



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA
DE MEXICO**

FACULTAD DE CIENCIAS

**Embriología de *Soridium spruceanum*
Miers (Triuridaceae)**

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE

BIÓLOGA

PRESENTA

MAGALI YADIRA ESPINOSA SÁNCHEZ



TUTORA: **DRA. SONIA VÁZQUEZ SANTANA**

MÉXICO, D. F.

OCTUBRE, 2009



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



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.



UNIVERSIDAD NACIONAL
AUTÓNOMA DE
MEXICO

FACULTAD DE CIENCIAS
Secretaría General
División de Estudios Profesionales

Votos Aprobatorios

ACT. MAURICIO AGUILAR GONZÁLEZ
Jefe de la División de Estudios Profesionales
Facultad de Ciencias
Presente

Por este medio hacemos de su conocimiento que hemos revisado el trabajo escrito titulado:

Embriología de *Soridium spruceanum* Miers (Triuridaceae)

realizado por **Espinosa Sánchez Magali Yadira** con número de cuenta **3-0020519-4** quien ha decidido titularse mediante la opción de tesis en la licenciatura en **Biología**. Dicho trabajo cuenta con nuestro voto aprobatorio.

Propietario Dra. Guadalupe Judith Márquez Guzmán

Propietario Dra. Martha Juana Martínez Gordillo

Propietario Tutor Dra. Sonia Vázquez Santana

Suplente Dra. Silvia Espinosa Matías

Suplente Biól. Esteban Manuel Martínez Salas

FACULTAD DE CIENCIAS



UNIDAD DE ENSEÑANZA
DE BIOLOGÍA

Atentamente,

“POR MI RAZA HABLARÁ EL ESPÍRITU ”

Ciudad Universitaria, D. F., a 02 de junio de 2009.

EL COORDINADOR DEL COMITÉ ACADÉMICO DE LA LICENCIATURA EN BIOLOGÍA



Agradecimientos

A la Universidad Nacional Autónoma de México por todo lo que me proporcionó durante mis estudios.

Al taller Biología del desarrollo y función de las estructuras reproductoras en cactáceas. Esta investigación se realizó en el laboratorio de Desarrollo en Plantas, Facultad de Ciencias, UNAM.

A la Dra. Sonia Vázquez directora de esta tesis, por la oportunidad, dedicación y la orientación que me brindó para realizar este trabajo.

A los integrantes del jurado por la revisión y sugerencias de la tesis.

A la Dra. Judith Márquez Guzmán por sus consejos y la atención prestada a la revisión de este trabajo.

A la Dra. Martha Juana Martínez Gordillo por ser una de las mejores maestras que he tenido en la facultad y por sus acertadas sugerencias a este trabajo.

Al Biol. Estaban Martínez Salas por la información y el material brindados de *Soridium spruceanum*, por su confianza, comentarios y acertadas correcciones de este trabajo.

A la Dra. Silvia Espinosa Matías de laboratorio de Microscopía Electrónica de Barrido, por las tomas de fotomicrografías. Gracias por sus valiosas aportaciones durante la revisión del trabajo.

A la Dra. Clara Ramos por la revisión y sugerencias que realizó a este trabajo.

A Anabel Bieler por la toma de fotografías y fotomicrografías y Alejandro Martínez Mena por la toma de fotomicrografías. Ambos del laboratorio de Microcine, Facultad de Ciencias, UNAM.

A la Dra. Clara Ezquivel y al M. en C. Ricardo Wong por su valiosa asesoría técnica.

Dedicatorias

A mis padres Javier Espinosa Gaspar y Elisa Sánchez Durán por su amor, sus consejos, su apoyo y el enorme sacrificio que han realizado para que concluyera esta gran etapa de mi vida ¡Mil Gracias!

A mis hermanos Javier e Iván por soportar mis travesuras, berrinches pero sobre todo por sus consejos y apoyo que siempre me han brindado.

A mi sobrina Andrea, por brindarme tantas sonrisas y que son las que me fortalecen.

Al tío Toño por sus consejos, orientación y el apoyo siempre brindado a toda mi familia.

A la Dra. Sonia Vázquez Santana, por todo su apoyo y orientación. Sony, gracias por tu confianza, amistad, paciencia y consejos tanto académicos y personales brindados durante todo este tiempo.

A las profesoras del taller Dra. Judith Márquez Guzmán, Dra. Margarita Collazo Ortega, Dra. Sonia Vázquez, Ana Laura Escamilla, Biol. Patricia Olgún Santos y M en C. Karina Jiménez Durán por transmitir sus conocimientos.

A la M. en C. Mónica Karina Pérez Pacheco por revisar este trabajo, por la asesoría, compañerismo y amistad.

A los Biólogos Gabriel Olalde y Bárbara Estrada por su amistad, por sus consejos y a quienes recuerdo con mucho cariño.

A mis amigos Daniel Parras, Gustavo Díaz, Aldebarán Camacho y Fernando Olvera por su gran amistad siempre demostrada, apoyo y paciencia.

A mis compañeros del taller y del laboratorio Alde, Alfonso, Amelia, Dulce, Elizabeth, Gabriel, Juan Manuel, Mony, Norma, Rocío, Saúl y Silvia. Juntos hacían del laboratorio un lugar agradable e interesante.

A la familia Bautista De Lucio, en especial al Dr. Víctor M. Bautista. Por todo el apoyo que me han brindado en varias etapas de mi vida.

A mis recientes amigas Mildret, Brenda y Ariadna por su sincera amistad y apoyo brindado en los momentos difíciles.

Y por supuesto a ti Saúl, por tu amistad, tus cuidados, compañía, comprensión y por la gran fortaleza de tu amor. Por tu apoyo físico, emocional e intelectual. Porque has estado conmigo en todo momento. Juntos hemos dado el mejor esfuerzo para construir lo que hasta ahora tenemos y con amor y empeño que ponemos día a día se qué en un futuro no muy lejano estaremos juntos como ambos lo deseamos ¡Te Amo Maléfico!

ÍNDICE

RESUMEN	1
INTRODUCCIÓN	3
ANTECEDENTES	5
La flor	5
Sistemas sexuales en angiospermas	6
Taxonomía del orden Triuridales	7
Descripción botánica de la Familia Triuridaceae	13
Estudios de la biología reproductiva de la Familia Triuridaceae	15
Descripción de <i>Soridium</i> Miers	22
Descripción botánica de <i>Soridium spruceanum</i> Miers	22
OBJETIVOS	25
MATERIALES Y MÉTODOS	26
RESULTADOS	30
Morfología floral de <i>Soridium spruceanum</i>	30
Desarrollo de flores masculinas	32
Desarrollo de la antera y el grano de polen	32
Desarrollo de flores femeninas	39
Desarrollo del óvulo	40
Fecundación	49
Fruto y semilla	52
Polimorfismo floral	54
DISCUSIÓN	57
CONCLUSIONES	66
LITERATURA CONSULTADA	68

RESUMEN

Soridium spruceanum Miers de la familia Triuridaceae es una especie que había sido descrita como monoica, sin embargo se ha mencionado que algunas veces presenta flores hermafroditas. Des éstas, se desconocía la morfología y si eran funcionales. En esta investigación se aportan evidencias de que *S. spruceanum* es trimonoica, ya que algunos individuos producen flores funcionales masculinas, femeninas y bisexuales y se describe la morfología de las flores bisexuales. En la inflorescencia se desarrollan primero las flores femeninas en la parte proximal seguidas de las flores masculinas en la parte distal. Ambos tipos florales presentan cuatro tépalos fusionados basalmente.

Las flores masculinas presentan de dos a cuatro anteras, todas funcionales. El filamento de las anteras es muy corto y dorsifijo. Cada antera es bilobulada y biesporangiada, con una línea de dehiscencia longitudinal extrorsa y funcional. El desarrollo de la pared de la antera es del tipo monocotiledóneo; en etapa joven presenta cuatro capas uniestratificadas: la epidermis, el endotecio, la capa media y el tapete secretor, en etapa madura únicamente persisten la epidermis y el endotecio. Las tétradas de microsporas son isobilaterales. El grano de polen maduro es tricelular e inaperturado, con una exina verrugada de menor grosor con respecto a la intina, la cual es de mayor grosor.

Las flores femeninas tienen un gineceo apocárpico con numerosos pistilos que presentan un ovario, un estilo y un estigma papiloso. Cada ovario contiene un óvulo anátropo, tenuinucelado y bitégmico. La tétrada de megasporas es en forma de T, la megaspora calazal origina un saco embrionario monospórico de tipo *Polygonum*.

En las flores bisexuales el patrón en el que se disponen el androceo y el gineceo sobre el receptáculo no es el típico de las angiospermas, ni el que en 1989 fue descrito para *Lacandonia schismatica* (*sensu* Martínez y Ramos). En estas flores bisexuales se observa una distribución colateral de las estructuras reproductoras, es decir, el gineceo apocárpico se ubica en una mitad del receptáculo floral y el androceo en la otra mitad.

Se desconoce cómo es la polinización, pero se observaron granos de polen germinando en los estigmas. Los tubos polínicos crecen por el estilo y penetran por las papilas a un tejido de transmisión ubicado en la base del estilo y ápice del ovario para entrar por el funículo al óvulo y efectuar la doble fecundación.

El desarrollo del endospermo es de tipo nuclear y la cubierta seminal es endotestal, ya que el tegmen biestratificado desaparece. La endotesta presenta taninos y paredes celulares lignificadas. El embrión es poco diferenciado y está rodeado de abundante endospermo, el cual tiene células muy grandes con paredes celulares primarias gruesas. La pared del fruto está formada de cuatro a seis estratos celulares parenquimáticos.

INTRODUCCIÓN

La posición taxonómica de la familia Triuridaceae es controversial, anteriormente se ubicaba en el orden Triuridales junto con Lacandoniaceae, una nueva familia unigenérica (Martínez y Ramos, 1989). Actualmente Rudall y Bateman (2006), basándose en estudios moleculares ubican a la familia Triuridaceae en el orden Pandanales, considerando a *Lacandonia* como uno de sus géneros.

En este estudio se aborda a *Soridium spruceanum* como un miembro de la familia Triuridaceae sensu Maas y Rübsamen (1986) y se relaciona con su familia hermana Lacandoniaceae (Martínez y Ramos, 1989).

Triuridaceae es una pequeña familia de monocotiledóneas que consiste de seis géneros (Van de Meerendonk, 1984) ó nueve géneros y 45 especies de plantas micoheterotróficas, con flores diminutas y hojas reducidas en forma de escama, con embriones poco diferenciados y endospermo bien desarrollado. Todas las especies presentan un gineceo apocárpico y polen trinucleado (Maas y Rübsamen, 1986). Algunas investigaciones han demostrado que los datos de microsporogénesis y morfología del polen son de gran valor en la resolución de las relaciones filogenéticas entre monocotiledóneas lilioides, pero aún son pocos los taxa estudiados al respecto (Furness *et al.*, 2002).

Existen pocas investigaciones desde el punto de vista embriológico sobre los miembros de la familia Triuridaceae. Los trabajos para el género *Soridium* son incompletos y la mayoría están relacionados sólo con descripciones de la morfología floral y muy poco acerca de la embriología, así como la forma de

reproducción. Esta información es de gran importancia para conocer y entender la biología reproductiva de la familia Triuridaceae (Maas y Rübsamen, 1986).

Esta investigación tiene como objetivo conocer el desarrollo floral de *Soridium spruceanum*, para aportar datos embriológicos que pueden ayudar a describir su reproducción y la expresión sexual de las flores e individuos. Este tipo de estudios ya han sido abordados en especies como *Triuris brevistylis* Smith ¹ (Espinosa, 1991, 1994; Martínez, 1994; Vergara-Silva *et al.*, 2003; Ambrose *et al.*, 2006) y *Lacandonia schismatica* (Martínez y Ramos, 1989; Márquez-Guzmán *et al.*, 1989, 1993; Vázquez-Santana *et al.*, 1997; Vergara-Silva *et al.*, 2003; Ambrose *et al.*, 2006). Los datos obtenidos serán útiles para situar correctamente a la familia Triuridaceae en la clasificación taxonómica y el mejor conocimiento de la embriología del grupo. Los datos embriológicos serán una aportación de conocimiento sobre este tópico para el género *Soridium* y la familia Triuridaceae.

¹ *Triuris brevistylis* Smith fue estudiada embriológicamente por Espinosa (1991, 1994) como *Triuris alata* Brade, pero posteriormente la refiere como *T. brevistylis*.

ANTECEDENTES

La flor

La flor es un tallo de crecimiento determinado que contiene un conjunto de órganos reproductores estériles (sépalos y pétalos) y fértiles (estambres y carpelos) dispuestos sobre un eje: el receptáculo, que exhibe una gran variedad de formas, colores, tamaños y modos de inserción de los verticilos florales; sin embargo, su organización básica es uniforme. La mayoría de las flores poseen cuatro clases de hojas modificadas, en el orden: sépalos, pétalos, estambres y carpelos, denominándose como flores completas. Cuando algún verticilo floral está ausente, se llama flor incompleta. Si la flor carece de estambres y/o carpelos, se llama flor imperfecta o unisexual, además de ser incompleta. Si se producen tanto estambres como carpelos, la flor es perfecta o bisexual, aunque carezca de pétalos y/o sépalos. Las flores que poseen sólo órganos reproductores masculinos, se denominan estaminadas, las que sólo poseen órganos reproductores femeninos, se denominan pistiladas (Esau, 1982; Mauseth, 1998; Flores, 1999; Bhojwani y Bhatnagar, 2000).

En una flor completa, la parte más externa consiste de hojas especializadas útiles en la protección de la yema en desarrollo: los sépalos, que en conjunto forman el cáliz. El siguiente verticilo, la corola, está formada por los pétalos, que al igual que los sépalos son parecidos a las hojas, teniendo como función principal la atracción de polinizadores. El siguiente conjunto de hojas especializadas es el androceo, compuesto por los estambres y representa el órgano sexual masculino. Cada estambre se conforma de filamento y antera. Dentro de la antera se producen los granos de polen con los gametos masculinos, las células espermáticas. En el centro de la flor se localiza el último conjunto de hojas

especializadas, el gineceo u órgano sexual femenino. Está formado de carpelos, los cuales pueden fusionarse para formar una sola unidad que consiste típicamente de ovario, estilo y estigma, que es el sitio de recepción del polen durante la polinización. Dentro del ovario se ubican los óvulos que contienen al saco embrionario o gametofito femenino donde se ubica el gameto femenino, la ovocélula. El saco embrionario está rodeado por tejido nucelar y protegido por uno o dos tegumentos. El desarrollo del saco embrionario puede seguir diferentes patrones de diferenciación, los cuales en la etapa madura difieren en el número de núcleos y contenido cromosómico, el más común en las angiospermas es el tipo *Polygonum* (Maheswari, 1950; Esau, 1982; Bhojwani y Bhatnagar, 2000).

La posición de los cuatro verticilos florales antes descrita es la predominante en las angiospermas, sin embargo en algunos de los géneros de la familia Triuridaceae (*Triuris brevistylis*) y Lacandoniaceae (*Lacandonia schismatica*) la regla se rompe y la disposición de los verticilos sexuales (androceo y gineceo) se invierte o modifica, de tal manera que en estas especies, especialmente en *L. schismatica* el androceo tiene una posición central en el receptáculo, lo que mereció el establecimiento de la nueva familia Lacandoniaceae (Martínez y Ramos, 1989). *Triuris brevistylis* es una especie básicamente dioica, pero en algunos de sus individuos se han encontrado flores bisexuales con el androceo y el gineceo sin un patrón en la distribución y hasta con inversión de los verticilos sexuales como en *L. schismatica* (Martínez, 1994; Vergara-Silva *et al.*, 2003; Ambrose *et al.*, 2006).

Sistemas sexuales en angiospermas

La mayoría de las angiospermas son hermafroditas, es decir presentan flores perfectas, con estambres y carpelos (Lebel-Hardenack y Grant, 1997; Charlesworth, 2002). Renner y Ricklefs (1995) mencionan que todas las angiospermas se

originaron a partir de un ancestro común hermafrodita, sugiriendo que el programa genético de desarrollo floral es común en todas las especies.

Además del sistema reproductivo hermafrodita, las angiospermas tienen una extensa diversidad de sistemas sexuales, tales como el monoico, ginomonoico, andromonoico, trimonoico, dioico, ginodioico, androdioico y trioico, entre otros (Bawa y Beach, 1981; Dellaporta y Calderón-Urrea, 1993; Ainsworth, 2000; Barrett, 2002).

El sistema monoico posee plantas con flores masculinas y femeninas. El monoicismo ha sido considerado como un sistema sexual que promueve la fecundación cruzada debido a la separación de las funciones sexuales, en flores diferentes, pero en un mismo individuo (Bawa y Beach, 1981). En el sistema ginomonoico, en la misma planta hay flores femeninas y flores bisexuales, mientras que en el andromonoico la planta posee flores masculinas y flores bisexuales, y en el sistema trimonoico una misma planta tiene flores bisexuales, flores femeninas y flores masculinas, con proporciones variables (Ainsworth, 2000).

Taxonomía del orden Triuridales

Según Cronquist (1988), el orden Triuridales es un pequeño orden monotípico, terrestre, monotrófico, saprófito, sin clorofila, con gineceo apocárpico y endospermo bien desarrollado y conformado por las familias Triuridaceae (con ocho géneros y 70 especies) y Petrosaviaceae (un género, con tres o cuatro especies). Martínez y Ramos (1989) incluyeron a la familia Lacandoniaceae con un género y una especie, en este mismo orden. La familia Triuridaceae, comprende hierbas saprófitas que viven sobre materia orgánica en descomposición en las zonas tropicales y subtropicales del mundo. Las plantas poseen flores bisexuales

y/o unisexuales, El gineceo es apocárpico y cada carpelo contiene un óvulo basal, anátropo, bitégmico y tenuinucelado. Los frutos son de tipo agregado. Las semillas son endospermicas con un embrión globular poco diferenciado. El androceo está formado por dos, tres o cuatro estambres.

Las características que distinguen a la familia Triuridaceae son: citocinesis sucesiva de las células madres del polen, los granos de polen son monocarpados y tricelulares, el óvulo es anátropo, bitégmico y tenuinucelar, el saco embrionario es de tipo *Polygonum* (probablemente también tipo *Fritillaria*) y el desarrollo del endospermo es de tipo celular (Maas y Rübsamen, 1986).

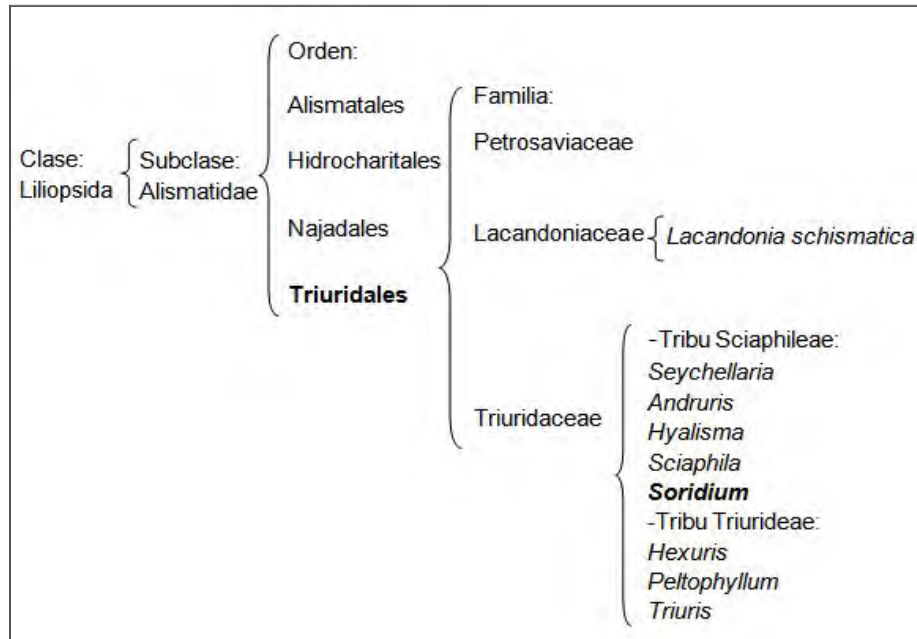
Takhtajan (1980) ubicó taxonómicamente al orden Triuridales de la siguiente manera:

Clase: Liliopsida
Subclase: Lilidae
Superorden: Triuridanae
Orden: Triuridales

Cronquist (1981, 1988) consideró que Triuridaceae es una familia taxonómicamente aislada y que además de su probable relación con la familia Petrosaviaceae, difiere marcadamente de todos los demás grupos de monocotiledóneas por el gineceo apocárpico y el hábito saprofito.

