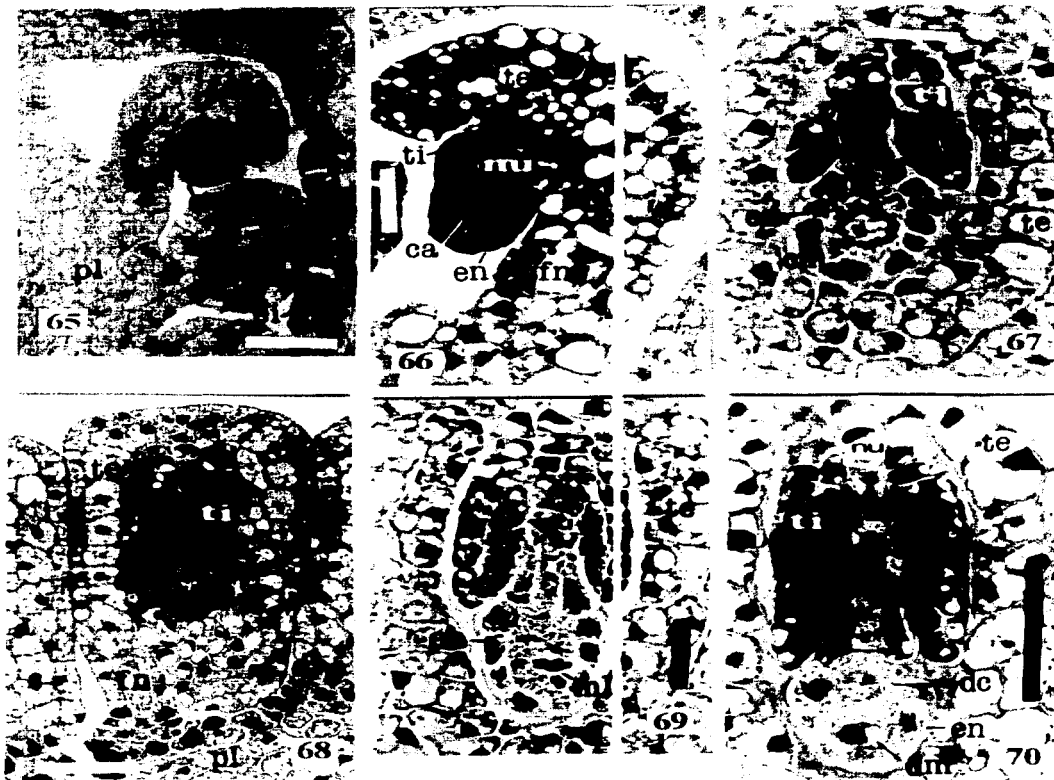


Lámina XI

Desarrollo del saco embrionario en *V. nroyenella plumosa*

- Figura 65. Crecimiento del tegumento externo (*P. ricciforme*).
 Figura 66. Tegumento externo en óvulo de botón floral pequeño de la etapa II.
 Figura 67. Célula madre de la megaspora en botón floral grande de la etapa II.
 Figura 68. Óvulo en botón floral grande de la etapa II, escala = 50 μ n.
 Figura 69. Metafase de la meiosis-I en botón de la etapa II.
 Figura 70. Diadas desiguales en botón floral grande de la etapa II.

Figuras 65 a 67 y 69 a 70, escala = 15 μ n.

Célula arqueesporial (ca), célula madre de la megaspora (cm), célula calazal de la diáda (dc), célula micropilar de la diáda (dm), epidermis interna (ei), epidermis nucelar (en), funículo (fn), meiosis-I (m-I), micrópilo (mi), nucela (nu), pared del ovario (po), placenta (pl), tegumento externo (te), tegumento interno (ti).