Martínez y Ramos (1989) describieron una nueva familia unigenérica al orden Triuridales, la familia Lacandoniaceae, quedando hasta ese momento la clasificación de la manera mostrada en la Tabla 1.

Tabla 1. Clasificación del orden Triuridales



Triuridaceae y Lacandoniaceae se caracterizan por presentar semillas con endospermo bien desarrollado, gineceo apocárpico y hábito saprófito.

La propuesta de la nueva familia Lacandoniaceae de Martínez y Ramos (1989) dentro del orden Triuridales se basó principalmente en la inversión de los verticilos sexuales es decir, el androceo ubicado en el centro del receptáculo de la flor y rodeado por el gineceo, así como por la dehiscencia introrsa de las anteras. El desarrollo de los carpelos es simultáneo en Lacandoniaceae y centrífugo en Triuridaceae (Vergara-Silva *et al.*, 2003; Ambrose *et al.*, 2006).

Según Giesen (1938), Jonker (1943), Dahlgren *et al.* (1985), Maas y Rübssamen (1986), Rübssamen-Weustenfled (1991) y Gandolfo *et al.* (2002), la familia Triuridaceae comprende dos tribus, cada uno representado por los siguientes géneros y características:

- a) Tribu Sciaphileae: comprende los géneros con plantas monoicas (con flores unisexuales) o hermafroditas (con flores bisexuales). ---Los tépalos con frecuencia son barbados, raramente caudados. Los estambres son sésiles o con filamentos cortos. Las anteras son uni o tetraesporangiadas. La línea de dehiscencia es transversal. Las flores femeninas carecen de estaminodios. El estilo es basal. Esta tribu está constituida por los géneros *Sciaphila* (~35 especies), *Soridium* (una especie), *Andruris* (cinco especies), *Hyalisma* (una especie) y *Seychellaria* (tres especies). Los miembros de Sciaphileae se encuentran distribuidos en el Viejo Mundo y en el Nuevo Mundo.
- b) Tribu Triurideae: consiste de plantas dioicas. El perianto está dividido en tres ó seis tépalos que se unen en la base. Los tépalos son caudados. Muestran tres estambres sésiles y con anteras tetraesporangiadas, la línea de dehiscencia es longitudinal. Las flores femeninas algunas veces presentan estaminodios. El estilo es lateral. Los frutos son aquenios y dehiscentes. A este grupo lo forman *Triuris* (tres especies), *Hexuris* y *Peltophyllum* (dos especies). Todos los géneros dentro de Triurideae son Neotropicales. Un nuevo género monotípico, *Triuridopsis*, se describió en Perú y se ubicó en esta tribu (Maas-Van de Kamer y Maas, 1994).

Recientemente se propone la nueva tribu Kupeaeae en la familia Triuridaceae (Cheek, 2003). Kupeaeae consiste del género *Kupea* con dos especies, *Kupea martinetugei* Cheek and Williams y *K. jonii* Cheek.

- c) Tribu Kupeaeae: consiste de plantas dioicas. La principal característica de esta tribu es la presencia de ovarios biovulados. El perianto está dividido en cuatro tépalos libres y lobulados. El androceo está formado de cuatro

estambres con filamentos evidentes. Las flores femeninas carecen de estaminodios El estilo es apical. Los frutos son indehiscentes. Este grupo es formado solo el género *Kupea* (dos especies). Los miembros de Kupeaeae se distribuyen en África.

Las posiciones taxonómicas dentro de la familia Triuridaceae continúan en disputa, especialmente para los géneros *Andruris* y *Lacandonia*. Las 15 especies de *Andruris* descritas por Giesen (1938) han sido colocadas en sinonimia con diferentes especies de *Sciaphila*. Maas Van de Kamer y Maas (1994), Maas-Van de Kamer y Weustenfeld (1998) y Gandolfo *et al.*, (2002) siguen considerando a *Andruris* como un género diferente con cinco especies dentro de la tribu Sciaphileae.

Lacandonia schismatica se caracteriza por el arreglo invertido de los carpelos y los estambres y que fue propuesta como una nueva familia, Lacandoniaceae (Martínez y Ramos, 1989). Esta propuesta apoyada también por estudios sobre la biología reproductiva y se evidenciaron algunas características distintivas para la familia (Márquez-Guzmán *et al.*, 1989, 1993 y Vázquez-Santana *et al.*, 1997), las más conspicuas fueron la fecundación cleistogámica preantesis y el tipo de desarrollo del gametofito femenino considerado como tipo *Lacandonia*. Sin embargo, Maas van de Kamer y Maas (1994), Maas van de Kamer (1995) y Maas-van de Kamer y Weustenfeld (1998) consideran que *L. schismatica* debe ser incluida en la tribu Triurideae como una especie de *Sciaphila*, debido a que los tépalos muestran apéndices, el estilo es apical, los frutos son indehiscentes y las anteras son biesporangiadas, mientras que la inversión de los verticilos sexuales puede considerarse como una de las variaciones de la morfología floral típicos de Triuridaceae.

Las propuestas más recientes consideran que las características morfológicas de los granos de polen y el tapete de las monocotiledóneas micoheterotróficas de la familia Triuridaceae (incluida *L. schismatica*) son comparables con las de sus posibles parientes del orden Pandanales. Los caracteres morfológicos de mayor peso en las relaciones filogenéticas entre las familias Triuridaceae y Pandanaceae dentro del orden Pandanales son que en la familia Triuridaceae los granos de polen son pequeños e inaperturados (funcionalmente monoaperturados) con la exina gemada y equinada, la microsporogénesis de tipo sucesivo. En la familia Pandanaceae el tapete es plasmodial (aunque algunos géneros difieren de este tipo) y ausencia de los orbículos. (Furness *et al.*, 2002; APG, 2003; Vergara *et al.*, 2003; Furness y Rudall, 2006; Ambrose *et al.*, 2006).

Uno de los argumentos para incluir a Triuridaceae (así mismo a *L. schismatica*) en el orden Pandanales fue considerar que la flor en las especies de esta familia son una inflorescencia, implicando que tanto las flores masculinas como las femeninas están tan reducidas que se encuentran agrupadas en una inflorescencia, como ocurre en los miembros de Pandanales, especialmente en *Pandanus*, en donde la flor femenina consiste de un solo carpelo. Esta semejanza morfológica es notable en el contexto de la evidencia en la secuencia nuclear del gen rRNA 18S para *Sciaphila* que la ubica como grupo hermano de Pandanaceae (Rudall, 2003; Singh, 2004).

Recientemente, en Mt Kupe, provincia del Sureste de Camerún, Check *et al.* (2003) descubrieron dos poblaciones pequeñas de un nuevo género y especie de Triuridaceae, *Kupea martinetugei* que se caracteriza por poseer carpelos asimétricos con dos óvulos. Es una planta dioica, con cuatro tépalos, cuatro estambres y frutos indehiscentes. En ese mismo año Cheek (2003) describe una

especie en Tanzania, *Kupea jonii* Cheek, la cual es muy similar a *K. martinetugei*, difiriendo solamente en la forma de los tépalos.

Los análisis filogenéticos moleculares recientes plantean la circunscripción de Pandanales con cinco familias — Cyclanthaceae, Pandanaceae, Stemonaceae, Velloziaceae y Triuridaceae. Algunas especies de Triuridaceae presentan características florales anómalas, como la apocarpía secundaria aparente, la pérdida de ser trímeras, y un límite morfológico impreciso entre inflorescencia y flor. En la familia Triuridaceae las características anormales más significativas se hayan en las estructuras reproductivas, especialmente en *L. schismatica* con la inversión de las estructuras reproductoras. Un análisis cladístico filogenético que incluye 39 caracteres morfológicos de 23 géneros de las cinco familias de Pandanales, proporciona tres árboles mas parsimoniosos, bien resueltos y moderadamente bien soportados. El género recientemente descubierto por Cheek (2003) de Triuridaceae, *Kupea* resultó el nodo basal divergente de la familia Triuridaceae, confirmando hipótesis previas de que la condición biovulada en *Kupea* podría representar la condición ancestral en Triuridaceae (Singh, 2004; Simpson, 2006; Rudall y Bateman, 2006).

Descripción botánica de la familia Triuridaceae

La familia Triuridaceae consiste de seis géneros (Van de Meerendonk, 1984) o nueve géneros (Maas y Rübsamen, 1986) de hierbas micoheterotróficas aclorófilas que viven simbióticamente con hongos micorrizos, con cerca de 45 especies distribuidas en las zonas tropicales y subtropicales del Nuevo y Viejo Mundo. *Sciaphila* es el género más numeroso, con cerca de 35 especies, y está distribuida en ambas regiones. Mientras que *Soridium*, *Triuris*, *Hexuris* y *Peltophyllum* sólo están localizados en América Central, desde el sur de México

hasta Argentina. Los géneros *Andruris*, *Hyalisma* y *Seychellaria* se distribuyen en el Viejo mundo (Standley y Steyermark, 1958; Green y Solbrig, 1966; Maas y Rübssamen, 1986).

Las Triuridaceae son hierbas saprófitas, erectas, monoicas, polígamas, raramente dioicas, que crecen sobre la hojarasca o materia orgánica en descomposición o raramente sobre nidos de termitas. Las plantas son pequeñas de 10 a 15 cm de altura, algunas veces más grandes. Sus tallos son simples o ramificados, aclorófilos, hialinos, amarillo-cremoso, marrones o rojo-púrpura, generalmente áfilos o con hojas reducidas a pequeñas escamas. Las hojas son alternas, escumiformes o los tallos desprovistos de hojas. Los estomas están ausentes. Los rizomas están bien desarrollados y crecen por debajo de la hojarasca, son de color pardo y miden de 0.5 a 0.8 cm de largo, y tienen numerosas raíces micorrízicas, que miden de 5 a 8 cm de largo, son glabras, con pelos radicales o sin ellos. Las células del córtex están infestadas por hifas endomicorrizas. En las estructuras vegetativas (raíz, tallo aéreo y rizoma) el sistema vascular está reducido. El perianto está dividido en tres a seis ó 10 tépalos iguales o desiguales, generalmente inflexos en los botones florales, replegados y doblados hacia atrás en las flores maduras, el ápice de los tépalos puede ser caudado o barbado, con glándulas. La inflorescencia en un racimo terminal, bracteado; con pedicelos ascendentes recurvados en el fruto. Las flores muestran simetría radial. Puede presentar de tres a seis tépalos, a veces hasta ocho, más o menos soldados en la base, valvados, persistentes, deltados, papilosos, pelosos, a veces apicalmente barbados o caudados en el ápice. Las flores son pequeñas, actinomorfas, se han descrito como unisexuales (plantas monoicas o dioicas), o algunas veces hermafroditas. Las flores perfectas tienen numerosos ovarios libres y un número variable de estambres con filamentos cortos, las anteras son tri o tetraloculares. En

las especies monoicas, las flores pistiladas casi siempre se presentan en la base de la inflorescencia y son generalmente pocas, de dos a nueve y las flores estaminadas casi siempre ocupan la parte superior de la inflorescencia con un número considerablemente alto de dos a 50 flores. El perianto corolino; de tres a ocho segmentos, reflejos, uniseriados, connados y valvados. Cuando hay flores masculinas, éstas tienen dos, tres, cuatro, seis u ocho estambres, con filamentos cortos unidos en la base o ausentes. Las anteras son bi o tetraloculares, con línea de dehiscencia longitudinal o transversal extrorsa. En el caso de las flores femeninas, éstas presentan ovarios súperos, apocárpicos, con estilo lateral o raramente terminal (*Triuris*), con zona estigmática papilada, penicilada o glabra. La placentación es basal. Cada carpelo contiene un solo óvulo basal, anátropo y bitégmico. El fruto es ovoide o elipsoide, dehiscente o indehiscente, agregado, poliaquenio o polifolículo. Las semillas son pequeñas, con endospermo abundante y embrión poco diferenciado. En las especies dioicas las flores pistiladas tienen numerosos ovarios libres insertos en un receptáculo liso; las flores masculinas presentan de tres a seis estambres sésiles insertos en la base del andróforo y alternando con los tépalos, las anteras son tetraloculares, con línea de dehiscencia longitudinal, extrorsa. La inflorescencia puede ser un racimo de crecimiento simpodial o una cima (Jonker, 1943; Rao y Verma, 1976; Waechter, 1984; Maas y Rübtsamen, 1986; Maas y Maas, 1987; Maas, 1988; Maas y Maas-van de Kamer, 1989; Maas y Westra, 1998; Martínez y Gómez, 1994; Maas y Maas, 2005).

Estudios de la biología reproductiva de la Familia Triuridaceae.

Milanez y Meira (1943) realizaron el primer estudio anatómico vegetativo de *Triuris alata*, de Brasil, demostrando que el sistema conductor está fuertemente reducido debido a su hábito saprofítico. Davis (1966) y Tomlinson (1982) mencionaron que los estambres, carpelos y óvulos no presentan tejido vascular. La

antera es tetraesporangiada, formada por una epidermis, endotecio con engrosamientos fibrosos, una capa media efímera y tapete probablemente glandular.

Rübsamen-Weustenfeld (1991) estudió la morfología, anatomía, citología, embriología, palinología y las relaciones taxonómicas en las tribus de Triuridaceae: Sciaphileae (*Seychellaria*, *Andruris*, *Sciaphila* y *Soridium*) y Triurideae (*Peltophyllum* y *Triuris*). Describe el óvulo de Triuridaceae como generalmente anátropo, bitégmico y tenuinucelar. Ambos tegumentos son biestratificados. El micrópilo es endóstomo; la epidermis interna del tegumento interno se diferencia como endotelio o tapete tegumentario. La célula arquesporrial funciona directamente como la célula madre de la megaspora, la cual al dividirse meióticamente, forma una tétrada linear o en forma de T y el saco embrionario es de tipo *Polygonum*. Mientras que en *Lacandonia schismatica* el óvulo es basal, anátropo, tenuinucelado y bitégmico. El gametofito femenino se diferencia a partir de la megaspora funcional micropilar. El tipo de desarrollo de saco embrionario se denominó *Lacandonia*. El saco embrionario al madurar es heptacelular y octanuclear (Vázquez-Santana, 1992; Vázquez-Santana *et al.*, 1998).

Davis (1966) observó que en *Sciaphila* los estambres, carpelos y óvulos no presentan tejido vascular. La antera es tetraesporangiada, formada por una epidermis, endotecio con engrosamientos fibrosos, una capa media efímera y tapete. Pero no se sabe el tipo de tapete, aunque es del tipo plasmodial en muchas Sciaphileae y secretor en Triurideae y algunas Sciaphileae, incluso con formas intermedias en Sciaphileae (Johri *et al.*, 1992). Las células madres de las microsporas después de la meiosis forman tétradas tetraédricas o isobilaterales. Los granos de polen son tricelulares.

Tomlinson (1982) describe que las anteras no presentan tejidos vasculares, y que un grupo de células de denso citoplasma y paredes delgadas se localizan en la región donde las anteras se insertan al andróforo.

En *Triuris hyalina* y *T. hexophthalma*, el desarrollo de la pared de la antera es del tipo monocotiledóneo, formado por cuatro capas celulares: la epidermis uniestratificada y persistente, el endotecio con engrosamientos de la pared celular en forma de U, una capa media efímera y el tapete parcialmente binucleado, del tipo secretor. La microsporogénesis es sucesiva, formando tétradas de tipo isobilateral o decusada. El grano de polen es de globoso a ovoide, con exina finamente reticulada, inaperturado o monosulcado, con tres células cuando se dispersa (Dahlgren *et al.*, 1985; Maas y Rübsamen, 1986; Rübsamen-Weustefeld, 1991).

Espinosa (1994) observó en *Triuris brevistylis* que las anteras son sésiles, biloculares y tetraesporangiadas. En la base presentan células indiferenciadas. Cada lóbulo presenta una línea de dehiscencia longitudinal extrorsa. La maduración de las anteras es asincrónica. El desarrollo de la pared de la antera es de tipo monocotiledóneo. La epidermis es persistente. El endotecio tiene engrosamiento en forma de U. El tapete es de tipo secretor. La microesporogénesis es sucesiva y forma tétradas isobilaterales. El grano de polen es apolar, intectado, con tres células cuando se dispersa, inaperturado o monocolpado. La exina es delgada, de finamente a gruesamente granulosa, verrugosa, rara vez finamente reticulada, mientras que la intina es gruesa. Algunos de los granos de polen probablemente germinan dentro del lóculo de la antera.

En *Lacandonia schismatica* la pared de la antera comprende cuatro capas uniestratificadas: epidermis, endotecio, una capa media, la cual desaparece temprano, y un tapete de tipo secretor. Las células tapetales forman un puente citoplasmático entre ellas mismas. Las tétradas de la microspora están en un arreglo isobilateral, rodeadas por una pared densa de calosa. La pared de la antera madura tiene solamente dos capas; epidermis y endotecio. El grano de polen maduro es tricelular. La dehiscencia de la antera no ha sido observada y probablemente no ocurre. La polinización en *L. schismatica* ocurre en la flor sin abrir. Los granos de polen germinan dentro de las anteras cerradas y los tubos polínicos crecen dentro del receptáculo hasta llegar a los óvulos. El tubo polínico entra al óvulo por el micrópilo y luego penetra el saco embrionario a través de una sinérgida. Cuando las flores abren, la fecundación ha ocurrido (Márquez-Guzmán *et al.*, 1993).

Los granos de polen de *Sciaphila* son monosulcados, isopolares con exina microverrugada. En *S. secundiflora*, la exina tiene una gran corona de microverrugas. En *S. arfakiana*, *S. ramosa* y *S. maculata*, la exina presenta microverrugas, en *S. arfakiana* y *S. ramosa*, las microverrugas miden de 0.36-0.53 μm de diámetro, mientras que en *S. maculata* miden de 0.21-0.3 μm de diámetro (Hsieh *et al.*, 2003).

En la familia Triuridaceae los carpelos y óvulos no presentan tejido vascular. Durante la ontogenia el óvulo está encerrado por la pared del carpelo en desarrollo. El cierre tiene lugar sobre el lado ventral, dejando una abertura angosta (acrópilo), del mismo lado donde se eleva el estilo (Tomlinson, 1982) al igual que en *L. schismatica*, además la curvatura del óvulo es contraria al crecimiento del ovario (Vázquez-Santana, 1992).

En monocotiledóneas generalmente, dos tipos básicos de microsporogénesis son reconocidos: sucesiva y simultánea. En la microesporogénesis sucesiva una pared de calosa separa las dos células hijas o díada después de la primera división meiótica. Las células resultantes de la división sucesiva son tetragonales (o isobilaterales), en forma de T, lineal, romboidal o decusada. En la microsporogénesis simultánea, la segunda división meiótica sigue inmediatamente de la primera, con la síntesis de la pared hasta que los cuatro núcleos están presentes. Las tétradas resultan ser tetraédricas. Las tétradas decusadas también están asociadas con microsporogénesis simultánea, están organizadas en una orientación tetraédrica. Actualmente, existen tipos intermediarios entre los dos antes citados de microsporogénesis. Estos se caracterizan por diferencias en la morfología de la tétrada, generalmente tetragonal o tetraédrica, aunque otras formas ocurren, asociadas particularmente con división sucesiva (Furness y Rudall, 1999).

En *Sciaphila japonica* la célula arquesporial funciona directamente como célula madre de la megaspóra. La megaspóra calazal de una tétrada lineal o en forma de T desarrolla un saco embrionario tipo *Polygonum* (Ohga y Sinoto, 1932).

En *L. schismatica* la nucela permanece uniestratificada a lo largo del desarrollo; se reabsorbe casi completamente cuando el saco embrionario es maduro y sólo quedan algunos restos en la zona calazal (Vázquez-Santana, 1992).

Antes de que ocurra la fecundación, los núcleos polares se fusionan (Ohga y Sinoto, 1924). Dahlgren *et al.* (1985) concluyen que la célula huevo en algunas especies de *Sciaphila* se desarrolla partenogénica o apogámicamente. Sin embargo, parece ser que la doble fecundación sí toma lugar en *Sciaphila albescens*,

Soridium spruceanum, *Triuris hexophthalma* y *T. hyalina* (Mass y Rübsamen, 1986). La doble fecundación ha sido observada en *Soridium spruceanum*. En esta especie el desarrollo del endospermo es de tipo nuclear. La región calazal muestra citoplasma denso y agregación de núcleos poliploides. Las sustancias de reserva consisten en proteína y almidón en Sciaphileae, pero exclusivamente almidón en Triurideae (Johri *et al.*, 1992; Rübsamen-Weustenfled, 1991).

El cigoto se divide transversalmente en dos células: apical y basal. La célula basal se divide nuevamente transversalmente y las divisiones derivadas de la célula basal pueden ser transversales, longitudinales u oblicuas. El suspensor consiste de pocas células, pero en *Sciaphila* puede comprender de 40 a 50 células. El cigoto forma un cuadrante y un octante. El embrión maduro es indiferenciado y globoso (Johri *et al.*, 1992; Rübsamen-Weustenfled, 1991).

En *Sciaphila albescens* se observó que antes de que el cuerpo del embrión comience a diferenciarse, se desarrolla una hilera de al menos tres y hasta siete células (Maas y Rübsamen, 1986).

En *Sciaphila ledarmannii* la diferenciación del endospermo es nuclear y después este tejido se vuelve celular. Además de almacenar reservas de celulosa en las paredes que se engrosan considerablemente al final del desarrollo. Se han observado sustancias protéicas y lipídicas en el interior de las células del endospermo cuando la semilla madura. Los depósitos de almidón también han sido observados en semillas inmaduras de varias especies de *Triuris* (Maas y Rübsamen, 1986).

En las Triuridaceae el embrión de la semilla madura es pequeño e indiferenciado. Consiste del cuerpo del embrión y un suspensor. En *Triuris mayor* se describe un embrión linear con seis pares de células de cada lado sobre un suspensor unicelular. Engler (1909) en Maas y Rübsamen (1986), menciona que en *Sciaphila*, *Soridium* y *Triuris*, el embrión llega a etapa globular.

Al momento de la dispersión de la semilla en *Lacandonia schismatica*, el embrión tiene ~10-20 células. El desarrollo del endospermo es del tipo nuclear. En la madurez, las células del endospermo muestran almidón, e inclusiones de proteínas así como polisacáridos en sus paredes densas. La cubierta de la semilla está formada por el tegumento externo; el interno desaparece. La exotesta contiene taninos. La pared del fruto (aquenio) es de dos capas. La maduración de los frutos en el receptáculo es sincrónica, y se separan del receptáculo para la dispersión (Vázquez-Santana *et al.*, 1998).

Las semillas de la familia Triuridaceae son compactas, elípticas y elongadas. El tegumento externo se diferencia en la testa, y las células de la capa subepidérmica se elongan desigualmente, y producen crestas y valles. La cutícula adyacente al endospermo está fuertemente engrosada (Johri *et al.*, 1992).

En la mayoría de los casos, la testa se desarrolla de la capa interna del tegumento externo (endotesta), en otros de ambas capas (exotesta y endotesta) como es el caso de *Sciaphila schwackeana*. La testa consiste (excepto para la región de la rafe) de células alargadas radialmente, con paredes engrosadas características y algunas veces con depósitos de taninos (*Sciaphila* y *Soridium*), también se observaron en la mayoría de las células aplanadas de la capa externa del tegumento externo. En *Peltophyllum* y *Triuris*, la cubierta de la semilla consiste de

una sola capa de células más o menos planas. En la semilla madura el tegumento interno desaparece completamente, excepto las células ricas en taninos que se localizan desde el final de la calaza hasta la cutícula media, adyacente al tejido del endospermo. La pared del fruto está reforzada por engrosamientos en forma de barra en las paredes radiales de la capa subepidérmica (Maas y Rübsamen, 1986; Watson y Dallwitz, 1992).

Descripción de *Soridium* Miers

Es una planta monoica con raíces filiformes y pilosas, con rizoma horizontal y vertical, escamoso. El tallo es pardo claro, ramificados o simples. Las hojas son angostamente triangulares, más abundantes en la parte baja del tallo. Presenta cuatro tépalos, papilosos en el haz. Son plantas erguidas, delgadas, pequeñas, monoicas; tiene de siete a 20 flores en racimos, alternos; las flores son unisexuales, raramente bisexuales, con cuatro segmentos del perianto; los estambres son de dos a tres (-cuatro) en las flores estaminadas en la parte superior de la inflorescencia, los segmentos del perianto están opuestos, sésiles o casi; contiene dos anteras, dehiscentes por una línea transversal y apical. Los pistilos con ovarios papilosos; el estilo es lateral, raramente terminal, liso y obtuso o a veces penicelado-papiloso en el ápice; el estigma es penicelado-papiloso. El fruto es indehiscente, agregado, poliaquenio; los aquenios son de paredes gruesas; contienen semillas globosas, la testa finamente reticulada. El grano de polen es elipsoide, monocarpado. Una especie. Distribución en América tropical (Standley y Steyermark, 1958; Martínez y Gómez, 1994).

Descripción botánica de *Soridium spruceanum* Miers

Son plantas pequeñas, saprófitas. El tallo mide de 5-30 cm de altura. Las raíces con pelos radicales. Las hojas como brácteas, miden 3 mm de largo. La

Inflorescencia se presenta en un racimo. Tiene de 10 a 30 flores. Las flores son unisexuales y monoicas (Fig. 1). En la parte superior de la inflorescencia hay de siete a 43 flores estaminadas, en la parte inferior de tres a siete flores pistiladas.

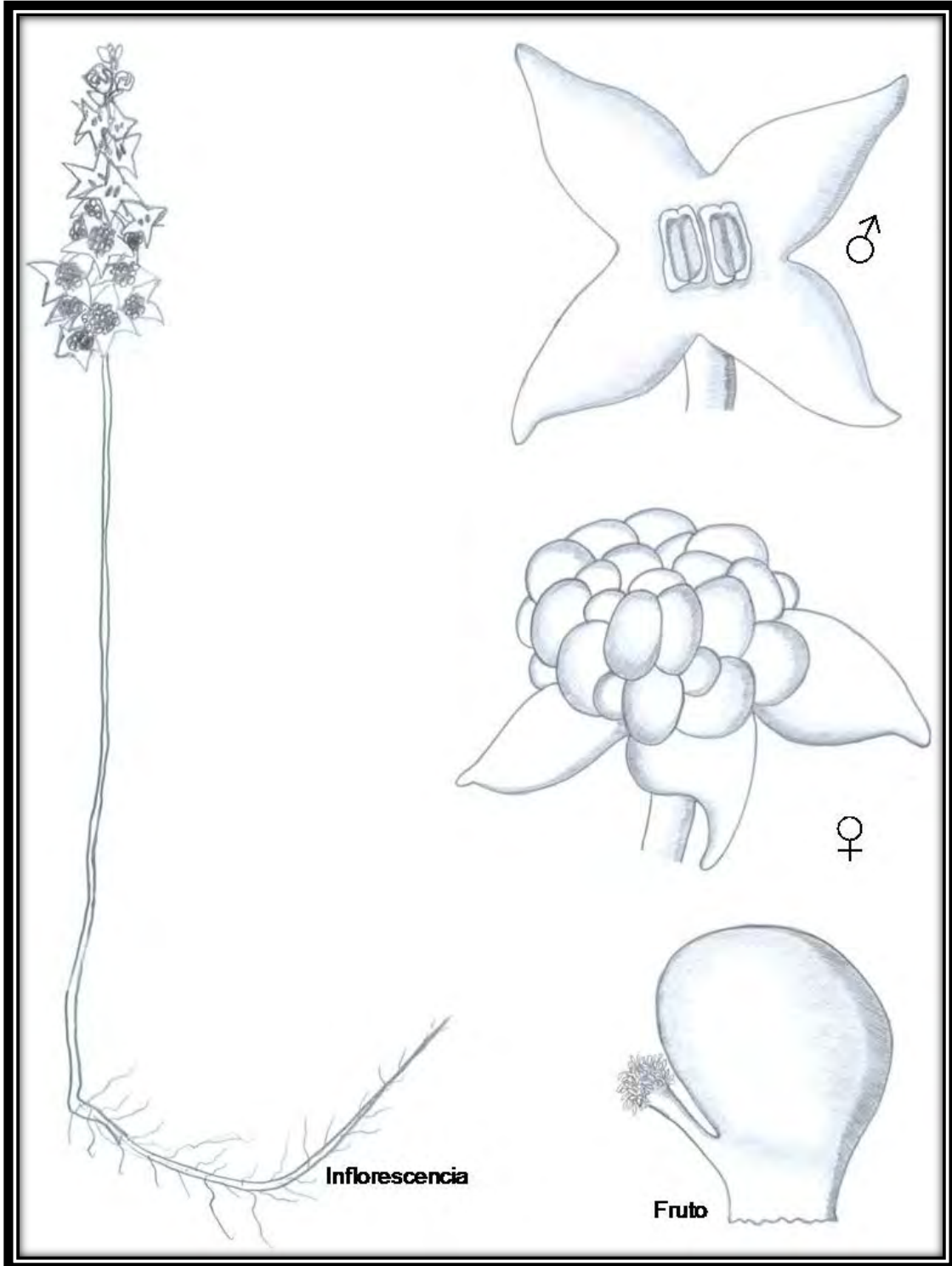


Fig. 1. Esquema de *Soridium spruceanum* (dibujo Magali Espinosa).

Las flores estaminadas miden de 3 - 5.5 mm de diámetro y presentan dos estambres. Los tépalos son barbados en el ápice. Las flores pistiladas miden 2 mm de ancho; presentan de 60 a 120 pistilos y de tres a 40 aquenios. Tienen cuatro (-seis) tépalos, horizontalmente extendidos; ovarios de 60 a 120, estilo lateral levemente más largo que los carpelos, papiloso; estigma glabro sin glándulas u ornamentaciones. Flores bisexuales, con dos estambres y pocos pistilos. El fruto es un aquenio. Los aquenios de tres a 40, miden de 1.3 a 1.5 mm, son ovoides (Standley y Steyermark, 1958; Maas y Rübsamen, 1986; Martínez y Gómez, 1994).

Se distribuye ampliamente en Belice, Guatemala, Brasil y el Este de Sudamérica en selvas altas perennifolias y selvas medianas inundables, generalmente entre las hojas en descomposición. También puede encontrarse a nivel del mar; Honduras, Venezuela, Guianas, y el norte de Brasil (Standley y Steyermark, 1958; Maas y Rübsamen, 1986; Martínez y Gómez, 1994).

Como sucede en muchas especies de la familia Triuridaceae, en *S. spruceanum* la información embriológica es incompleta. Los datos embriológicos determinados en la presente investigación proporcionarán información sobre este aspecto de la biología reproductiva y permitirán determinar la sexualidad de dicha especie. Los caracteres embriológicos obtenidos se comparan con miembros de las familias Triuridaceae y Lacandoniaceae (sensu Martínez y Ramos, 1989)

OBJETIVOS

Objetivo general:

Estudiar la ontogenia de *Soridium spruceanum* Miers con el propósito de establecer los caracteres embriológicos de esta especie.

Objetivos particulares:

1. Estudiar la embriología de las flores masculinas y determinar el tipo de desarrollo de la pared de la antera y los granos de polen.
2. Estudiar la embriología de las flores femeninas y describir el desarrollo del óvulo y del saco embrionario.
3. Estudiar los procesos de la fecundación, para lo cual se determinará el sitio de germinación de los granos de polen y el recorrido de los tubos polínicos hasta la ovocélula.
4. Estudiar el desarrollo del fruto y la semilla.

MATERIALES Y MÉTODOS

El estudio embriológico se realizó con botones florales, flores en antesis y frutos en diferentes etapas de desarrollo de *Soridium spruceanum* Miers. Colectados en noviembre de 2004 en Guatemala, por el Biol. Esteban Martínez Salas (Instituto de Biología, UNAM) en el municipio Livingston, departamento de Izabal, 3.8 km al OSO de la estación del Biotopo Chocón Machacas, 15° 46' 39" N, 88° 52' 37" W. La temperatura media es de 27°C con una precipitación anual de 5,715 mm. La elevación varía de los 10 a los 280 msnm. Los suelos son calizos, mal drenados e inundados casi durante todo el año.

El material colectado fue fijado en etanol al 100% y almacenado en el Laboratorio de Desarrollo en Plantas de la Facultad de Ciencias de la Universidad Nacional Autónoma de México. Los ejemplares de respaldo se encuentran en el MEXU: *E. Martínez S. 37195*.

Una parte del material se incluyó en LR-White, otra parte fue procesada para ser observada en el microscopio electrónico de barrido. También se utilizaron flores femeninas para detectar tubos polínicos por medio de azul de anilina y microscopía de fluorescencia.

Inclusión en LR-White

La inclusión de LR-White tiene como paso previo la infiltración, para lo cual se preparó una mezcla líquida de LR-White:Etanol 100%, 1:1, durante tres horas. Posteriormente se incluyó en LR-White líquido al 100% durante 24 horas a 4°C. Una vez terminado el plazo, se incluyen en cápsulas de gelatina para llevar a cabo la polimerización en una estufa a 56°C en ausencia de oxígeno por 12 horas. Una vez polimerizada la resina, se realizaron cortes de 1-2 μm de grosor en un

ultramicrotómo RMC-MT 990 con cuchillas de vidrio y se tiñeron con azul de toluidina. Las laminillas obtenidas se observaron por microscopía fotónica y se tomaron fotomicrografías (López *et al.*, 2005) (Fig. 2).

Microscopio Electrónico de Barrido.

El material biológico fijado y almacenado en EtOH 100% se procesó de la siguiente manera: primero el material se enjuaga con EtOH 100%. Luego se desecó por punto crítico en una desecadora CPD-030 Baltec. El material desecado se montó en portamuestras de aluminio sobre cintra conductiva de carbón de doblecara y se cubrió con una capa de oro por medio de una Ionizadora Denton Vacuum Desk II. Posteriormente se realizaron las observaciones en el microscopio electrónico de barrido Jeol JSM-5310LV y se tomaron placas fotográficas (Fig. 2).

Microscopía de Fluorescencia

Para conocer si los granos de polen germinan en el interior de las anteras y detectar si en la misma inflorescencia los tubos polínicos viajan de las flores masculinas a las femeninas, el material biológico fijado en EtOH 100% se procesó de la siguiente manera: se ablandaron las muestras con KOH durante dos horas. Enseguida se tiñeron con azul de anilina durante una hora. Una vez teñido, el material se montó y se realizó un squash. Posteriormente se realizaron las observaciones en el microscopio de fluorescencia y se tomaron fotomicrografías (Fig. 2).

Pruebas histoquímicas

A cortes de semilla madura incluidas en LR-White se les aplicaron reactivos para la detección y localización de ciertos compuestos. Las pruebas histoquímicas que se realizaron fueron las siguientes:

- Reactivo de lugol

Es usado para la identificación de cuerpos de almidón. A los cortes de semilla en LR-White se tiñeron con azul de toluidina y se les aplicaron unas gotas de lugol durante 20 minutos, posteriormente se enjuagaron con agua de la llave y se observaron al microscopio.

- Azul negro de Naftol

Permite identificar proteínas. Los cortes se hidrataron con agua destilada y se aplicaron unas gotas de azul negro de Naftol por 30 minutos, se enjuagaron con agua de la llave y se observaron en el microscopio.

- Ácido periódico-Reactivo de Schiff

Permite la Identificación de polisacáridos insolubles. Los cortes se hidrataron con agua destilada, se aplicaron unas gotas de ácido peryódico durante 15 minutos y se enjuagaron con agua de llave. Después se aplicaron unas gotas de reactivo de Schiff y las laminillas se colocaron en la parrilla caliente hasta que los cortes se tornaron de color fusha, el exceso de colorante se retiro con agua.

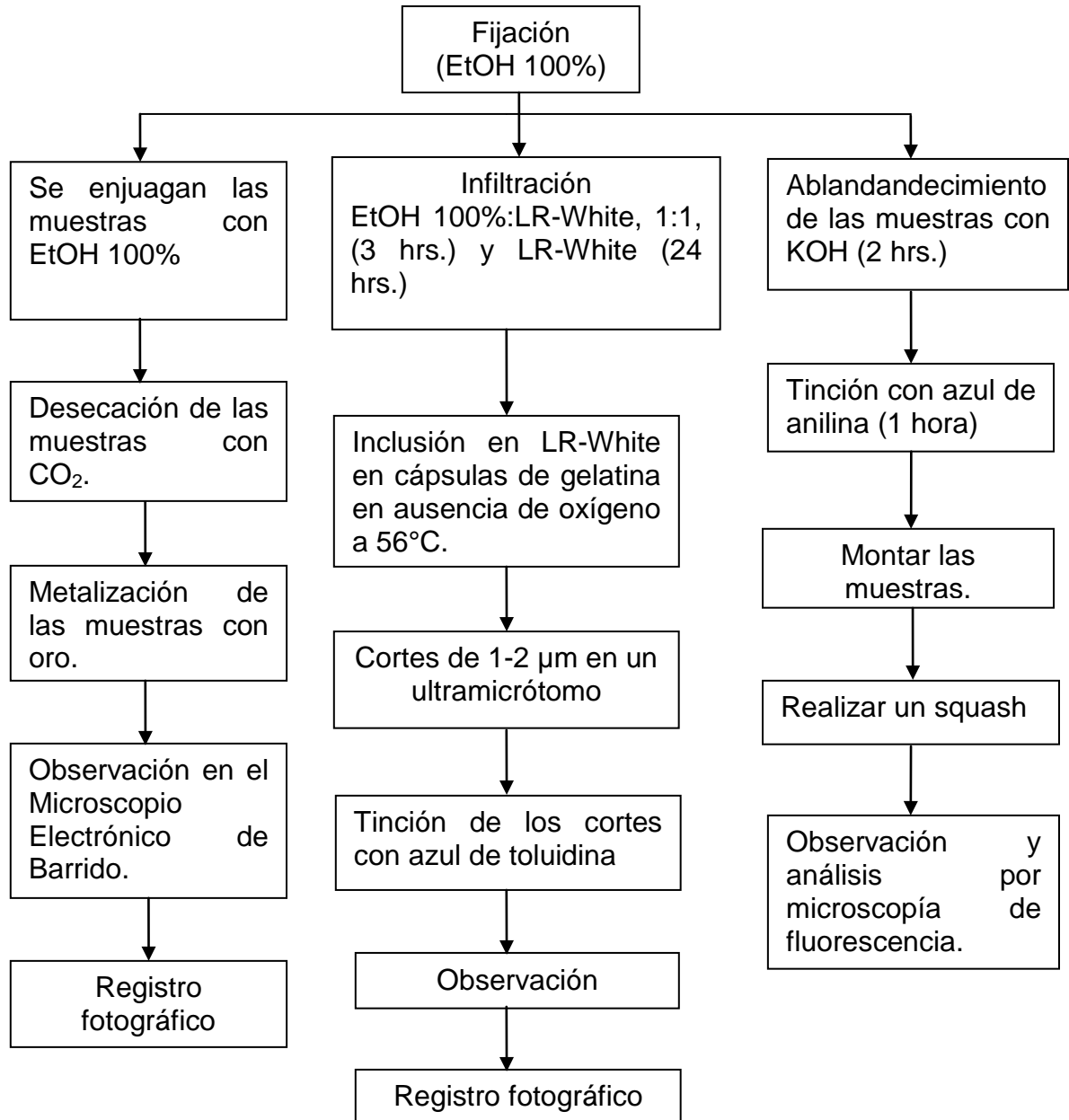


Fig. 2. Diagrama de flujo mostrando las metodologías utilizadas.