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

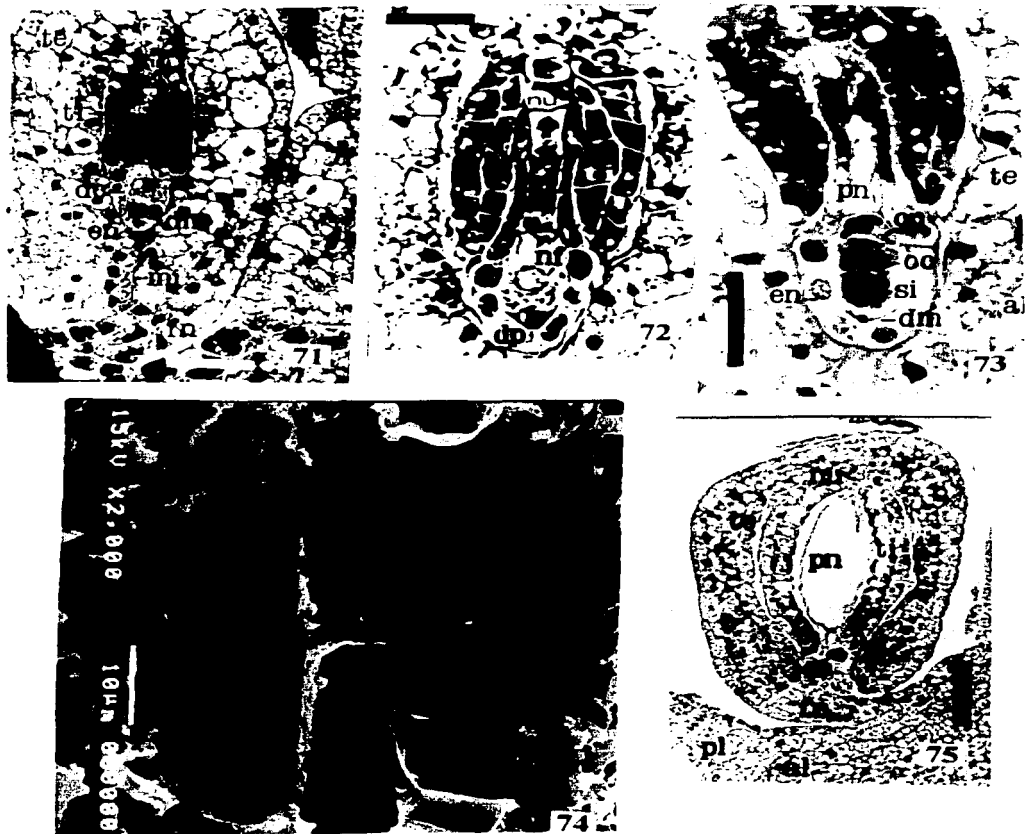


Lámina XII

Saco embrionario y plasmodio nucelar de *Vanroyenella plumosa*

Figura 71. Óvulo con la diáda asimétrica, escala = 50 μ m.

Figura 72. Meiosis-II en la célula calazal de la diáda.

Figura 73. Plasmodio nucelar y saco embrionario en botón floral de *V. plumosa* de la etapa II.

Figura 74. Material amorfo del plasmodio nucelar, escala = 10 μ m..

Figura 75. Óvulo de *V. plumosa* de la etapa IV, escala = 50 μ m.

Almidón (al), célula calazal de la diáda (dc), célula micropilar picnótica de la diáda (dp), célula polar (cp), cutícula (cu), epidermis nucelar (en), funículo (fn), micropilo (mi), nucela (nu), núcleo funcional (nf), ovocélula (oc), placentas (pl), plasmodio nucelar (pn), saco embrionario (se), sinérgidas (si), tegumento externo (te), tegumento interno (ti). Figuras 72 y 73, escala = 15 μ m.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

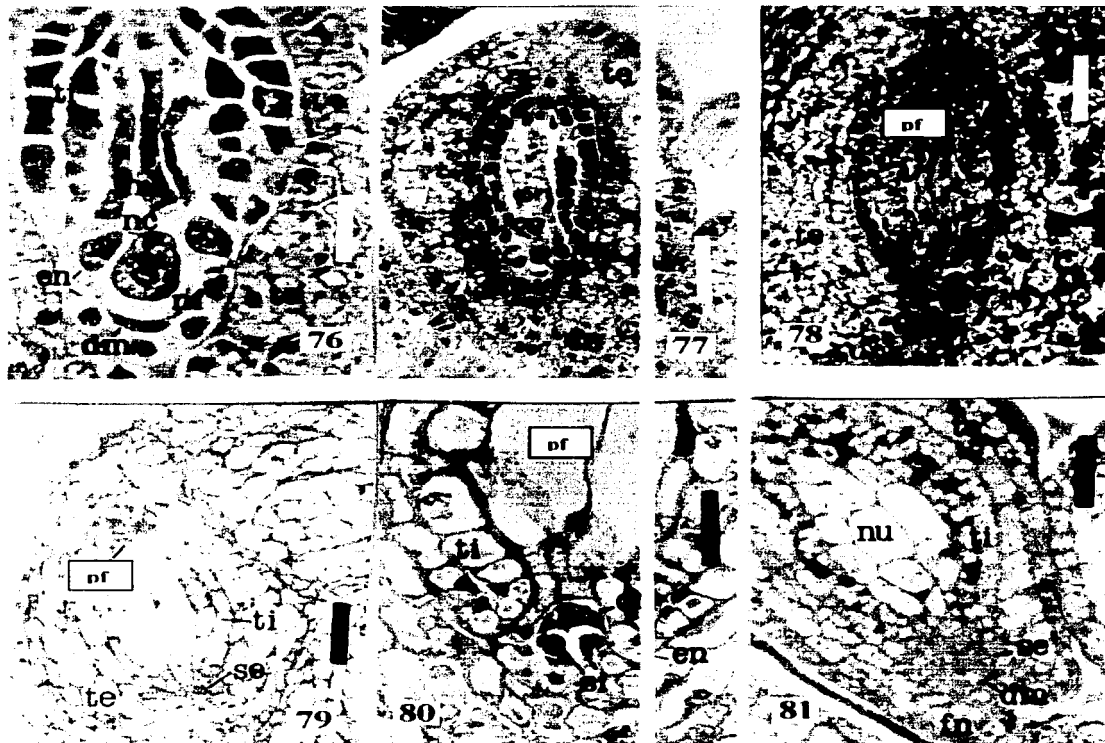


Lámina XIII

Óvulo de *Marathrum rubrum*, *Oserya coulteriana*, *Podo temum riccifforme* y *Tristicha trifaria*

Figura 76. Meiosis-II en *M. rubrum*, escala = 15 μ m.

Figura 77. Óvulo y plasmidio nucelar de *M. rubrum*.