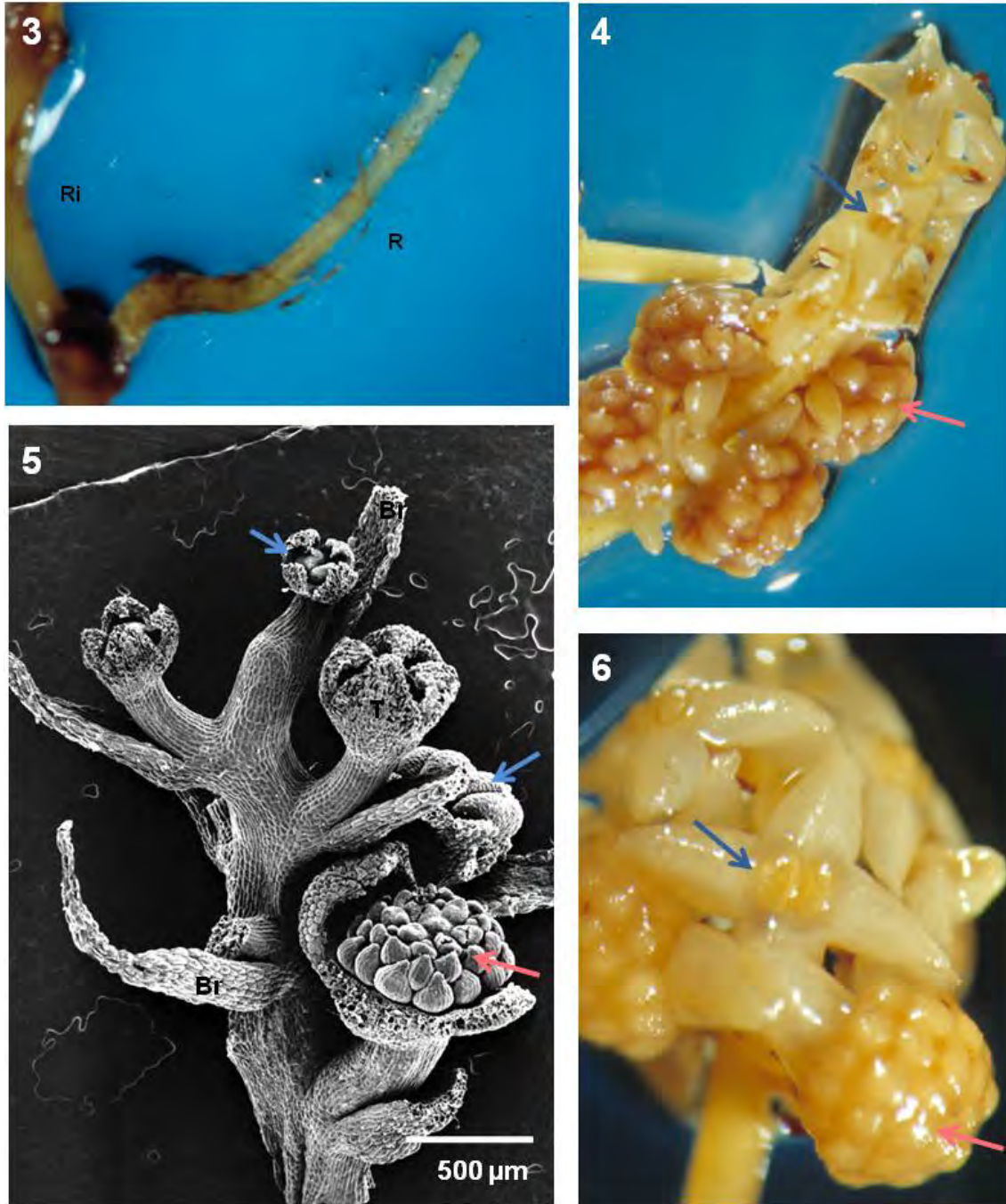
RESULTADOS

Morfología floral de *Soridium spruceanum*

A nivel macroscópico, la mayoría de los individuos analizados de *Soridium spruceanum* son monoicos. Presentan un rizoma del cual emergen raíces filiformes con pelos radicales (Fig. 3). Los tallos presentan algunas brácteas hialinas. La inflorescencia se presenta en un racimo y las flores son casmógamas y generalmente unisexuales. También se observaron algunas flores bisexuales sugiriendo que algunos individuos pueden ser polígamos. Las flores bisexuales se describen más adelante.

En el meristemo apical de la inflorescencia comienzan a diferenciarse de tres a seis flores femeninas, las cuales debido a la elongación del eje floral, quedan ubicadas en la parte basal de la inflorescencia y en la parte apical se observa al meristemo de inflorescencia. Las flores masculinas (de cuatro a siete) se encuentran en el ápice y son las últimas en diferenciarse. Ambos tipos florales presentan cuatro tépalos de forma triangular, basalmente fusionados. El ápice de cada tépalo es papiloso y se aprecian doblados hacia el centro de la flor, en la antesis se extienden completamente, formando una estrella de cuatro picos (Figs. 4-6).

Cada botón floral se encuentra cubierto por una bráctea, la cual brinda protección hasta la antesis. La bráctea del botón floral más joven cubre también al meristemo de inflorescencia (Fig. 5).



Figuras 3 – 6. Morfología vegetativa y floral de *S. spruceanum*. 3. Rizoma mostrando la raíz filiforme. 4. Inflorescencia racimosa mostrando flores femeninas en la base (flecha rosa) y flores masculinas en el ápice (flecha azul). 5. Inflorescencia mostrando botones de flores femeninas en la base (flecha rosa) y flores masculinas en el ápice mostrando cuatro tépalos (flecha azul). MEB. 6. Acercamiento a las flores masculinas con dos anteras (flecha azul) y a las flores femeninas con gineceo apocárpico (flecha rosa).

Br = bráctea, R = raíces, Ri = rizoma, T = tépalos.

Desarrollo de las flores masculinas

En las primeras etapas de desarrollo, el botón floral está protegido por una bráctea con epidermis de células globosas (Fig. 7). El androceo generalmente está formado por dos anteras casi sésiles, cuyo filamento es muy corto y se inserta en el centro de la parte dorsal de éstas. Cada antera tiene dos microsporangios alargados con una línea de dehiscencia longitudinal extrorsa (Fig. 8). En algunas flores, el androceo puede estar formado por tres (Figs. 9, 10) o cuatro anteras viables (Fig. 11), aunque desconocemos si éstas surgen de manera simultánea. Los dos estambres más externos son de igual tamaño, los más internos son de menor tamaño e incluso desigual y se posicionan perpendiculares a los externos. Algunas veces los estambres más centrales pueden voltearse por el escaso espacio en el receptáculo (Figs. 10, 11). Sin importar el tamaño, todos los estambres son viables y forman granos de polen estructuralmente bien conformados (Fig. 12).

Desarrollo de la antera y el grano de polen

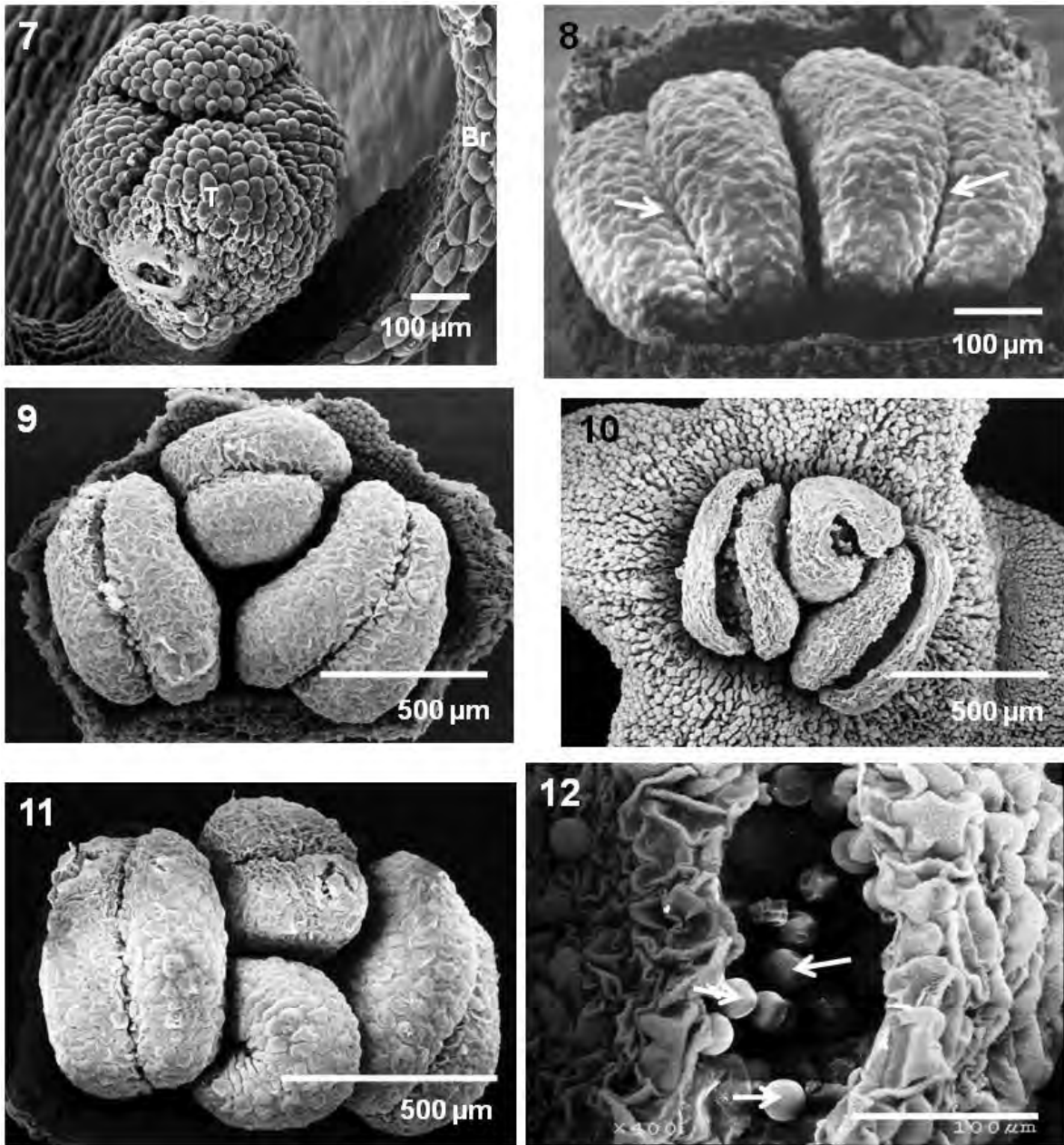
En esta etapa los tépalos presentan diferencias entre la epidermis adaxial (haz) y abaxial (envés). Las células epidérmicas abaxiales son más globosas con respecto a la epidermis adaxial, la cual muestra células pequeñas y compactas (Fig. 13). Un mesófilo de dos a cuatro estratos separa a las dos epidermis. Cuando la antesis se encuentra próxima a ocurrir, ambas epidermis tienen células globosas, pero siempre son más grandes las de la epidermis abaxial.

Al mismo tiempo que se ha concluido la diferenciación de los tépalos, el meristemo floral comienza a tener un crecimiento diferencial lo que provoca la formación de los primordios de anteras (Fig. 14). En etapa de pre antesis se distinguen dos anteras mostrando la línea de dehiscencia longitudinal extrorsa (Fig. 15). El ápice de cada tépalo presenta células muy alargadas, unicelulares, formando

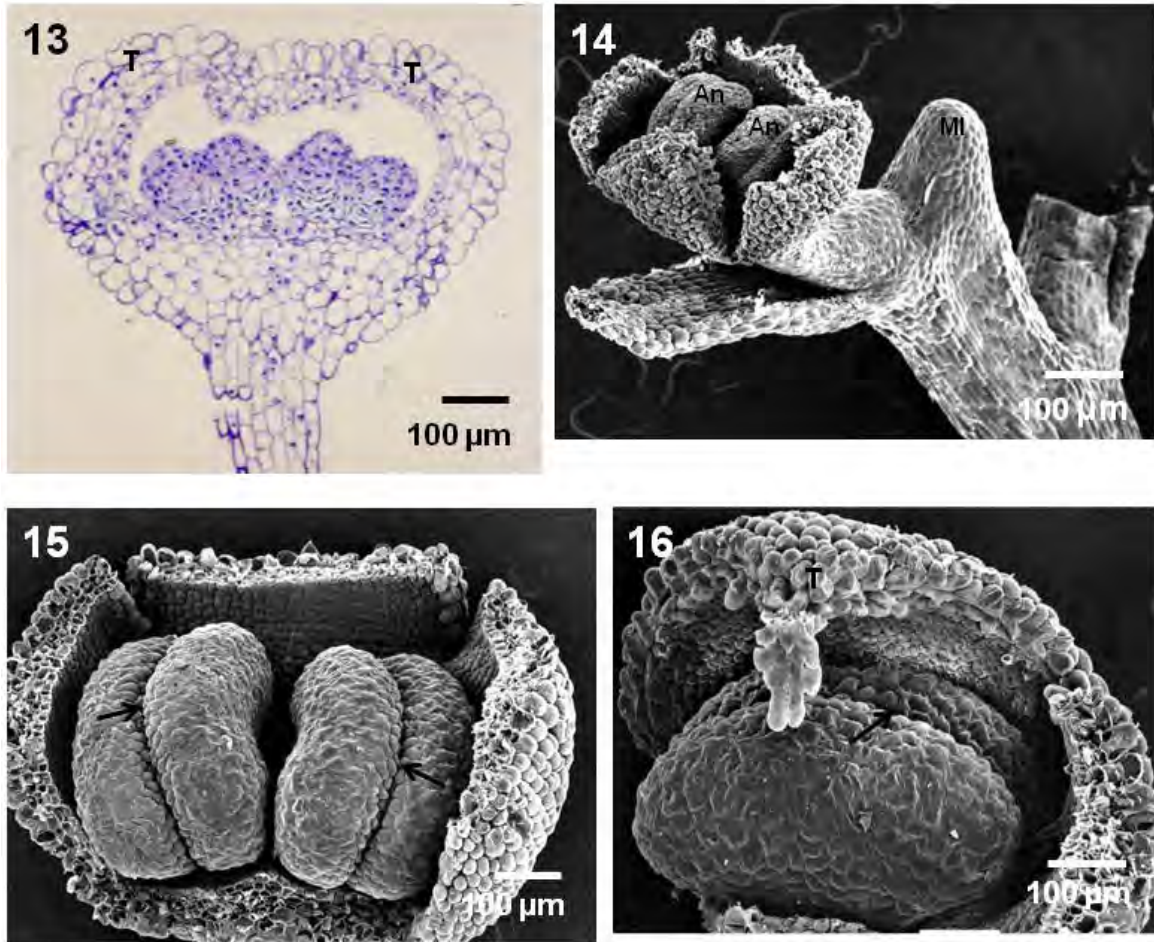
un pequeño penacho, el cual se curva hacia el centro de la flor (Fig. 16). El desarrollo de la pared de la antera es de tipo monocotiledóneo y surge a partir de una división periclinal de la capa parietal primaria, que da origen a las dos capas parietales secundarias. La capa parietal secundaria externa adyacente a la epidermis, se diferencia en el endotecio, mientras que la capa parietal secundaria interna, adyacente al tejido esporógeno, se divide periclinamente dando origen a la capa media (adyacente al endotecio) y al tapete (en contacto con el tejido esporógeno). La pared de antera joven está formada por cuatro capas uniestratificadas: la epidermis, el endotecio, la capa media y tapete binucleado de tipo secretor que rodea a las células madres de las microsporas (Fig. 17), las cuales se rodean de calosa y entran a meiosis I y dan origen a diadas y posteriormente a tétradas de microsporas del tipo isobilateral rodeadas de una gruesa pared de calosa. En la etapa de tétradas de microsporas, se observan a las dos anteras, cada una con un filamento muy corto y los dos microsporangios separados por tejido conectivo (Figs. 18 - 20).

Las microsporas o granos de polen jóvenes son liberadas al desintegrarse la pared de calosa (Fig. 21). En esta etapa, la pared de la antera tiene tres capas: epidermis, endotecio y tapete, debido a que la capa media se ha colapsado, mientras que el tapete comienza a desintegrarse. Los granos de polen tienen una exina verrugosa delgada con respecto a la intina que rodea a la célula vegetativa del grano de polen. La microspora uninucleada experimenta mitosis, dando origen a una célula vegetativa y una célula generatriz rodeada por su propia pared, pero embebida en la célula vegetativa, que se caracteriza por ser de mayor tamaño y contenido citoplasmático (Fig. 22). Antes de la dehiscencia de la antera, la célula generatriz, se divide mitóticamente para formar dos células espermáticas (Fig. 23), de tal manera que el grano de polen maduro es tricelular, con una gran célula

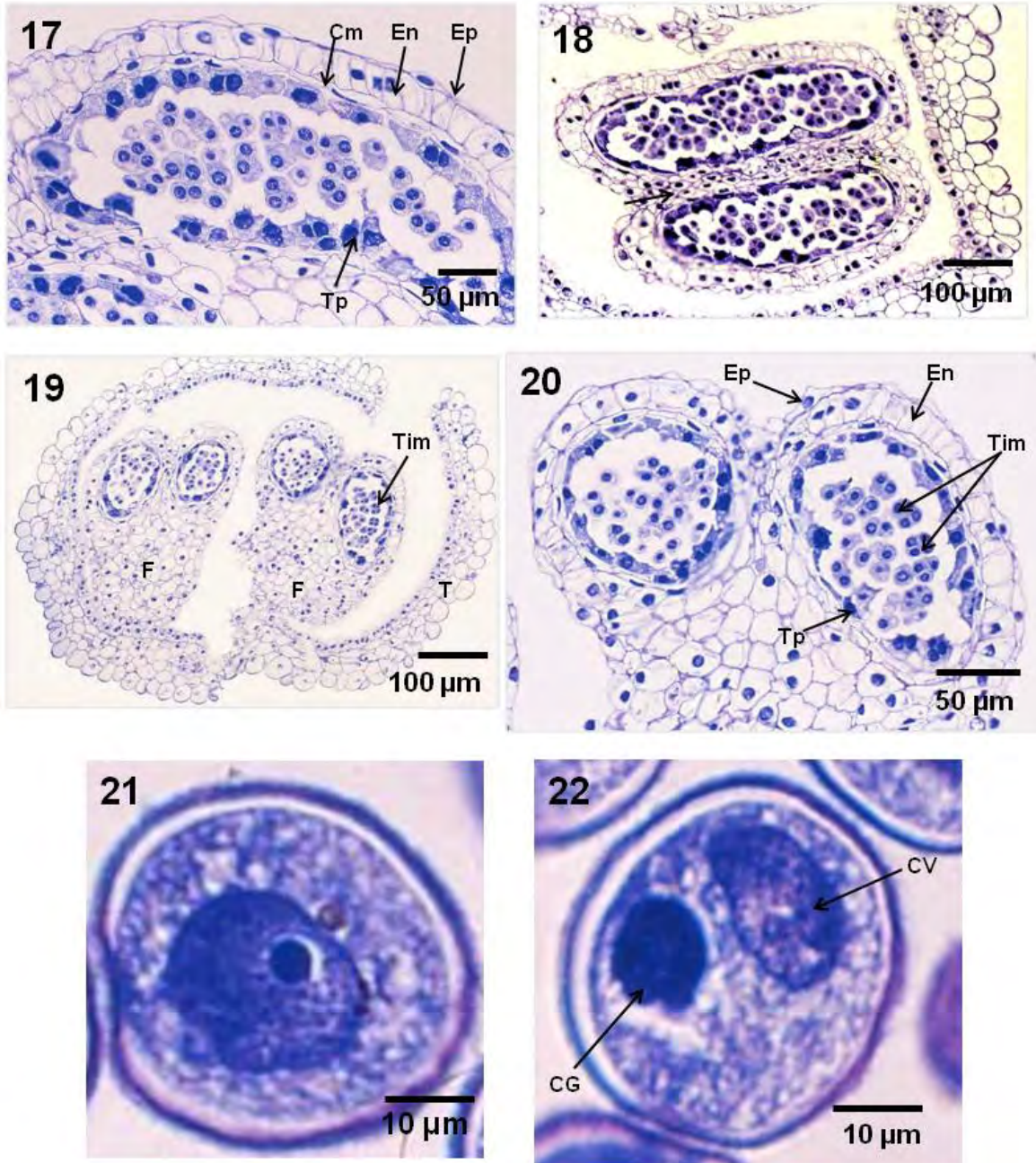
vegetativa y dos células espermáticas con núcleos densos, y poco citoplasma y rodeadas cada una por su propia pared celular (Figs. 24, 25). La intina se observa de mayor grosor con respecto a la exina (Fig. 25). El grano de polen maduro es esférico e inaperturado (Fig. 26) con exina verrugosa (Fig. 27).