Figura 78. Plasmidio en formación de *P. riccifforme*.

Figura 79. Plasmidio en formación de *O. coulteriana*.

Figura 80. Polo micropilar en el óvulo de *O. coulteriana*, escala = 15 μ m.

Figura 81. Nucela de *T. trifaria*.

Almidón (al), célula micropilar picnótica de la diada (dm), célula polar (cp), epidermis nucelar (en), funículo (fn), nucela (nu), núcleo funcional (nf), núcleo calazal (nc), ovocélula (oc), plasmio nucelar (pn), plasmidio en formación (pf), saco embrionario (se), sinérgidas (si), tegumento externo (te), tegumento interno (ti). Figuras 77 a 79 y 81, escala = 50 μ m.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

8. Conclusiones

Se sabe que en la fase sexual de las podostemáceas se producen gran cantidad de semillas, comparadas con lo que sucede en otras familias de plantas acuáticas. El estudio de la primera etapa de este proceso biparental, que se refiere a la formación de los órganos sexuales y de los gametos en cinco especies que pertenecen a cinco géneros contenidos en dos subfamilias en México: *Marathrum rubrum*, *Oseya conlteriana*, *Podostemum ricciiforme*, *Vanroyenella plumosa* (subfamilia *Podosemoideae*) y *Tristicha trifaria* (subfamilia *Tristichoideae*), mostró variaciones en el desarrollo de las unidades reproductivas masculina y femenina y se concluye que los caracteres embriológicos, hasta la etapa de antesis:

- a. Coinciden con la definición embriológica de la familia Podostemaceae. Los caracteres que comparten todas las especies aquí estudiadas son: la presencia de anteras ditecas y tetrasporangiadas, óvulos anátropos, bitégmicos, tenuinucelados, exóstomos y saco embrionario tetracelular.
- b. Apoyan la separación de los taxa en dos subfamilias. Los taxa que pertenecen a la subfamilia Podostemoideae (*Marathrum*, *Oseya*, *Podostemum* y *Vanroyenella*) presentan la epidermis de la pared de la antera con células pequeñas conteniendo almidón, la pared del ovario contiene lípidos y/o taninos en la epidermis interna y la formación de los tegumentos es asincrónica. En el taxon de la subfamilia Tristichoideae (*Tristicha*) las células epidérmicas de la pared de la antera son grandes y contienen taninos, la epidermis externa de la pared del ovario presenta lípidos y/o taninos y la formación de los tegumentos es sincrónica.
- c. Presentan similitudes entre los géneros estudiados. *Marathrum* y *Vanroyenella* comparten las características del estigma y la presencia de un plasmodio nucelar adyacente al saco embrionario. *Oseya* y *Podostemum* presentan células nucleares hipertrofiadas adyacentes al saco embrionario. En *Tristicha* se mantiene la estructura celular de la nucela adyacente al saco embrionario y el estigma es similar al de *Podostemum*.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

- d. Presentan diferencias entre las especies estudiadas. *M. rubrum* se distingue de *V. plumosa* por conservar una banda de células meristemáticas en el receptáculo e idioblastos en el parénquima de la pared del ovario y en la placenta. *O. coulteriana* se distingue de *P. ricciforme* por la diferencia en el número y la forma de las células nucleares adyacentes al saco embrionario y por la estructura celular del estigma. *Tristicha trifaria* se distingue de las otras cuatro especies por la persistencia del tapete aún cuando el polen ya se ha formado, por la estructura celular de la pared del ovario y por el número y forma de las células nucleares adyacentes al saco embrionario.
- e. Han revelado varios tipos de desarrollo en las unidades reproductivas. En *V. plumosa* el desarrollo de la pared de la antera es del tipo Básico y en *T. trifaria* es del tipo Dicotiledóneo. En el resto de los géneros no se pudo determinar. En *M. rubrum* y *V. plumosa* el desarrollo del saco embrionario es del tipo monospórico Apinagia, en el resto de los géneros no se pudo determinar.
- f. Aportan datos útiles para el conocimiento de la biología de la polinización. En todas las especies aquí estudiadas, el desarrollo de los verticilos sexuales y de los gametos ocurre mucho antes de que el botón floral sea visible sobre el tallo postrado y cuando la planta madre está sumergida entre 0 a 5 cm bajo el agua. Aunque los granos de polen se forman primero que los óvulos, al momento de la antesis ambos están igualmente maduros, excepto en *T. trifaria*, donde el tapete aún no se ha desorganizado para adicionar pollenkitt a la pared polínica.

Los resultados de este trabajo plantean la necesidad de diversificar los niveles del estudio embriológico de la familia Podostemaceae. Para fines taxonómicos, es posible extender este tipo de estudios a conjuntos de taxa representativos de México, Sudamérica, África y Asia, donde se encuentran muchos géneros endémicos, para establecer si existen o no patrones de desarrollo floral. Además, es necesario estudiar un mayor número de especies selectas con el fin de encontrar características propias de las subfamilias que las definan y distinguan. Al mismo tiempo, aportar un mayor número de

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

caracteres embriológicos que sean usados en análisis filogenéticos, en los que se incluyan caracteres tanto morfológicos como moleculares.

En el aspecto embriológico, durante la realización de este estudio surgieron varias preguntas que esperamos abordar en futuras investigaciones. A continuación se mencionan solamente algunas de ellas. ¿Por qué no se forma el endospermo en la semilla de las Podostemáceas?, ¿cuáles son los procesos citológicos que originan el plasmodio nucelar?, ¿cuál es la actividad del plasmodio nucelar durante la gametogénesis y la embriogénesis?, ¿la salida de los granos de polen de la antera coincide con la receptividad del estigma?, ¿cómo está organizada la unidad germinal masculina en el tubo polínico?, ¿cuál es la función de cada una de las células del saco embrionario?, ¿la superficie estigmática entera es receptiva para la germinación de los granos de polen o sólo parte de ella?, ¿qué papel juegan los idioblastos presentes en el estigma en la adhesión y/o germinación de los granos de polen?, ¿acumulan material de reserva las semillas?, ¿qué material (es) de reserva se produce (n) y en que tejidos queda (n) contenido (os)?, ¿cuándo hace uso la semilla de estas reservas durante el crecimiento del embrión y durante la germinación?, ¿qué papel juegan los materiales acumulados en la pared del ovario en la maduración de las semillas? y ¿cuál es su papel en plantas anuales y perennes de las podostemáceas con respecto a la maduración de las semillas?.

Ahora estamos ampliando el estudio de otros taxa de podostemáceas en México y Sudamérica con el objeto de contribuir al conocimiento biológico de este grupo y para dar respuesta a muchas interrogantes que aún persisten.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

9. Literatura citada

- Ameka, G., E. Pfeifer y R. Rutishauser. 2002. Developmental morphology of *Saxicolella amicornum* and *S. submersa* (Podostemaceae: Podostemoideae) from Ghana. Botanical Journal of the Linnean Society, 139: 255-273.
- Arber, A. 1920. Water Plants: A study of aquatic angiosperms. Cambridge University Press, Cambridge. 436 pp.
- Arekal, G. D. y C. R. Nagendran. 1975a. Is there a *Podostemum* type of embryo sac in the genus *Farmeria*? Caryologia, 28: 229-235.
- Arekal, G. D. y C. R. Nagendran. 1975b. Embryo sac of *Hydrobryopsis sessilis* (Podostemaceae) - Origin, organization and significance. Bot. Notiser, 128: 332-337.
- Arekal, G. D. y C. R. Nagendran. 1976. A new type of embryo sac organization in angiosperms. Curr. Sci., 45: 717-719.
- Arekal, G. D. y C. R. Nagendran. 1977a. Female gametophyte of *Zeylanidium* (Podostemaceae) - A clarification. Phytomorphology, 27: 123-129.
- Arekal, G. D. y C. R. Nagendran. 1977b. The female gametophyte in two Indian genera of Tristichoideae (Podostemaceae) - A reinvestigation. Proc. Indian Acad. Sci., 86: 287-294.
- Battaglia, E. 1971. The embryo sac of Podostemaceae - An interpretation. Caryologia, 24: 403-420.
- Battaglia, E. 1980. Embryological questions: 2. Is the endosperm of Angiosperms sporophytic or gametophytic? Ann. Bot. (Roma), 39: 9-30.
- Battaglia, E. 1983. Embryological questions: 5. Discussion of the concept of spore, sporogenesis and apospory in relation to the female gametophyte of Angiosperms Ann. Bot. (Roma), 43: 101-140.
- Battaglia, E. 1987. Embryological questions : 11. Has the debated case of Podostemaceae been resolved? Annali di botanica, 45: 37-64.
- Bedinger, P. A., K. J. Hardeman y C. A. Loukides. 1994. Travelling in style: the cell biology of pollen. Trends in cell biology, 4: 134-138.

- Bhojwani, S. S. y S. P. Bhatnagar. 1981. The embryology of angiosperms. Vikas Publishing House, Delhi.
- Bhojwani, S. S. y W. Y. Soh. 2001. Current trends in the embryology of angiosperms. Kluwer Academic Press. The Netherlands. 533 pp.
- Bridson, G. D. y E. R. Smith (eds). 1991. Botanico-Periodicum-Huntianum-Supplementum. Hunt Institute for Botanical Documentation. Carnegie Mellon University.
- Burkhardt, G., W. Schild, H. Becker y M. Grubert. 1992. Biphenils and xanthones from the Podostemaceae. *Phytochemistry*, 31: 543-548.
- Chase, M. W. M., F. Fay y V. Savolainen. 2000. Higher-level classification in the angiosperms: New insights from perspective of DNA sequence data. *Taxon*, 49: 685-704.
- Chiarugi, A. 1933. Lo sviluppo del gametofito femminile della *Weddellina squamulosa* Tul. (Podostemonaceae). *Atti Accad. Lincei (Roma)*, ser. 6, 17: 1095-1100.
- Chopra, R. N. y A. J. Mukkada, 1966. Gametogenesis y pseudo-embryo sac in *Indotristicha ramosissima* (Wight) Van Royen. *Phytomorphology*, 16: 182-188.
- Collison, M. E., M. C. Boulter y P. L. Holmes. 1993. Magnoliophyta (Angiospermae). En: Benton, M. J. (ed.) *The Fossil Record 2*. Chapman and Hall, London.
- Cook, C.D.K. 1990. *Aquatic Plant Book*. SPB Academic Publishing, The Hague, The Netherlands. 228 pp.
- Cook, Ch. y R. Rutishauser. 2002. Podostemaceae. Kubitzki's "Families and genera of vascular Plants" (en prensa).
- Cox, P. A. 1988. Hydrophilous pollination. *Annual Review of Ecological Systematics*, 19: 261-280.
- Crane, P. R. 1985. Phylogenetic analysis of seed plants and the origin of angiosperms. *Ann. Missouri Bot. Gard.*, 72: 716-793.
- Crane, P. R., E. M. Friis y K. R. Pedersen 1995. The origin and early diversification of Angiosperms. *Nature* 374, (2): 27-33.