Figuras 7 - 12. Morfología floral de las flores masculinas. MEB. 7. Botón floral masculino en preantesis. Bráctea con epidermis de células globosas. 8. Flor masculina con dos anteras con línea de dehiscencia longitudinal extrorsa (flechas). 9 y 10. Flor masculina mostrando tres anteras. 11. Flor masculina con cuatro anteras. 12. Acercamiento a una antera donde se observan granos de polen (flechas).
Br = bráctea, T = tépalo

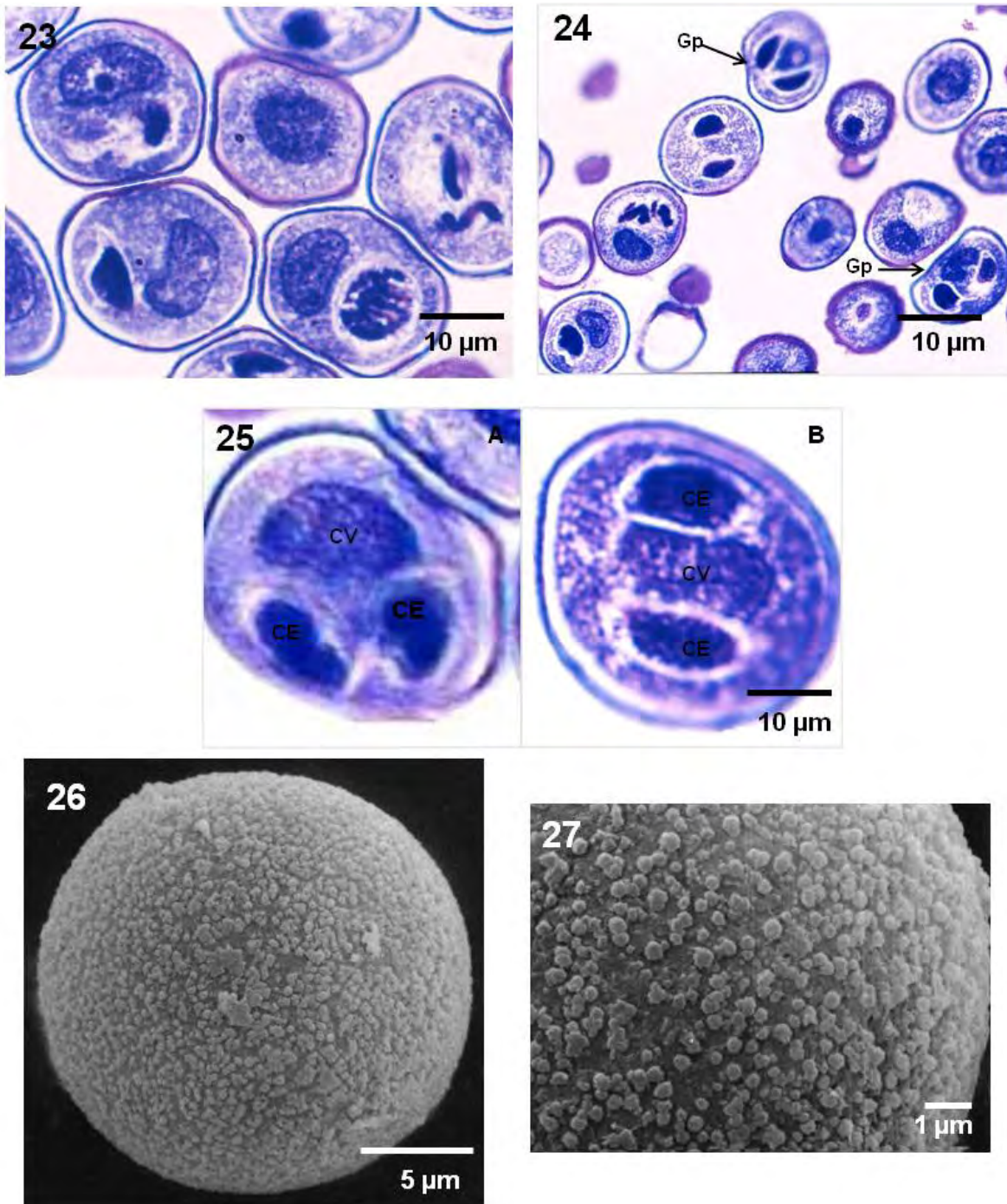


Figuras 13 - 16. Morfología de las flores masculinas. MEB. 13. Botón floral de flor masculina que muestra a las dos anteras en desarrollo y ambos tépalos diferenciados entre la epidermis abaxial y adaxial. 14. Botón floral de flor masculina que muestra la diferenciación de dos anteras en las cuales se ve la línea de dehiscencia (flecha). Los tépalos fueron removidos. 15. Acercamiento a las anteras en desarrollo, mostrando las líneas de dehiscencia longitudinal extrorsa (flecha). 16. Antera con su línea de dehiscencia longitudinal extrorsa (flecha). El tépalo no removido presenta el ápice con células muy alargadas y unicelulares, formando un pequeño penacho. An = antera, MI = meristemo de inflorescencia, T = tépalo.



Figuras 17 - 22. Microsporogénesis y microgametogénesis. 17. Corte longitudinal de antera mostrando la pared que consiste de epidermis, endotecio, capa media y tapete. 18. Corte transversal de antera, donde se observan tétradas de microsporas de tipo isobilateral. Tejido conectivo (flecha). 19. Corte transversal de antera mostrando tétradas isobilaterales de microsporas y la presencia de un filamento corto. 20. Corte transversal de antera, se observan las tétradas isobilaterales de microsporas. 21. Microspora uninucleada recién liberada de la tétrada. 22. Grano de polen bicelular, se muestra el núcleo de la célula vegetativa y núcleo de la célula generatriz.

CV = célula vegetativa, CG = célula generatriz, Cm = capa media, En = endotecio, Ep = epidermis, F = filamento, T = tépalo, Tim = tétradas isobilaterales de microsporas, Tp = tapete.



Figuras 23 - 25. Microsporogénesis y microgametogénesis. 23. Célula generatriz en división mitótica. 24 y 25 A y B. Granos de polen tricelulares: se observa el núcleo de la célula vegetativa y los núcleos de las dos células espermáticas. La intina es de mayor grosor que la exina.
Figuras 26 y 27. Morfología de los granos de polen maduros MEB. 26. Grano de polen esférico e inaperturado. 27. Acercamiento a la exina del grano de polen con ornamentación verrugosa.
CE = célula espermática, CV = célula vegetativa, Gp = grano de polen.

Desarrollo de flores femeninas

Se ha observado que en la inflorescencia las flores femeninas maduran primero que las masculinas (Fig. 5). En el centro del receptáculo el meristemo forma un anillo de tejido, del cual se diferencian los primordios de los tépalos. Posteriormente, del meristemo floral se diferencian varias protuberancias que, originarán a los carpelos de manera centripeta, en el centro del receptáculo se encuentran los más jóvenes y externamente los más avanzados en el desarrollo (Figs. 28, 29, 30). De cada carpelo surge un primordio nucelar, los futuros óvulos. Conforme va avanzando el desarrollo del carpelo, éste se va curvando y cubriendo al óvulo en desarrollo (Fig. 31).

En el meristemo floral se siguen diferenciando nuevos primordios de carpelo, pudiendo llegar hasta ~70 (Fig. 32). De la base de cada carpelo surge un primordio ovular. Conforme el carpelo se va curvando y cubriendo al óvulo en desarrollo, surge el primordio de estilo a partir del ápice del carpelo (Figs. 29-33). El carpelo se fusiona en la parte opuesta del cual surgió para formar el ovario, de esta forma el estilo queda en posición lateral y casi basal. Todos los estilos se orientan hacia el centro del receptáculo de la flor. Cuando los carpelos del centro del receptáculo se cierran se inicia el desarrollo del estilo, en los carpelos de la periferia éste se haya diferenciado (Figs. 31, 32). Los estigmas recién diferenciados son redondeados (Fig. 33), pero posteriormente todas sus células epidérmicas se alargan formando papilas unicelulares. La flor femenina se mantiene cerrada hasta que todos los óvulos se han desarrollado en el interior de los carpelos y los estigmas están diferenciados (Fig. 34). Un haz vascular recorre todo el carpelo (Fig. 35). La flor en antesis extiende los tépalos completamente, mostrando las papilas de las células epidérmicas de la cara adaxial. Cada carpelo consiste de un ovario con células epidérmicas externas globosas, un estilo lateral corto casi basal y un

estigma papiloso de mayor diámetro que el estilo (Figs. 36). Las células papilares del estigma son tan alargadas, incluso las más cercanas al estilo son difícilmente distinguibles (Fig. 37).

Durante la antesis las papilas estigmáticas unicelulares alcanzan el máximo de su desarrollo, y en ellas se observan secreciones (Figs. 38, 39). Después de la antesis, los carpelos con óvulos fecundados se observan globosos. Los estilos laterales y estigmas, así como los ovarios que no fueron fecundados son cubiertos por los frutos en desarrollo (Fig. 40). Los carpelos fecundados crecen rápidamente y las células de la epidermis externa o pericarpio pasan gradualmente de globosas a planas sobre todo en la parte basal (Fig. 41). En los frutos maduros persisten el estilo y el estigma (Fig. 42).

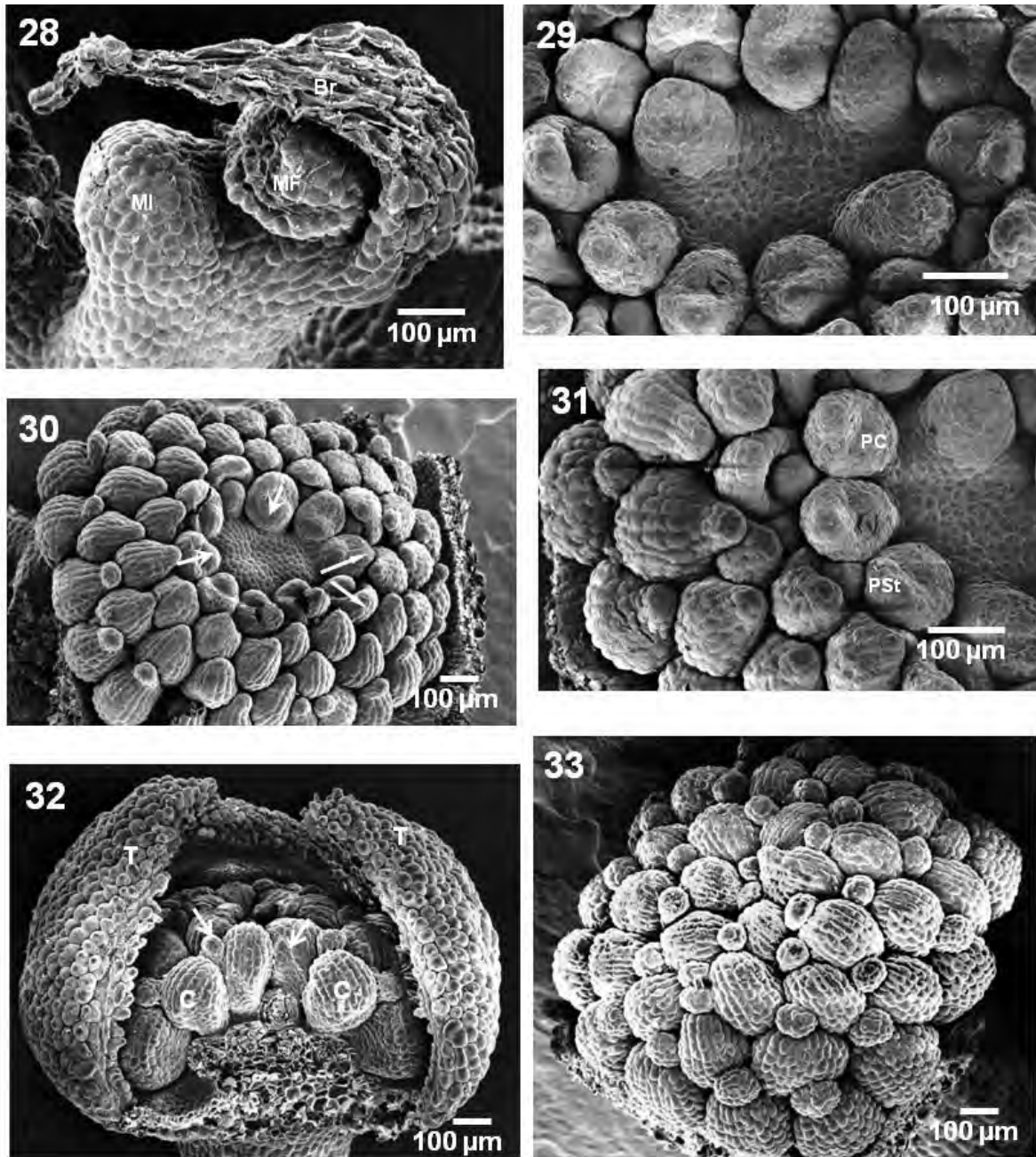
Desarrollo del óvulo

Del meristemo floral surgen los primordios carpelares y posteriormente en la parte ventral y basal de cada carpelo surge el tejido nucelar y de este tejido el primordio ovular (Fig. 43). Del tejido nucelar y en posición subprotodérmica comienza a diferenciarse la célula arquesporrial, la cual se caracteriza por su mayor tamaño y citoplasma denso, lo que indica que tiene una mayor actividad metabólica, el tegumento interno comienza a diferenciarse (Fig. 44). La célula arquesporrial se diferencia directamente en célula madre de la megaspora (CMMe). El primordio de tegumento interno surge primero, seguido del primordio del tegumento externo. Ambos primordios tegumentarios crecen rápidamente y son biestratificados. En esta etapa la nucela consiste de un solo estrato epidérmico que cubre a la CMMe (Fig. 45).

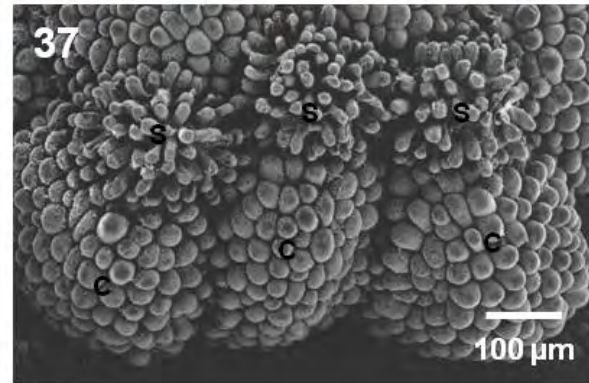
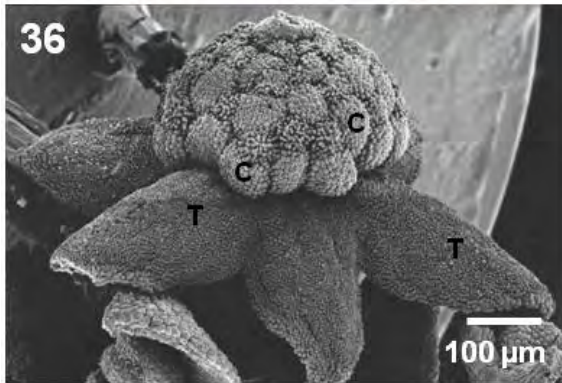
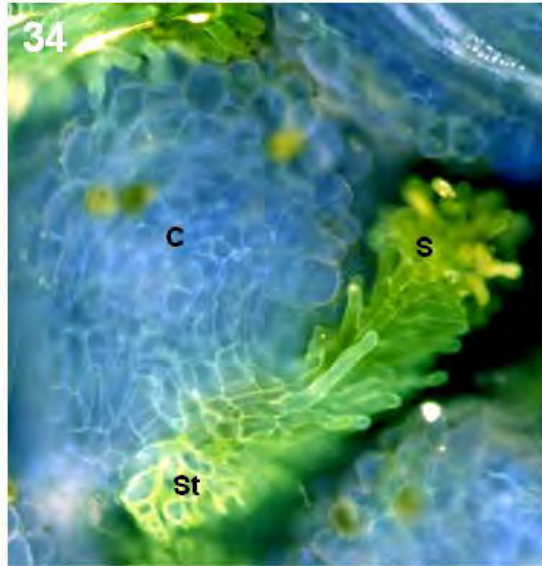
La nucela comienza a curvarse y va siendo cubierta por el tegumento interno en desarrollo (Fig. 46). El primordio carpelar crece en sentido contrario a la curvatura del óvulo. El núcleo de la CMMe sufre la primera división meiótica iniciando así la reducción del número cromosómico que da como resultado una díada de megasporas (Fig. 47). Una nueva división meiótica acontece (meiosis II) y da como resultado una tétrada de megasporas en forma de T (Fig. 48) o decusada rodeadas aun por un estrato de células nucelares (Fig. 49). Los tegumentos biestratificados siguen elongándose cubriendo aún a la nucela. La megaspora funcional es la calazal y dará origen al saco embrionario mientras que las megasporas orientadas hacia la zona micropilar degeneran (Figs. 50, 51). La megaspora funcional es grande, con citoplasma denso y un núcleo muy evidente e inicia la primera división mitótica (cariocinesis) (Fig. 52). Dos divisiones mitóticas más tienen lugar para dar origen a cuatro y finalmente ocho núcleos respectivamente del megagametofito. El desarrollo del saco embrionario es de tipo *Polygonum*, con ocho núcleos y siete células (Fig. 53).

El saco embrionario maduro presenta dos sinérgidas en forma de pera, sus núcleos están dirigidos hacia la zona micropilar, mientras que las vacuolas hacia la zona calazal. Las sinérgidas y la ovocélula forman el aparato de huevo (Fig. 53). Hacia la zona calazal se observan tres antípodas en degeneración (Figs. 54, 55). En la célula central se encuentran dos núcleos polares, que se fusionan antes de la fecundación. En esta etapa ambos tegumentos son biestratificados y el estrato nucelar ha degenerado (Figs. 56, 57). El saco embrionario está rodeado por ambos tegumentos biestratificados. Los óvulos son anátropos, bitégmicos con el funículo muy corto, casi sésiles. Cuando la antesis ocurre, los óvulos de los carpelos externos (ubicados cerca de los tépalos) están maduros, mientras que los del centro del receptáculo presentan sacos embrionarios en desarrollo.