- Cronquist, A. 1981. An integrated system of classification of flowering plants. Columbia University Press. New York. 1262 pp.
- Cronquist, A. 1988. The evolution and classification of flowering plants. The New York Botanical Garden. Bronx, New York. 555 pp.
- Cusset, C. 1973. Révision des Hydrostachyaceae. *Adansonia* II, 13: 75-119.
- Cusset, C. y G. Cusset. 1988a. Etudes sur les Podostemales. 9. Délimitations taxinomiques dans les *Tristichaceae*. Bull. Mus. Natn. Hist. Nat. Paris, Sér. 4 (section B, *Adansonia*, n 2), 10: 149-177.
- Cusset, C. y G. Cusset. 1988b. Etudes sur les Podostemales. 10. Structures florales et végétatives des *Tristichaceae*. Bull. Mus. Natn. Hist. Nat. Paris, Sér. 4 (section B, *Adansonia*, n 2), 10: 179-218.
- Cusset, C. 1992. Contribution a l'étude des Podostemaceae: 12. Les genres asiatiques. Bull. Mus. Natn. Hist. Nat., Paris (Sect. B, *Adansonia*), 12: 13 -54.
- Dahlgren, R.M.T, 1980. A revised system of classification of the angiosperms. Bot. J. Linn. Soc., 80: 91-124.
- Davis, G. L. 1966. Systematic embryology of the Angiosperms. John Wiley & Sons, Inc. New York.
- Doyle, J. A. y M. J. Donoghue. 1986. Seed plant phylogeny and the origin of the angiosperms: an experimental cladistic approach. Bot. Rev., 52: 321-431.
- Endress, P. K. 1994. Diversity and evolutionary biology of tropical flowers. Cambridge University Press. 511 pp.
- Franklin-Tong, N. y C. Franklin. 1993. Gametophytic self-incompatibility: contrasting mechanisms for *Nicotiana* and *Papaver*. Trends in cell Biology, 3: 340-345.
- Grant, V. 1989. Especiación vegetal. Ed. Limusa. México. 587 pp.
- Grubert, M. 1991. Ecología de fanerógamas de saltos tropicales adaptadas en forma extrema. *Natura* (Caracas), 91: 54-61.
- Heslop-Harrison, Y. y K. R. Shivanna. 1977. The receptive surface of the Angiosperm stigma. Ann. Bot., 41: 1233-1258.

- Humboldt, F. W. H. A., A. J. A. Bonpland y C. S. Kunth. 1816. *Nova genera et Species Plantarum*. Vol. I (Ed. Folio). Lutetiae, París. p. 197.
- Hutchinson, J. 1973. *The families of flowering plants. Arranged according to a new System based on their probable Phylogeny*. Oxford at the Clarendon Press. p. 564-566.
- Jäger-Zürn, I. 1997. Embryological and floral studies in *Weddellina squamulosa* Tul. (Podostemaceae, Tristichoideae). *Aquatic Bot.*, 57: 151-182.
- Jäger-Zürn, I. 1998. II. Anatomy of Hydrostachyaceae. En: *Extreme adaptatios in Angiospermous Hydrophytes*. *Encyclopedia of Plant Anatomy XIII*, 4. Berlin, 129-196.
- Jäger-Zürn, I. 1999. Developmental morphology of the shoot system of *Podostemum subulatum* (Podostemaceae-Podostemoideae) Part V of the series 'Morphology of Podostemaceae' *Beitr. Biol. Pflanzen* 71, 281-334.
- Jäger-Zürn, I. y M. Grubert. 2000. Podostemaceae depend on sticky biofilms with respect to attachment to rocks in waterfalls. *Int. J. Plant Sci.*, 161: 599-607.
- Johansen, D. A. 1940. *Plant microtechnique*. McGraw-Hill Book Co. Inc. London.
- Johri, B. M. (ed). 1984. *Embryology of angiosperms*. Springer, Berlin Heidelberg New York. 830 pp.
- Johri, B. M., K. B. Ambegaokar y P. S. Srivastava. 1992. *Comparative embryology of Angiosperms*. Springer-Verlag. Berlin, Heidelberg New York. 1221 pp.
- Kapil, R. N. 1970. Podostemaceae. *Bulletin of the Indian National Science Akademy*, 41: 104-109.
- Khosla, Ch. y H. Y. Mohan Ram. 1993. Morphology of flower, fruit and seed in *Polypleurum stylosum*. *Aquatic Bot.*, 46: 255-262.
- Khosla, Ch., K. R. Shivanna y H. Y. Mohan Ram. 2000. Reproductive biology of *Polypleurum stylosum* (Podostemaceae). *Aquatic Bot.*, 67(2): 143-154.
- Kita, Y. y M. Kato. 2001. Intrafamilial phylogeny of the aquatic angiosperm Podostemaceae inferred from the nucleotide sequences of the *matK* gene. *Plant biol.*, 3:156-163.