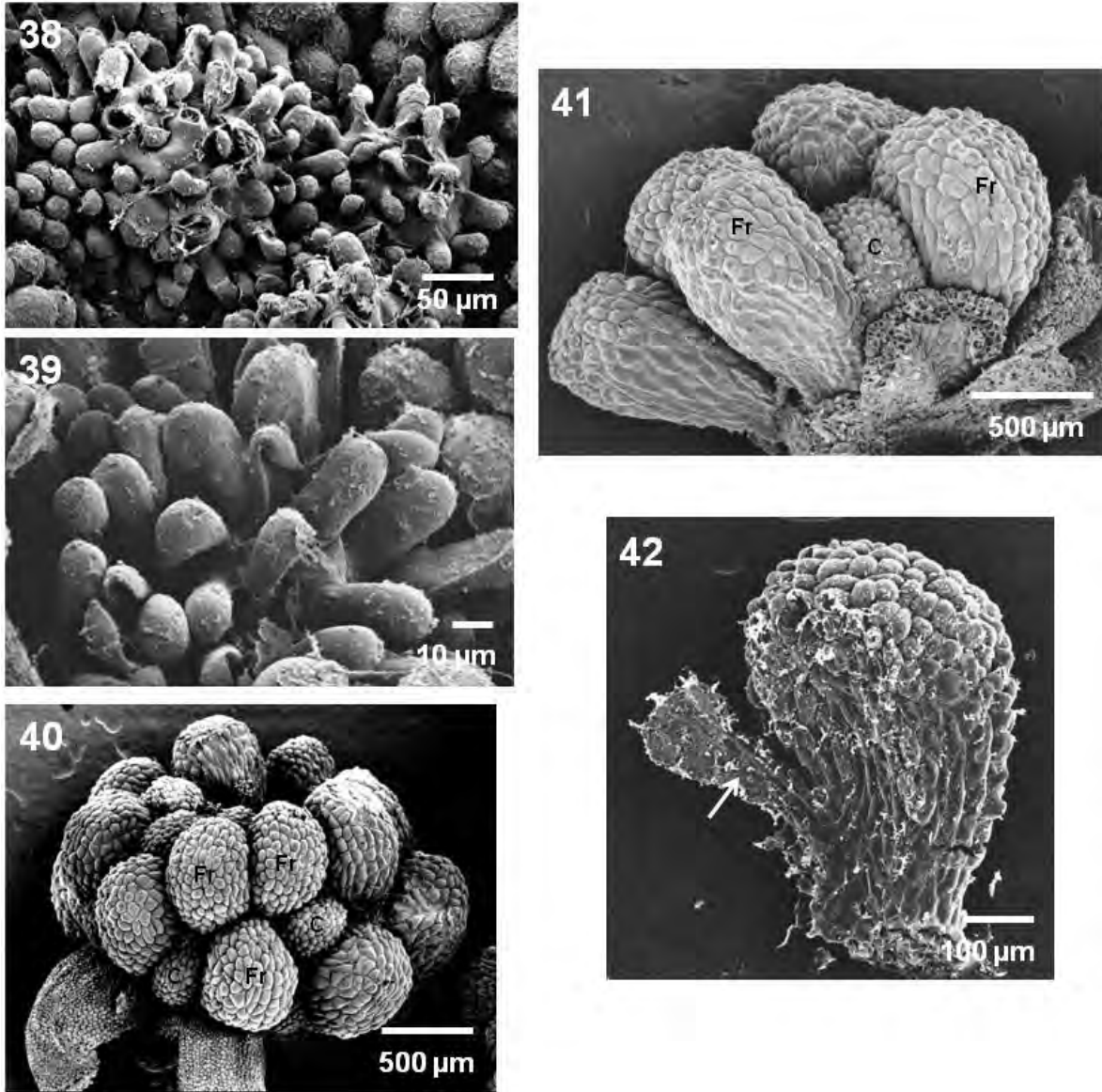
Tanto las flores femeninas como masculinas son casmógamas. Las anteras abren para liberar a los granos de polen pero se desconoce cómo éstos llegan a los estigmas de las flores femeninas pero se encontraron evidencias de que ocurre la doble fecundación en *S. spruceanum*.



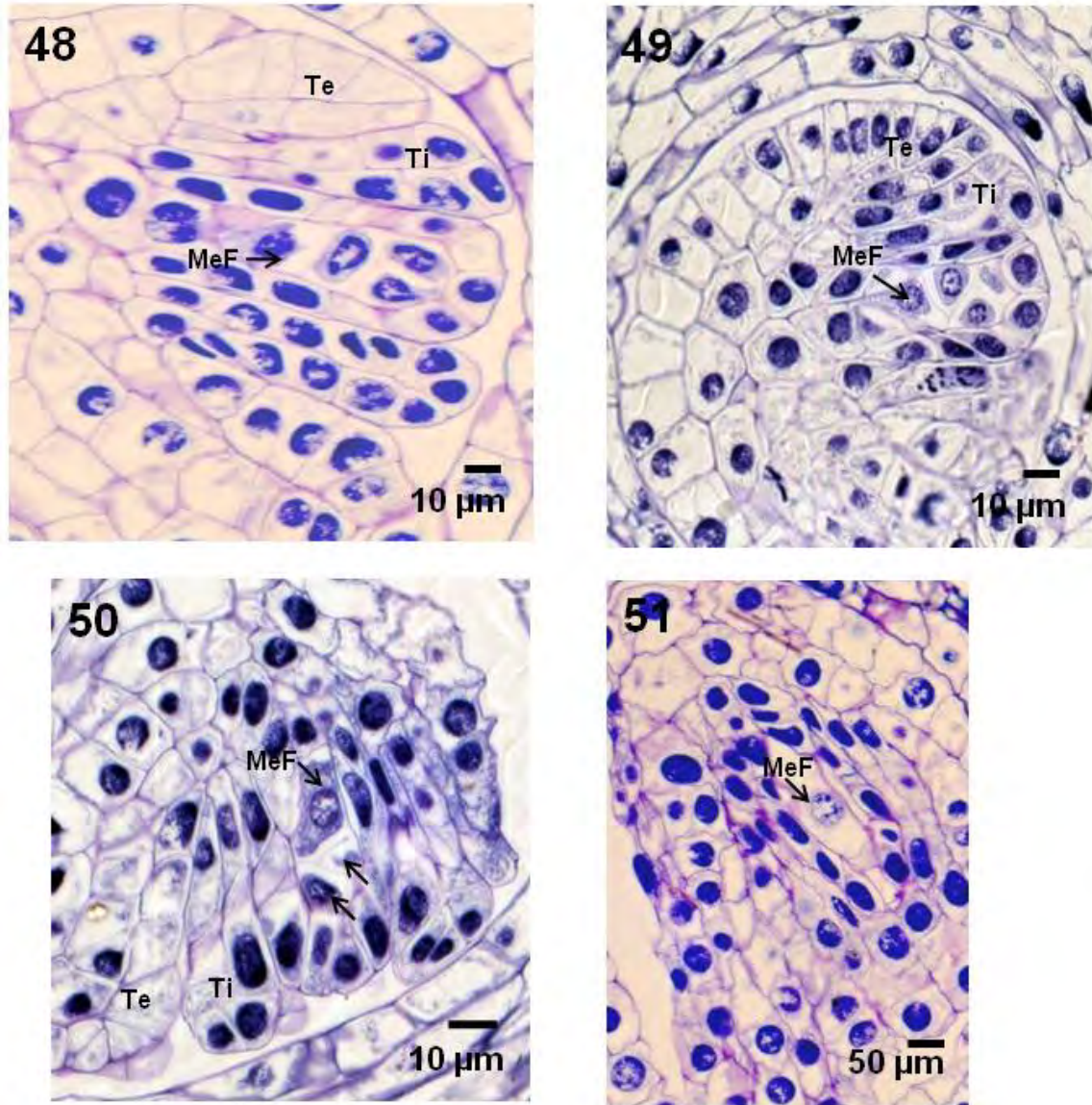
Figuras 28 - 33. Morfología externa de las flores femeninas MEB. 28. Ápice de la inflorescencia mostrando el meristemo de inflorescencia en el ápice y meristemo floral cubierto por una bráctea. 29 y 30. Botones florales femeninos a los cuales se les removieron los tépalos para mostrar la maduración centripeta de los primordios de carpelos (←) y primordios del estilo (←). 31. Acercamiento a los primordios de carpelo y primordios de estilo. 32. Botón floral mostrando el gineceo apocárpico. Se observan los estigmas de cada carpelo (flechas). MEB. 33. Carpelos diferenciados mostrando los estigmas hacia el centro del receptáculo.
Br = bráctea, C = carpelo, MF = meristemo floral, MI = meristemo de inflorescencia, PC = primordio de carpelo, PSt = primordio de estilo, T = tépalos.



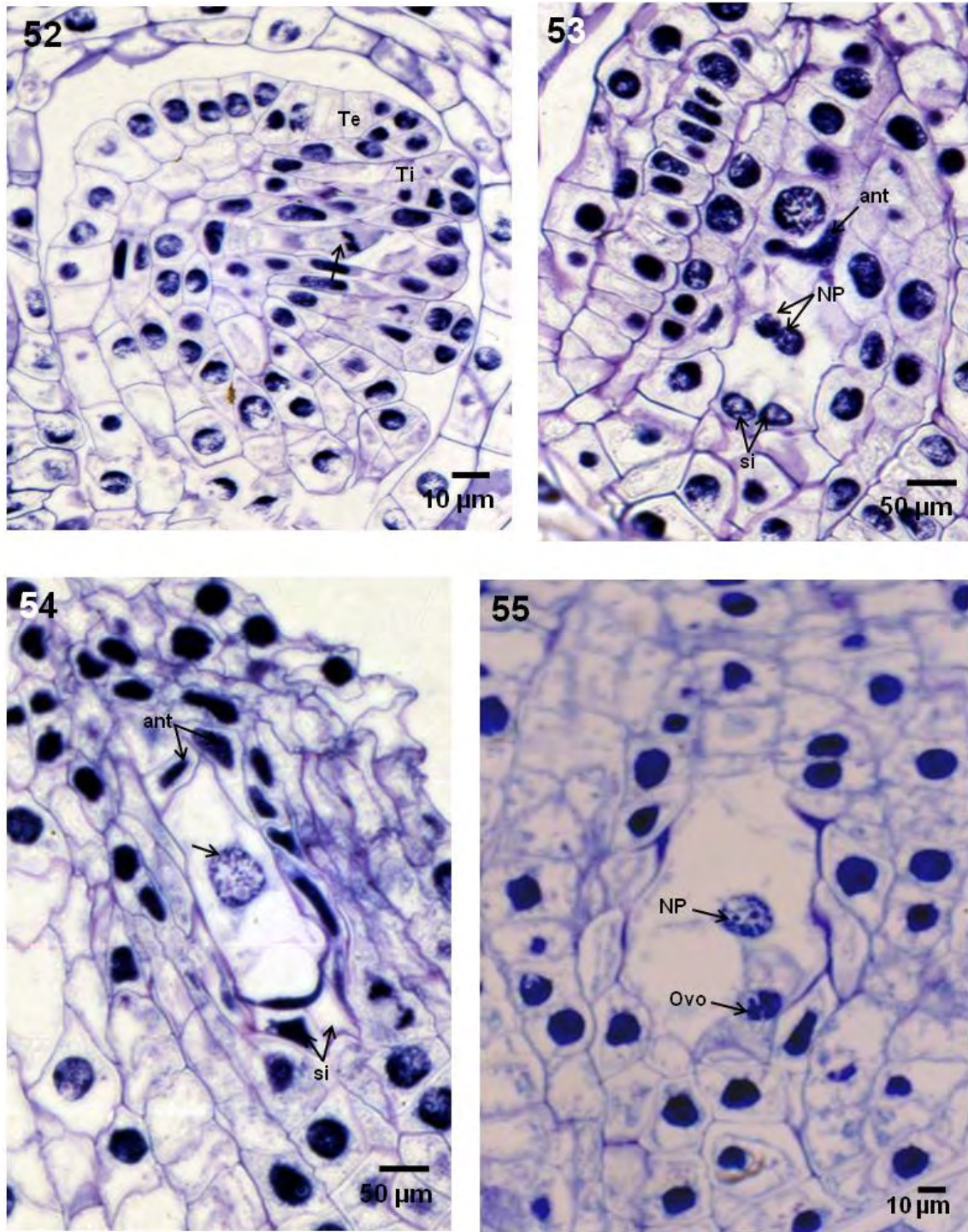
Figuras 34 – 37. Morfología de las flores femeninas. 34. Estigma lateral papiloso. Autofluorescencia. 35. Corte longitudinal donde se muestra que el haz vascular recorre el carpelo. 36. Flor femenina con carpelos que se diferencian de manera centripeta. MEB. 37 Acercamiento a los carpelos y estigmas. Estigmas con papilas alargadas. MEB. C = carpelo, HV = haz vascular, St = estilo, S = estigma, T = tépalos



Figuras 38 – 42. Morfología de las flores femeninas MEB. 38 y 39. Estigma con papilas alargadas cubiertas de secreción. 40 y 41. Frutos en diferentes etapas de desarrollo y carpelos no fecundados. 42. Fruto maduro mostrando el estilo y estigma persistentes (flecha). C = carpelo, Fr = fruto.



Figuras 48 – 51. Megagametogénesis. 48. Tétrada de megasporas en forma de T. Se muestra la megaspora funcional en posición calazal. 49. Tétrada de megasporas de tipo decusada. Hacia la calaza se muestra la megaspora funcional. 50. Corte longitudinal de óvulo mostrando la megaspora funcional hacia la calaza y las otras megasporas degenerando (flechas). 51. Megaspora funcional. MeF= megaspora funcional, Te = tegumento externo, Ti = tegumento interno.



Figuras 52 – 55. Megagametogénesis. 52. Primera división mitótica de la megaspora funcional (flecha). 53. Corte longitudinal de óvulo donde se muestran las dos sinérgidas hacia el micrópilo, dos núcleos polares y antípodas hacia la calaza. 54. Corte longitudinal de óvulo donde se muestran los dos núcleos polares fusionados (flecha) y restos de las antípodas. 56. Corte longitudinal de óvulo mostrando la ovocélula y la célula central con dos núcleos. ant = antípodas, NP = núcleos polares, Ovo = ovocélula, si = sinérgida, Te = tegumento externo, Ti = tegumento interno.

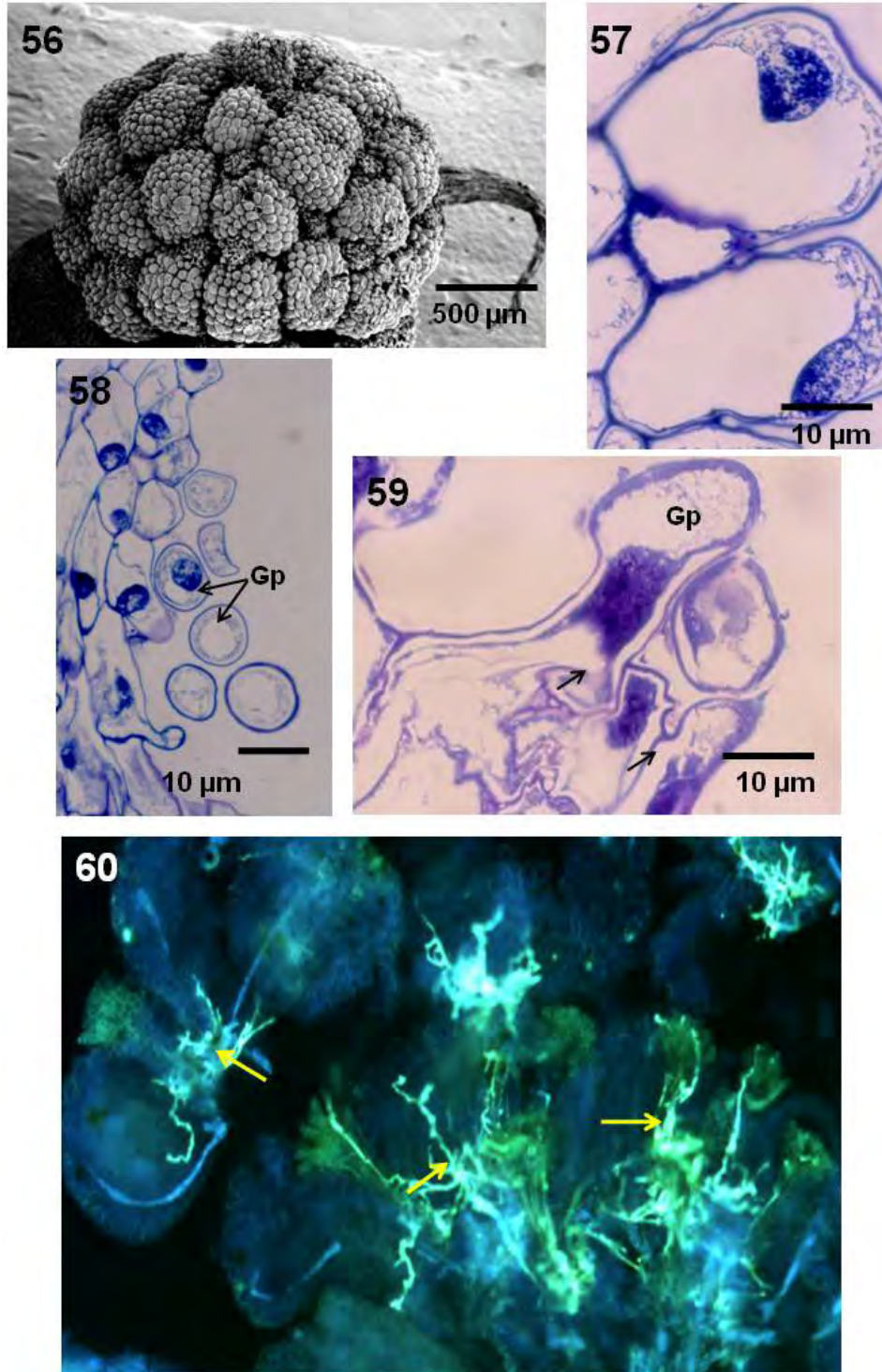
Fecundación

La fecundación ocurre en la antesis. Se desconoce cómo llegan los granos de polen al estigma de las flores femeninas, pero ocurre la doble fecundación. Como evidencias se tiene la germinación de los granos de polen y el crecimiento de los tubos polínicos por el estilo y estigma, así como la entrada del tubo polínico al saco embrionario a través del micrópilo.