- Les, D. H. y C. T. Philbrick, 1993. Studies of hybridization and chromosome number variation in aquatic angiosperms: evolutionary implications. *Aquatic Bot.*, 44: 181-228.
- Les, D. H., C. T. Philbrick y A. Novelo R. 1997. The phylogenetic position of riverweeds (Podostemaceae) : Insights from *rbcL* sequence data. *Aquatic Bot.*, 57: 5-27.
- Lobreau-Callen, D., A. LeThomas y M. Suárez-Cervera. 1998. Ultrastructural characters of the pollen of some Podostemales. Affinities with advanced Rosidae. *Comptes Rendues de l'Academie des Sciences, Sér. III*, 321: 335-345.
- Lot, A., A. Novelo y P. Ramírez-García. 1993. Diversity of mexican aquatic vascular flora. En: *Biological diversity of Mexico. Origin and distribution*. T. P. Ramamorthy, R. Bye, A. Lot y J. F. Oxford, University Press. New York. p. 577-591.
- Magnus, W. 1913. Die atypische embryonalentwicklung der Podostemaceen. *Flora*, 105: 275-336.
- Maheshwari, P. A. 1954. The embryology of *Wolffia* . *Phytomorphology*, 355-365.
- Maheshwari, P. 1950. *An introduction to the embryology of angiosperms*. McGraw-Hill, New York.
- Maheshwari, P. A. 1955. The occurrence of bisporic embryo-sacs in angiosperms - a critical review. *Phytomorphology*, 5: 67-99.
- Mathew, C. J. y V. K. Satheesh, 1997. Taxonomy and distribution of the Podostemaceae in Kerala, India. *Aquatic Bot.*, 57: 243-274.
- Mauritzon, J. 1939. Contribution to the embryology of the orders Rosales and Myrtales. *Lund Univ. Arsskr.*, ser. 2, 35(2): 1-121.
- Miyoshi, N., H. Kato. 1982. Pollen morphology by means of scanning electron microscope. 5. Angiospermae (Piperaleae, Podostemonales). *Jpn. J. Palynol.*, 7-11.
- Mohan Ram, H. Y. y A. Sehgal. 1992. Podostemaceae the strange family of aquatic angiosperms. *The Palaeobotanist*, 41: 192-197.
- Mohan Ram, H. Y. y A. Sehgal. 1997. In vitro studies on development morphology of Indian Podostemaceae. *Aquatic Bot.*, 57: 97-132.

- Mohan Ram, H. Y. y A. Sehgal. 2001. Biology of Indian Podostemaceae. p. 365-391. En: Rangaswamy N. S. (ed.): Phytomorphology Golden Jubilee Issue 2001: Trends in Plant Sciences. New Delhi.
- Mukkada, A. J. 1962. Some observations on the embryology of *Dicraea stylosa* Wight. En: Plant embryology symposium. Counc. Sci. Industr. Res. New Delhi, India 139-145.
- Mukkada, A. J. 1964. An addition to the bisporic embryo sacs – The *Dicraea* type. New Phytol., 63: 289-292.
- Mukkada, A. J. 1969. Some aspects of the morphology, embryology and biology on *Terniola zeylanica* (Gardner) Tulasne. New Phytol., 68: 1145-1158.
- Mukkada, A. J. y R. N. Chopra. 1973. Post-fertilization development in *Indotristicha ramosissima* (Wight) van Royen. New Phytol., 72: 639-646.
- Murguía S., G., A. Novelo R., C. T. Philbrick y G. J. Márquez G. 2001. Desarrollo de los verticilos sexuales de *Vanroyenella plumosa* Novelo & Philbrick (Podostemaceae). Acta Botanica Mexicana, 57: 37-50.
- Murguía S., G., A. Novelo R., C. T. Philbrick y G. J. Márquez G. 2002. Embryo sac development in *Vanroyenella plumosa* Podostemaceae (Podostemoideae). Aquatic Bot., 73: 201-210.
- Nagendran, C. R. 1974. Is the embryo-sac of Podostemaceae bisporic? Current Sci., 43: 259-260.
- Nagendran, C. R. y G. D. Arekal. 1976. Embryo sac of *Griffithella hookeriana* - a reinvestigation. Phytomorphology, 26 : 359-363.
- Nagendran, C. R., K. Subramanyan, y G. D. Arekal. 1976. Development of the female gametophyte in *Hydrobryum griffithii* (Podostemaceae). Ann. Bot. (Roma), 40 : 511-513.
- Nagendran, C. R., G. D. Arekal y K. Subramanyam. 1977. Embryo sac studies in three species of *Polypleurum* (Podostemaceae). Plant Syst. and Evol., 128: 215-226.
- Nagendran, C. R., V. V. Anand y G. D. Arekal. 1980. The embryo sac of *Podostemum subulatus* (Podostemaceae) – a reinvestigation. Plant Syst. and Evol., 134: 121-125.
- Novelo R., A. y C. T. Philbrick. 1993. *Vanroyenella*: A new genus of Podostemaceae from Jalisco, Mexico. Syst. Bot., 18: 64-67.