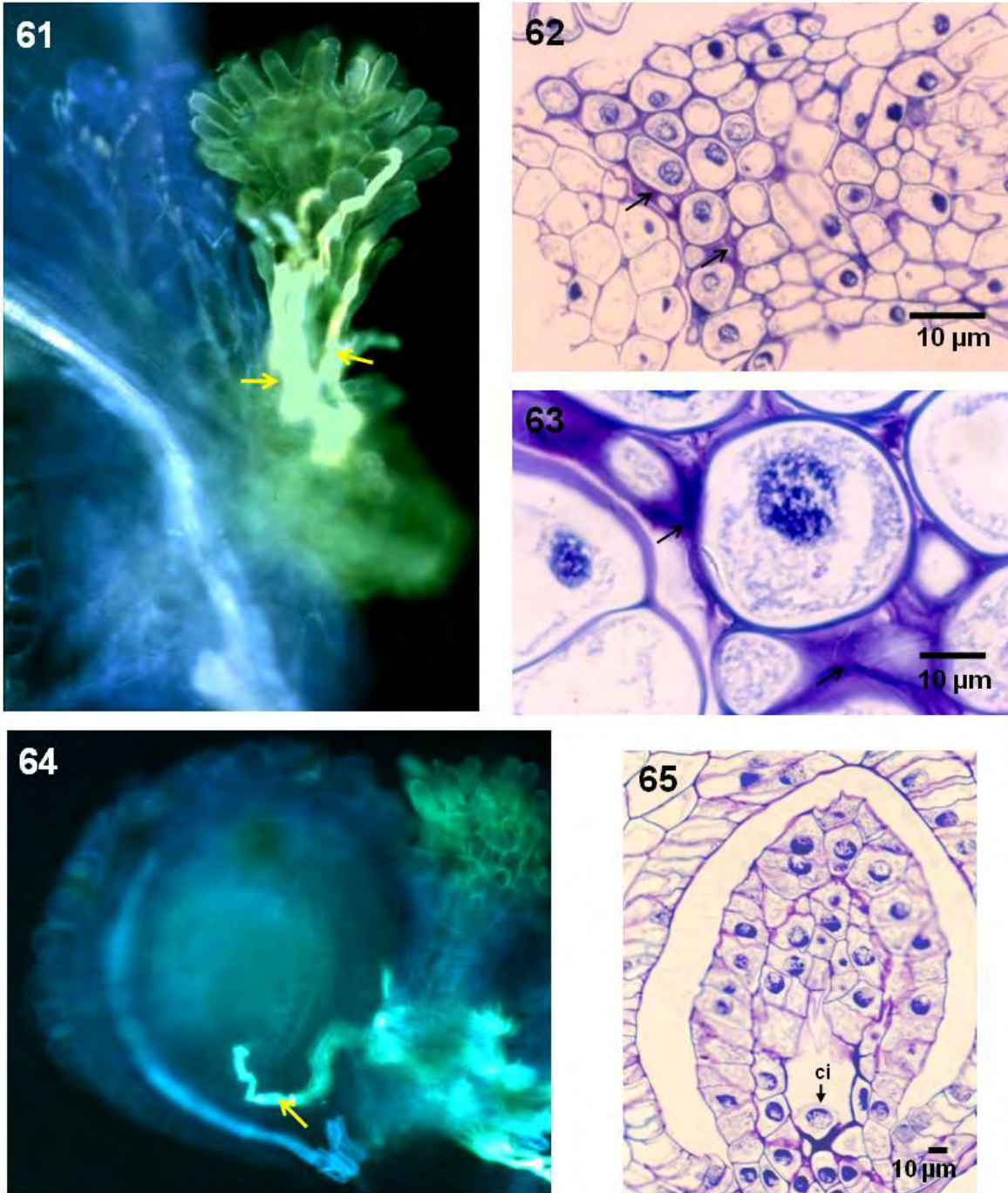
Cuando la antesis de las flores femeninas ocurre, los óvulos se encuentran maduros, incluso los del centro del receptáculo. Después de la fecundación, los carpelos maduros que no fueron fecundados comienzan a colapsarse (Fig. 56).

En las papilas del estigma se observaron secreciones (Fig. 57) y granos de polen germinando sobre ellas (Fig. 58) y emitiendo el tubo polínico (Fig. 59). Los tubos polínicos que emergen se dirigen hacia el estilo sólido y de escasos estratos de diámetro (Figs. 60, 61). En la base del estilo se observaron células epidérmicas papiladas y células internas con una matriz extracelular (Figs. 62, 63) por la cual, los tubos polínicos crecen y llegan al micrópilo para entrar al saco embrionario maduro y efectuar la doble fecundación (Figs. 63, 64). La sinérgida por la cual entra el tubo polínico se desintegra, mientras que la otra persiste hasta que ocurre la fecundación y se diferencia el cigoto.

La doble fecundación da como resultado un cigoto y un núcleo primario del endospermo de tipo nuclear, que se divide antes que el cigoto. La sinérgida persistente permanece hasta las primeras divisiones del endospermo y el cigoto (Fig. 65).



Figuras 56 – 60. Fecundación. 56. Flor femenina en antesis mostrando los carpelos maduros con los óvulos listos para la fecundación. MEB. 57. Acercamiento a papilas estigmáticas. 58. Granos de polen sobre y entre las papilas estigmáticas. 59. Granos de polen emitiendo tubos polínicos (flechas). 60. Tubos polínicos creciendo sobre diversos estigmas y estilos (flechas). Gp = grano de polen.

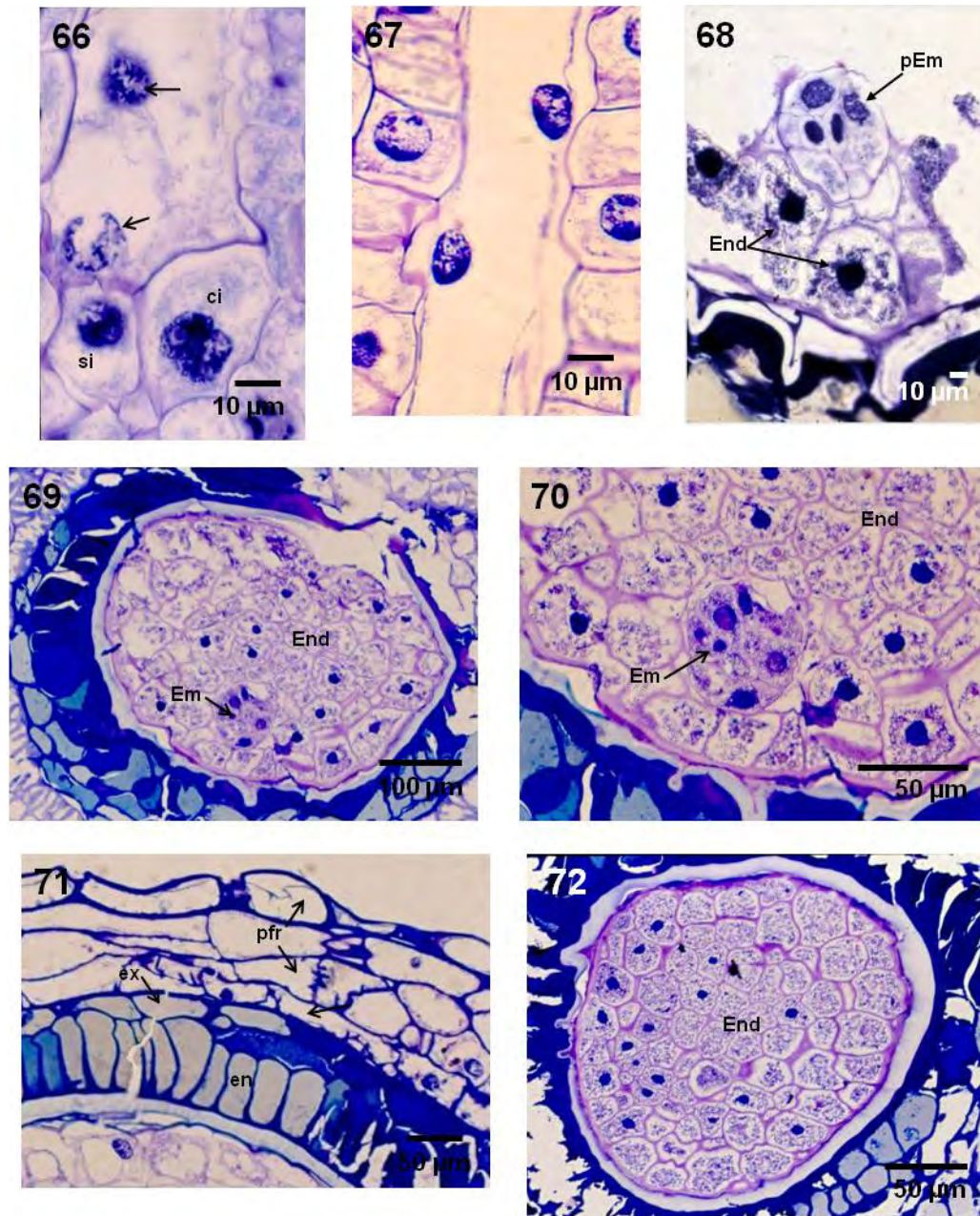


Figuras 61 – 65. Fecundación. 61. Tubos polínicos creciendo sobre el estilo (flechas). 62 y 63. Los tubos polínicos viajan a través de la epidermis papilada del estilo y no dentro de él (flechas). 64. Tubo polínico entrando al micrópilo (flecha). 65. Corte longitudinal de saco embrionario donde se observa el cigoto.
ci = cigoto.

Fruto y semilla

La primera división del cigoto es transversal, dando como resultado una célula basal y otra apical. El núcleo primario del endospermo se divide por cariocinesis para dar origen al endospermo de tipo nuclear (Figs. 66-67). Los núcleos del endospermo se dividen constantemente y se sintetizan paredes gruesas, cuando el proembrión cuenta con escasas células (Figs. 69-70). La síntesis de las paredes en el endospermo comienza de la zona micropilar y avanza hacia la zona calazal. En esta etapa, el endotegmen y el exotegmen comienzan a degenerar, mientras que la exotesta y la endotesta comienzan a tener cambios evidentes. Las células de la endotesta se alargan radialmente y las paredes radiales y tangenciales comienzan a engrosarse, en contraste las células de la exotesta permanecen sin engrosamientos. La pared del fruto está formada por tres o cuatro estratos de células parenquimáticas (Fig. 71).

El embrión en la semilla madura está formado por más de 12 células y se encuentra rodeado por el endospermo, cuyas células son de mayor tamaño y en su citoplasma contienen una gran cantidad de sustancias de reservas, paredes celulares engrosadas y núcleos evidentes (Fig. 72). Las pruebas histoquímicas aplicadas a las semillas maduras dieron reacción positiva para almidón, polisacáridos insolubles y proteínas. El fruto (aquenio) es la unidad de dispersión en *Soridium spruceanum* y contiene una sola semilla.



Figuras 66 – 72. Fruto y semilla. 66. Cigoto y división del núcleo primario del endospermo (flechas). 67. Núcleo primario del endospermo que se divide antes que el cigoto. 68. Proembrión y endospermo de tipo nuclear en desarrollo. 69. Embrión en una semilla madura rodeado por el endospermo de células de mayor tamaño y paredes celulares mostrando al tegumento interno que comienza a adelgazarse y el engrosamiento de la endotesta. 70. Acercamiento al embrión indiferenciado y pequeño rodeado por el endospermo. 71. Corte transversal de la semilla mostrando la endotesta y la exotesta, procedentes del tegumento externo. La pared del fruto presenta de 4 a 6 estratos celulares. Se observan restos del tegumento interno (flecha). 72. Corte transversal de semilla madura mostrando al endospermo de células grandes, con paredes celulares gruesas, citoplasmas densos, y núcleos evidentes.
 ci = cigoto, Em = embrión, en = endotesta, End = endospermo, ex = exotesta, pEm = proembrión, pfr = pared del fruto, si = sinérgida.

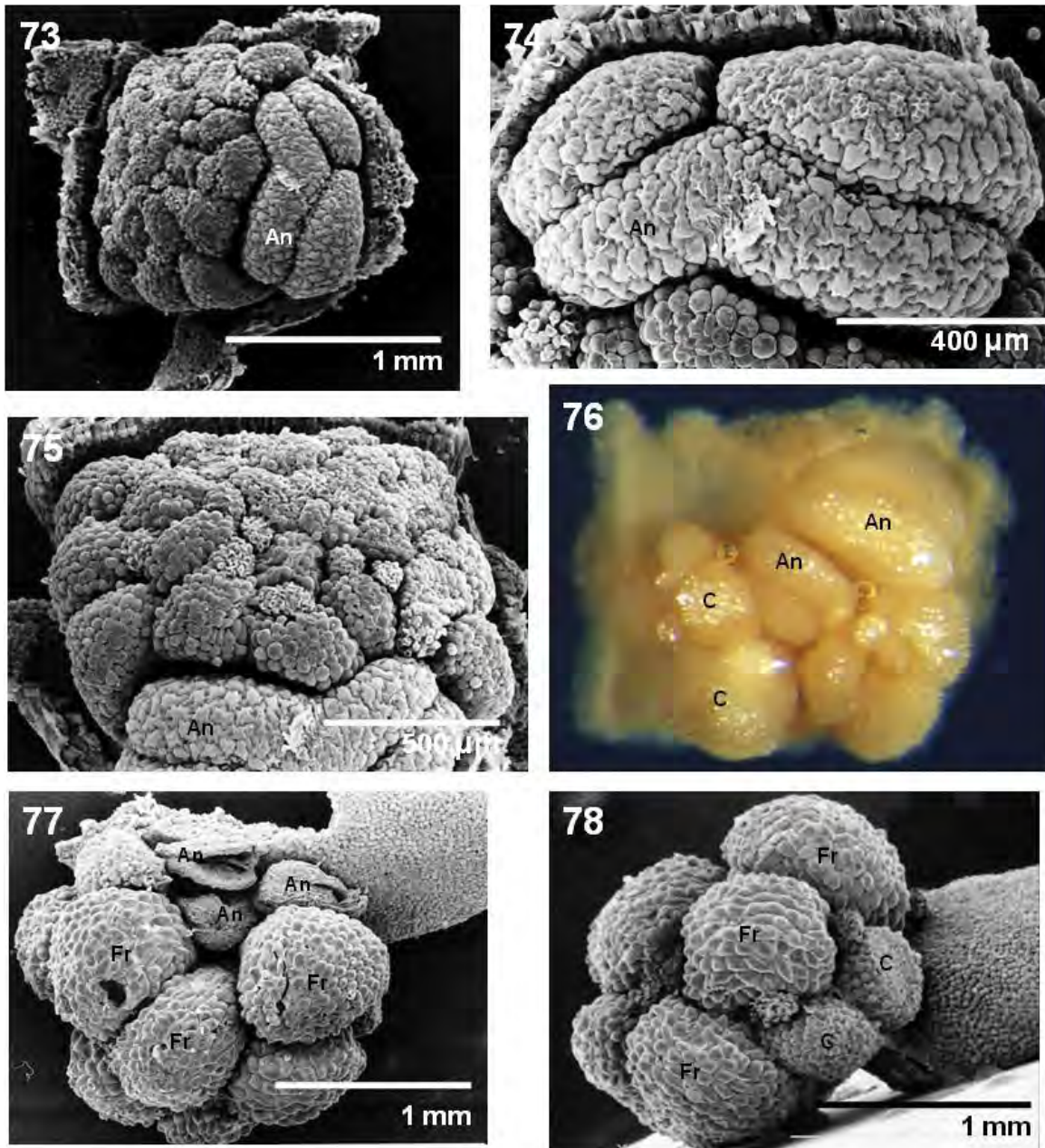
Polimorfismo floral

Un aporte importante de este estudio fue la observación de flores bisexuales en *Soridium spruceanum*, se describió la distribución de los morfos florales y las características de cada uno de éstos. En algunas inflorescencias de *S. spruceanum* se detectó que además de tener flores masculinas y flores femeninas había flores bisexuales con anteras que forman granos de polen y carpelos con óvulos bien formados estructuralmente (Fig. 73).

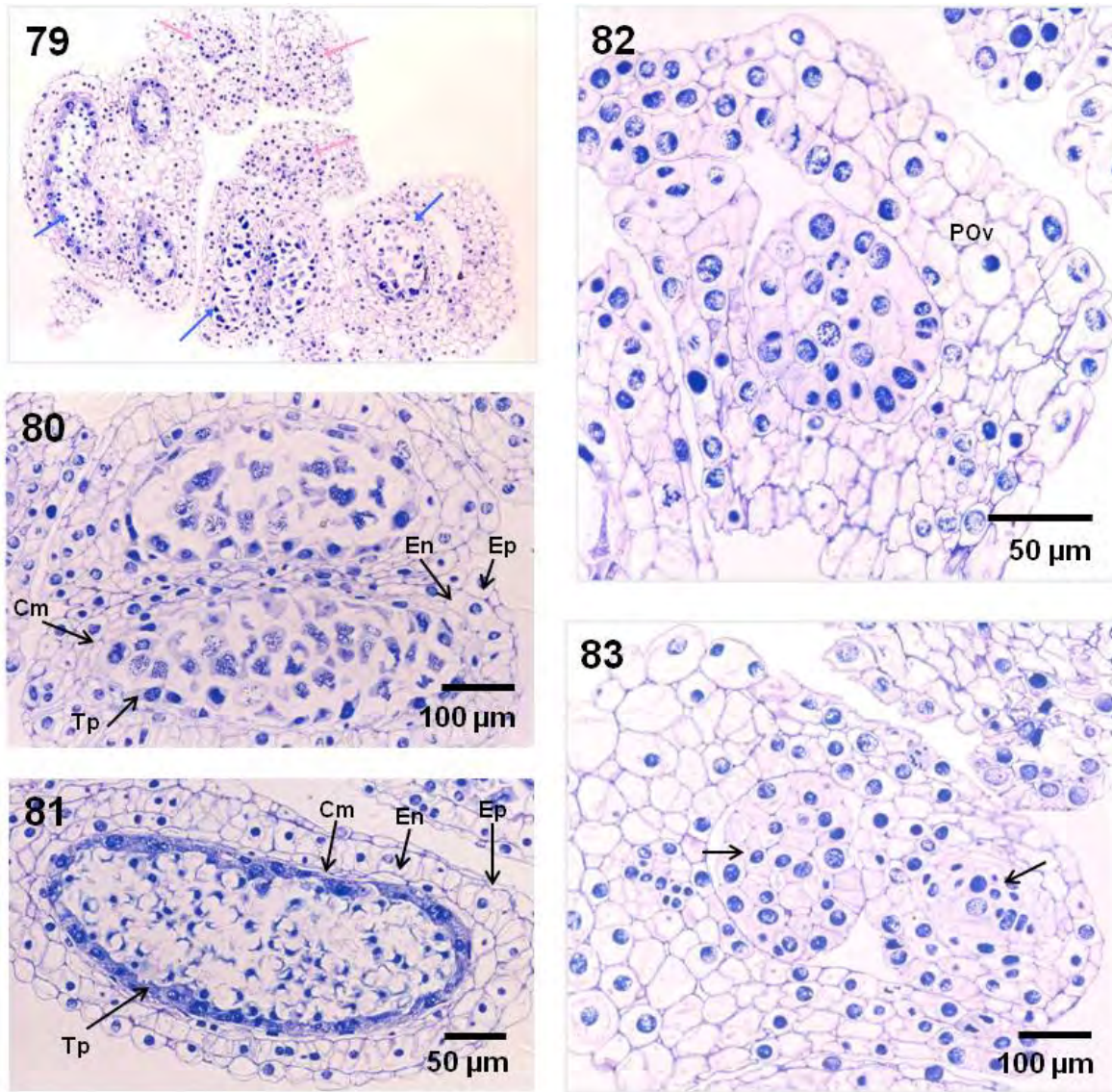
La presencia de tres morfos florales en algunos individuos debe considerarse para describir que *S. spruceanum* es una especie trimonoica, ya que algunos de sus individuos son polígamos.

En las flores bisexuales varia el número de unidades que conforman el androceo y el gineceo y el arreglo no es verticilado, sino colateral es decir, que en la mitad del receptáculo de la flor se desarrollan los estambres y en la otra mitad los carpelos (Figs. 73– 78).

En las flores bisexuales el androceo y el gineceo son funcionales, desarrollan granos de polen y óvulos viables respectivamente (Fig. 79). Las anteras son dehiscentes (Fig. 77). El desarrollo de los granos de polen es similar a lo observado en las flores masculinas (Figs. 80, 81). Los carpelos de las flores bisexuales muestran óvulos que siguen el mismo patrón de desarrollo que el observado en las flores femeninas (Figs. 82, 83).



Figuras 73 – 78. Morfología de flores bisexuales. 73. Flor bisexual, con carpelos y una antera. MEB. 74. Acercamiento a la antera. MEB. 75. Acercamiento a los carpelos. MEB. 76. Flor bisexual, con carpelos y dos anteras. 77. Flor bisexual mostrando frutos en desarrollo y restos de tres anteras dehiscentes. MEB. 78. Acercamiento a los frutos. MEB. An = antera, C = carpelo, Fr = fruto.