- Novelo R., A. y C. T. Philbrick. 1995. A new species of *Oserya* (Podostemaceae) from Jalisco, México. *Novon*, 5: 54-56.
- Novelo R., A. y C. T. Philbrick. 1997. Taxonomy of Mexican Podostemaceae. *Aquatic Bot.*, 57: 275-303.
- Novelo R., A. y C. T. Philbrick. 2000. Familia Podostemaceae. Fascículo 87. Flora del Bajío y de regiones adyacentes. Centro Regional del Bajío. Pátzcuaro, Michoacán, México. 7 pp.
- O'Neill, S. P., J. M Osborn, C. T. Philbrick, y A. Novelo. 1997. Comparative pollen morphology of five New World genera of Podostemaceae. *Aquatic Bot.*, 57: 133-150.
- Oropeza, N., P. Mercado-Ruaro, A. Novelo y C. T. Philbrick. 1998. Karyomorphological studies of Mexican species of *Marathrum* (Podostemaceae). *Aquatic Bot.*, 62: 207-211.
- Oropeza, N., G. Palomino, A. Novelo R. y C. T. Philbrick. 2002. Karyomorphological studies in *Oserya*, *Vanroyenella* and *Tristicha* (Podostemaceae *sensu lato*). *Aquatic Bot.*, 73: 163-171.
- Osborn, J. M. y C. T. Philbrick. 1994. Comparative pollen structure and pollination biology in the Callitrichaceae. *Acta Botanica Gallica*, 141: 257-266.
- Osborn, J. M. y T. N. Taylor. 1995. Pollen morphology and ultrastructure of the Bennettitales: in situ pollen of *Cycadeoidea*. *Amer. J. Bot.*, 82: 1074-1081.
- Palser, B. F. 1975. The bases of Angiosperm phylogeny: Embryology. *Ann. Missouri Bot. Gard.*, 62: 621-646.
- Philbrick, C. T. y G. E. Crow. 1983. The distribution of *Podostemum ceratophyllum* Michx. (Podostemaceae). *Rhodora*, 85: 325-341.
- Philbrick, C. T. 1984. Aspects of floral biology, breeding system, and seed and seedling biology in *Podostemum ceratophyllum* (Podostemaceae). *Syst. Bot.*, 9 (2): 166-174.
- Philbrick, C. T. y A. Novelo R. 1993. River-weeds: A fascinating family of aquatic flowering plants. *Aquaphyte.*, 13: 1, 6.
- Philbrick, C. T. y A. Novelo R. 1994. Seed germination of mexican Podostemaceae. *Aquatic Bot.*, 48:145-151.

- Philbrick, C. T. y A. Novelo R. 1995. New world Podostemaceae : Ecological and evolutionary enigmas. *Brittonia*, 47: 210-222.
- Philbrick, C. T. y D.H. Les. 1996. Evolution of aquatic angiosperm reproductive systems. *Bio Science*, 46: 813-826.
- Philbrick, C. T. 1997. Introduction. *Aquatic Bot.*, 57: 1-4.
- Philbrick, C. T. y A. Novelo R. 1997. Ovule number, seed number and seed size in Mexican and North American species of Podostemaceae. *Aquatic Bot.*, 57: 183-200.
- Philbrick, C. T. y A. Novelo R. 1998. Flowering phenology, pollen flow, and seed production in *Marathrum rubrum* (Podostemaceae). *Aquatic Bot.*, 62: 199-206.
- Quiroz F., A., A. Novelo R. y C. T. Philbrick. 1997. Water chemistry and the distribution of Mexican Podostemaceae: a preliminary evaluation. *Aquatic Bot.*, 57: 201-212..
- Raghavan, V. 1997. Molecular embryology of flowering plants. Cambridge University press. p. 1-14.
- Rauh, W. y Jäger-Zürn. 1967. Le problème de la position systématique des Hydrostachyacées. *Adansonia*, 2, 6, 4: 515-523.
- Razi, B. A. 1949. Embryological studies of two members of the Podostemaceae. *Bot. Gaz.*, 3: 211-218.
- Razi, B. A. 1955. Some aspects of the embryology of *Zeylanidium olivaceum* (Tid.) Engl. and *Lawia zeylanica* Tul. *Bull Bot. Soc. Bengal*, 9: 36-41.
- Razi, B. A. 1966. Some observations of the embryology of the Podostemaceae. *Proc. Autumn Sch. Bot. Mahabaleshwar (India)*, p. 303-315.
- Richard, L. C. 1815. Podostemaceae (Podostemeae). En: Humboldt, Bonpland & Kunth (eds.) *Nova. gen. et species plantarum*, I: 246.
- Romo-Contreras, V. R., R. Scogin, C. T. Philbrick y A. Novelo R.. 1993. A phytochemical study of selected Podostemaceae: systematic implications. *Alliso*, 13: 513-520.

- Russell, S. D. 2001. Female gametogenesis. Ontogenesis of the embryo sac and female gametogenesis. En: Bhojwani, S. S. y W. Y. Soh (eds.). Current trends in the embryology of angiosperms. Kluwer Academic Press. The Netherlands. p. 67-88.
- Rutishauser, R. y K. A. Huber. 1991. The developmental morphology of *Indotristicha ramosissima* (Podostemaceae, Tristichoideae). Plant. Syst. Evol., 178: 195-223.
- Rutishauser, R. 1997. Structural and developmental diversity in Podostemaceae (river weeds). Aquatic Bot., 57: 29-70.
- Rutishauser, R. y M. Grubert. 1999. The architecture of *Mourera fluviatilis* (Podostemaceae): developmental morphology of inflorescences, flowers and seedlings. Amer. J. Bot., 86: 907-922.
- Rutishauser, R., A. Novelo R. y C. T. Philbrick. 1999. Developmental morphology of New World Podostemaceae: *Marathrum* and *Vanroyenella*. Int. J. Pl. Sci., 160: 29-45.
- Rutishauser, R. y M. Grubert. 2000. Developmental morphology of *Apinagia multibranchiata* (Podostemaceae) from the Venezuelan Guyanas. Bot. J. Linn. Soc., 132: 299-323.
- Rutishauser, R. y E. Pfeifer. 2002. Comparative morphology of *Cladopus* (Including *Torrenticola*, Podostemaceae) from east Asia to north-eastern Australia. Amer. J. Bot., 50: 725-739.
- Ruzin, S. E. 1999. Plant microtechnique and microscopy. Oxford University Press. New York. 322 pp.
- Savolainen, V., M. F. Fay, D. C. Albach, A. Blacklund, M. van der Bank, K. M. Cameron, S. A. Johnson, M. D. Lledó, J. C. Pintaud, M. Powell, M. C. Sheahan, D. E. Soltis, P. S. Soltis, P. Weston, W. M. Whitten, K. J. Wurdack y M. W. Chase. 2000. Phylogeny of the eudicots a nearly complete familial analysis based on rbcL gene sequences. Kew Bull., 55: 257-309.
- Schnell, R. 1967. Etudes sur l'anatomie et la morphologie des Podostémacées. Candollea, 22: 157-225.
- Schnell, R. A. A. 1998. III. Anatomie des Podostémacées. En : Extreme adaptations in Angiospermous Hydrophytes. Encyclopedia of Plant Anatomy XIII, 4. Berlín. p. 197-283.

- Sculthorpe, C.D. 1967. The biology of aquatic vascular plants. Edward Arnold, London. 610 pp.
- Sehgal, A., H. Y. Mohan Ram y J. R. Bhatt. 1993. In vitro germination, growth, morphogenesis and flowering of an aquatic angiosperm, *Polypleurum stylosum* (Podostemaceae). Aquatic Bot., 45: 269-283.
- Soltis, D. E., M. E. Mort, P. S. Soltis, C. Hibsich-Jetter, E. A. Zimmer y D. Morgan. 1999. Phylogenetic relationships of the enigmatic angiosperm family Podostemaceae inferred from 18S rDNA and rbcL sequence data. Molecular Phylogenetics and Evolution, 11: 261-272.
- Stevens, P.F. (2001 onwards). Angiosperm phylogeny Website. Version 3, May 2002 [but more or less continuously updated science].
<http://www.mobot.org/MOBOT/research/APweb/>
- Takhtajan, A.L. 1997. Diversity and classification of flowering plants. Columbia Univ. Press. New York.
- Thomas, B. 1994. Internal and external controls of flowering. En: Jordan, B. R. (ed.) The molecular biology of flowering. CAB International. UK. p. 1-20.
- Thomas. Domenech, J. M. 1970. Encyclopédie en couleurs de la botanique. Marabout Université. Gérard & Co., Verviers Belgique. 192 pp.
- Tobe, H. 1989. The embryology of Angiosperms: Its broad application to systematic and evolutionary study. Botanical Magazine Tokyo, 102: 351-367.
- Tootill, E. 1988. Dictionary of Botany. Market House Books, Ltd. Great Britain. 390 pp.
- Tur, N. M. 1997. Taxonomy of Podostemaceae in Argentina. Aquatic Bot., 57: 213-242.
- Ueda, K., T. Hanyuda, A. Nakano, T. Shluchi, A. Seo, H. Okubo y M. Hotta. 1997. Molecular phylogenetic position of Podostemaceae, a marvelous aquatic flowering plant family. J. Plant. Res., 110: 274-281.
- Valley, P. 1976. JB-4 Embedding Kit. Polysciences Inc.
- van Royen, P. 1951. The Podostemaceae of the New World Part I. Meded. Bot. Mus. Herb. Rijks Univ. Utrecht, 107: 1-151.

- Vázquez S., S., E. M. Engleman, A. Martínez M. y J. Márquez G. 1998. Ovule and seed development of *Lacandonia schismatica* (Lacandoniaceae). Amer. J. Bot., 85 (3): 299-304.
- Went, F. A. F. C. 1908. The development of the ovule, embryo sac and egg in Podostemaceae. Recueil des travaux botaniques néerlandais, 5: 1-16.
- Willis, J. C. 1902b. Studies in the morphology and ecology of the Podostemaceae of Ceylon and India. Annals of the Royal Botanical Gardens, Peradeniya, 1: 267-465.
- Willis, J. C. 1915. A new natural family of flowering plants – Tristichaceae. J. Linn. Soc. Bot., 43: 49-54.