Figuras 79 – 83. Estructura de las flores bisexuales. 79. Corte transversal de una flor bisexual mostrando los carpelos (flechas rosas) y tres anteras (flechas azules). 80. Corte transversal de antera donde se muestra la pared de la antera con cuatro capas uniestratificadas. 81. Corte transversal de la antera, se observan las microsporas libres, resaltan las células del tapete con citoplasma denso y núcleos evidentes. 82. Acercamiento a un carpelo y óvulo en desarrollo. 83. Corte transversal de carpelo mostrando dos primordios de óvulo (flechas). Cm =capa media, En = endotecio, Ep = epidermis, POv = pared del ovario, Tp = tapete.

DISCUSIÓN

Los estudios embriológicos en las angiospermas con tópicos como la microsporogénesis, megasporogénesis, gametogénesis, polinización, fecundación y embriogénesis, tienen un valor importante al generar caracteres taxonómicos. En este sentido, existen pocos estudios embriológicos realizados en las especies de la familia Triuridaceae y las investigaciones que existen están enfocadas principalmente a descripciones morfológicas. Los trabajos más recientes sobre biología reproductiva son los de Maas y Rübsamen (1986), Quiroz (1990), Rübsamen-Weustenfild (1991), Vázquez (1992), Espinosa (1991, 1994), Vergara *et al.* (2003) y Ambrose *et al.* (2006) los cuales incluyen estudios morfológicos, anatómicos y embriológicos principalmente en *Lacandonia schismatica* y *Triuris brevistylis*.

Las investigaciones sobre *Soridium spruceanum* son aún más escasas, están orientados principalmente a descripciones de morfología vegetativa y floral y con información fragmentada sobre la biología reproductiva. El principal trabajo que aborda a esta especie es la monografía de la familia Triuridaceae (Rübsamen-Weustenfild, 1991) y en ella se describe parte de la morfología y se hacen algunas observaciones sobre los posibles mecanismos reproductivos.

En esta discusión se comparan los procesos embriológicos observados de *S. spruceanum* encontrados en esta investigación con los resultados presentados por Rübsamen-Weustenfild (1991) quién también estudió esta especie, con los existentes en las otras especies de la familia Triuridaceae (con sus tres tribus actuales: Sciaphileae, Triurideae y Kupeaeae) y con *Lacandonia schismatica* de la familia Lacandoniaceae *sensu* Martínez y Ramos (1989).

La mayoría de los autores reporta que en la familia Triuridaceae predominan plantas con flores unisexuales. Jonker (1943), Tomlinson (1982) y Dahlgren *et al.* (1985) mencionan que la mayoría de las especies de la familia Triuridaceae presentan flores unisexuales a excepción del género *Sciaphila* que presenta flores bisexuales.

En el presente estudio se encontró que *Soridium spruceanum* no es una especie estrictamente monoica como se había mencionado anteriormente (Rübsamen-Weustenfeld, 1991), ya que además de individuos monoicos hay individuos trimonoicos que se caracterizan por tener flores masculinas, flores femeninas y flores bisexuales, que forman gametos funcionales. Estas observaciones sugieren que la población estudiada de *S. spruceanum* puede describirse como poligamomonoica. La presencia de las flores bisexuales fue mencionada por primera vez por Martínez y Gómez (1994) para el género *Soridium*, sin detallar la disposición en el receptáculo de los verticilos sexuales. En el presente trabajo se encontró que la disposición del androceo y gineceo de las flores bisexuales no es verticilado. En las flores bisexuales observadas, el androceo se encuentra ubicado de una manera colateral al gineceo apocárpico. Martínez y Gómez (1994) mencionan que las flores bisexuales poseen dos estambres, sin embargo, en este estudio se encontró que algunas flores bisexuales presentan hasta tres anteras funcionales dehiscentes. Esta disposición había sido observada para *Triuris brevistylis* de la familia Triuridaceae pero no para *Lacandonia schismatica* (Lacandoniaceae). Así mismo en *T. brevistylis* se encontraron también algunas inflorescencias individuales con flores bisexuales con posición variada de las anteras y carpelos (Martínez 1994, Vegara-Silva *et al.*, 2003) con polen y óvulos funcionales respectivamente como lo observado en *S. spruceanum*. En *L. schismatica* predominan las flores bisexuales con inversión de los verticilos sexuales

(androceo en el centro del receptáculo rodeado por el gineceo apocárpico (Martínez y Ramos, 1989; Márquez-Guzmán *et al.*, 1989; Vázquez, 1992), aunque rara vez hay flores unisexuales (Vegara-Silva *et al.*, 2003).

En cuanto a la morfología floral de *Soridium spruceanum*, las estructuras florales más conspicuas son cuatro tépalos en forma de estrella con células epidérmicas globosas, la cara adaxial y abaxial. El número de tépalos también es diferentes en *S. spruceanum*, *Triuris brevistylis* y *Lacandonia schismatica*, cuatro, tres y seis respectivamente. En *S. spruceanum* las células apicales en cada tépalo forman un pequeño penacho, en contraste con *T. brevistylis* (Espinosa, 1991), *T. hyalina* (Jonker, 1943), *T. hexophthalma* (Maas y Rübsamen, 1986) y *L. schismatica* (Martínez y Ramos, 1989) los ápices de los tépalos son largas caudas.

En *S. spruceanum* el androceo posee anteras con dehiscencia longitudinal extrorsa, como en los representantes de la tribu Sciaphileae. Las anteras maduras observadas en *S. spruceanum* son dehiscentes, incluidas las de las flores bisexuales, carácter que comparte con *T. brevistylis* (Espinosa, 1994) y *T. hyalina* (Rübsamen, 1986). Las anteras en *S. spruceanum* son alargadas y no globosas como en *T. brevistylis* (Espinosa, 1994) y *L. schismatica* (Vázquez, 1992). Según Jonker (1943), Standley (1958), Dahlgren *et al.* (1985) y Maas y Rübsamen (1986) la línea de dehiscencia longitudinal extrorsa en la familia Triuridaceae es un carácter consistente y de valor taxonómico. Aunque en *L. schismatica* hay una línea de dehiscencia introrsa, carácter importante para proponer a la familia Lacandoniaceae, pero funcional porque las flores son cleistógamas preantesis y los granos de polen germinan en el interior de las anteras (Vázquez, 1992; Márquez *et al.*, 1993)

Tomlinson (1982) observó que los tépalos de *Andruris vitensis* presentan tricomas de apariencia glandular y Maas y Rübsamen (1986) observaron lo mismo para *Triuris hyalina* y *T. hexophthalma*. Estos autores consideran que en la polinización de la familia Triuridaceae podrían estar involucrados algunos insectos, ya que los tépalos de algunas especies presentan estructuras atractivas como apéndices parecidos a colas, penachos y algunas veces papilas que emiten olores agradables para atraer a los polinizadores. En *Soridium spruceanum* a pesar de haber observado granos de polen en el estigma y tubos polínicos creciendo por el estilo, no se han reportado anteriormente ni en el presente estudio asociación alguna con insectos o posibles polinizadores. Por otro lado, no se han realizado estudios para determinar la naturaleza química de los tricomas glandulares de los tépalos para conocer si producen sustancias atractivas para los polinizadores.

En la familia Triuridaceae los reportes sobre la polinización son escasos (Maas y Rübsamen, 1986) y casi nulos para *S. spruceanum*. Es necesario saber cuál es el mecanismo de polinización responsable de transportar los granos de polen desde las anteras de flores masculinas y bisexuales a los estigmas de las flores femeninas y bisexuales. A pesar de que para esta especie se ha mencionado que ocurre la doble fecundación, no hay registros detallados de cómo ocurre (Rübsamen, 1986, en Maas y Rübsamen, 1986). Las evidencias de que en *S. spruceanum* ocurre la doble fecundación son que en los estigmas de las flores femeninas se observaron granos de polen germinando; tubos polínicos creciendo a lo largo y en la base del estilo; entrada de los tubos polínicos al saco embrionario a través del micrópilo. No se encontraron evidencias de apomixis. Para *T. brevistylis* se han reportado evidencias de la doble fecundación (Espinosa, 1991; Vergara-Silva *et al.*, 2003) y este evento se ha confirmado en *L. schismatica* (Vázquez, 1992; Márquez-Guzmán *et al.*, 1993). Rübsamen (1986; en Maas y Rübsamen, 1986)

también menciona la ocurrencia de la doble fecundación en *Sciaphila albescens*, *Triuris hexophthalma* y *T. hyalina*. Espinosa (1991) no observó la etapa de fecundación en *T. brevistylis*; sin embargo, considera que los restos del tubo polínico en el micrópilo es una evidencia de que la fecundación del óvulo es porógama y la formación de la semilla es un proceso sexual. Dahlgren *et al.* (1985) menciona que algunas especies de *Sciaphila* se desarrollan partenogenéticamente.

La presencia de los estigmas en algunas especies de Triuridaceae como en *Sciaphila* y en *Soridium spruceanum* hacen pensar que la alogamia (transporte de polen de una flor a otra) está ocurriendo, aunque no se descarta la posibilidad que el polen de otros individuos pueda llegar y así efectuarse una polinización cruzada. Los estigmas están ausentes en *T. brevistylis* (Espinosa, 1991) y *Lacandonia schismatica* (Márquez-Guzmán *et al.*, 1993), pero en *S. spruceanum* están bien desarrollados e incluso parte del estilo se especializa en recibir el polen y tiene un tejido de transmisión bien diferenciado, incluso en las flores bisexuales.

Para la familia Triuridaceae, el desarrollo de la antera corresponde al tipo monocotiledóneo (Davis, 1966) al igual que en *T. brevistylis* (Espinosa, 1994) y *S. spruceanum* y consta de la epidermis, el endotecio, una capa media y el tapete. Estos estados de carácter parece ser homogéneo en Triuridaceae y Lacandoniaceae (Quiroz, 1990; Espinosa, 1991 y 1994; Vázquez, 1992; Márquez-Guzmán *et al.*, 1993).

La microsporogénesis de tipo sucesivo es predominante en las monocotiledóneas, como en Triuridaceae (Maas y Rübsamen, 1986; Furness y Rudall, 1999). En *S. spruceanum* las tétradas de microsporas encontradas son isobilaterales y decusada. Espinosa (1994) reporta para *T. brevistylis* que la tétradas

de microsporas son de tipo isobilaterales, al igual que en *Lacandonia schismatica* (Quiroz, 1990; Vázquez, 1992; Márquez-Guzmán *et al.*, 1993). El tapete es plasmodial para algunas especies de Triuridaceae (Furness *et al.*, 2002; Furness y Rudall, 2006), aunque en *Triuris brevistylis* (Espinosa, 1994) y *Soridium spruceanum* es secretor.

Caracteres morfológicos y embriológicos como los granos de polen pequeños e inaperturados, exina gemada y equinada, microsporogénesis sucesiva y tapete plasmodial así como algunos caracteres moleculares relacionan filogenéticamente a la familia Triuridaceae con Pandaneaceae dentro del orden Pandanales (Furness *et al.*, 2002; Furness y Rudall, 2006). Otro de los argumentos para incluir a Triuridaceae (considerando a *L. schismatica* como un género de Triuridaceae) en el orden Pandanales es que la flor de las Triuridaceae es una inflorescencia reducida o pseudantio (Rudall, 2003).

Para la familia Triuridaceae se han reportado granos de polen tricelulares (Maas y Rübsamen, 1986; Dahlgren *et al.*, 1985). Carácter que fue confirmado en los granos de polen maduros de *S. spruceanum*, *T. brevistylis* (Espinosa, 1994) Triuridaceae y Lacandoniaceae (Quiroz, 1990; Márquez-Guzmán *et al.*, 1993).

El grano de polen de *S. spruceanum* es de forma esférica e inaperturado, con exina delgada y verrugada, muy parecida a la observada en *T. brevistylis* (Espinosa, 1994). Furness y Rudall (1999) menciona que los granos de polen de *Andruris* y *Seychellaria* también son inaperturados. Dahlgren *et al.* (1985), Maas y Rübsamen, (1986) y Rübsamen-Weustenfeld (1991) observaron en *T. hyalina* y *T. hexophthalma* que la exina puede ser finamente reticulada. Hsieh *et al.* (2003)

reportan que en *Sciaphila arfakiana*, *S. secundiflora*, *S. ramosa* y *S. maculata* la exina es microverrugada.

Aunque Standley y Steyemark (1958) mencionan que el polen de *Soridium* es elipsoide y monosulcado. El carácter monosulcado también se reporta en *Triuris hyalina* y *T. hexophthalma*, *S. arfakiana*, *S. secundiflora*, *S. ramosa* y *S. maculata* y algunas veces en *Andruris* y *Seychellaria* (Dahlgren *et al.*, 1985; Maas y Rübsamen, 1986; Rübsamen-Weustenfeld, 1991; Furness y Rudall, 1999; Hsieh *et al.*, 2003)).

En las primeras etapas de desarrollo de *S. spruceanum* el tejido nucelar crece en sentido contrario al crecimiento del ovario, éste al madurar es unilocular y unicarpelar. Esto también fue observado en *T. brevistylis* (Espinosa, 1991), y las especies *Sciaphila albescens*, *S. spruceanum*, *T. hexophthalma* y *T. hyalina* (Maas y Rübsamen, 1986) y en *L. schismatica* por Márquez-Guzmán *et al.* (1989), lo cual sugiere que es un carácter que comporten Lacandoniaceae y las dos tribus de Triuridaceae.

Soridium spruceanum comparte con *Triuris brevistylis* (Espinosa, 1991) y *L. schismatica* (Vázquez, 1992; Márquez-Guzmán *et al.*, 1993) el hecho que la célula arquesporrial funciona directamente como célula madre de la megaspora.

En algunas Triuridaceae las tétradas de megasporas pueden ser en forma de T o decusada como en *S. spruceanum* (Rübsamen, 1986), en *Sciaphila japonica* solo han sido reportadas en forma de T (Ohga y Sinoto, 1932) y en *T. brevistylis* en forma linear (Espinosa, 1991), lo cual nos lleva a la conclusión de que la forma de la tétrada de megasporas en Triuridaceae es variable. En *L. schismatica* es en forma linear (Vázquez, 1992, Márquez-Guzmán *et al.*, 1993)

La megaspora calazal es la que forma el saco embrionario tipo *Polygonum* en Triuridaceae, incluido *S. spruceanum*. En *Triuris* el desarrollo del saco embrionario puede ser tetraspórico de tipo *Fritillaria*, mientras que en Lacandoniaceae la célula micropilar es la funcional y fue determinado como un nuevo tipo de saco embrionario en angiospermas denominado tipo *Lacandonia* (Vázquez, 1992; Vázquez-Santana *et al.*, 1998).

Se comprobó que en *S. spruceanum* el desarrollo del endospermo es de tipo nuclear es similar a los descritos por Rübsamen (1986) para *Sciaphila albescens*, *Soridium spruceanum*, *Triuris hexophthalma* y *T. hialina*; al igual que en *T. brevistylis* (Espinosa, 1991).

El endospermo con reservas de almidón y proteínas es homogéneo en las especies estudiadas de Triuridaceae y Lacandoniaceae (Espinosa, 1991; Vázquez, 1992). Otra característica que se repite en ambos grupos es el embrión poco desarrollado y rodeado de abundante endospermo. En *Sciaphila*, *Soridium* y algunas especies de *Triuris* el embrión se encuentra en etapa globular (Maas y Rübsamen, 1986). Sin embargo, Espinosa (1991) menciona que al momento de la dispersión del fruto, el proembrión de *T. brevistylis* tiene cerca de ocho células.

Generalmente la cubierta de la semilla de las Triuridaceae y Lacandoniaceae consiste de exotesta y endotesta, algunas veces con depósitos de pared secundaria y taninos (Tomlinson, 1982; Espinosa, 1991; Vázquez, 1992). En *Peltophyllum* y algunas especies de *Triuris* se menciona que la cubierta de la semilla consiste de una sola capa celular.

La maduración del gineceo de los miembros de Triuridaceae presenta algunas diferencias, aunque no todas las especies han sido detalladamente estudiadas, se sabe que los ovarios en *T. brevistylis* tienen un desarrollo asincrónico, centrífugo, madurando del centro hacia la periferia de la flor (Espinosa, 1991; Vergara-Silva *et al.*, 2003; Ambrose *et al.*, 2006), mientras que en el presente trabajo encontramos que en *S. spruceanum* los ovarios maduran asincrónicamente pero lo hacen de la periferia hacia el centro de la flor, es decir centrípetamente. Este carácter de maduración del gineceo también presenta diferencias con respecto a Lacandoniaceae donde la maduración de los ovarios es sincrónica (Vázquez, 1992; Márquez-Guzmán *et al.*, 1993; Ambrose *et al.*, 2006). Otra diferencia es que en *T. brevistylis* y *L. schismatica* llevan a cabo autofecundación en las flores bisexuales, lo cual no ha sido corroborado en *S. spruceanum*. Un resultado que llama la atención del gineceo en *S. spruceanum* es que sus carpelos están vascularizados, lo cual no había sido detectado en otras especies de Triuridaceae ni en Lacandoniaceae, ya que en ambas familias la vascularización llega al receptáculo de la flor y se extiende hacia los tépalos pero no hacia el gineceo.

Los frutos de las Triuridaceae y Lacandoniaceae son agregados y consisten de poliaquenios, cada aquenio contiene en su interior una sola semilla. Sin embargo, en la última especie adicionada a Triuridaceae, *Kupea martinetugei* los frutos contienen dos semillas (Cheek *et al.*, 2003).

CONCLUSIONES

La población estudiada de *Soridium spruceanum* se puede considerar como poligamomonoica, ya que a pesar de que la mayoría de los individuos presentan flores masculinas y femeninas (individuos monoicos), otros además de éstas, presentan flores bisexuales (individuos trimonoicos). Las flores bisexuales con carpelos y anteras funcionales en disposición colateral, en un arreglo no reportado anteriormente para Triuridaceae.

Las anteras son bilobuladas y biesporangiadas. Cada lóbulo presenta una línea de dehiscencia longitudinal extrorsa. El desarrollo de la pared de la antera es de tipo Monocotiledóneo. Las tétradas de microsporas son del tipo isobilateral. Los granos de polen maduros son tricolulares, inaperturados y con exina delgada, cuyas ornamentaciones son en forma de pequeñas verrugas.

Los carpelos son vascularizados. Los óvulos son tenuinucelados, anátropos y bitégmicos cada tegumento es biestratificado. La célula arquesporiorial funciona directamente como célula madre de la megaspora, que desarrolla una tétrada en forma de T o decusada, la megaspora funcional es la calazal y forma al saco embrionario tipo *Polygonum*.

Se desconoce cómo se lleva a cabo la dispersión de los granos de polen, pero éstos al llegar al estigma germinan y penetran los estilos a través de un tejido de transmisión para llegar al micrópilo y efectuar la doble fecundación.

El embrión es poco diferenciado y muy pequeño y está rodeado por un endospermo abundante con células grandes con paredes celulares con engrosamientos primarios.

La testa de la semilla está formada por una delgada exotesta y una endotesta de células alargadas que contienen taninos.

LITERATURA CONSULTADA:

- Álvarez-Buylla E. 2006. *Lacandonia schismatica*: recurso genético para México y conservación de la selva Lacandona. Instituto de Ecología.
- Ainsworth C. 2000. Boys and Girls Come Out to Play: The Molecular Biology of Dioecious Plants. *Annals of Botany* 86: 211 – 221.
- Ambrose B., S. Espinosa-Matías, S. Vázquez-Santana, F. Vergara-Silva, E. Martínez, J. Márquez-Guzmán y E. Álvarez-Buylla. 2006. Comparative Developmental Series of the Mexican triurids support a euanthial interpretation for the unusual reproductive axes of *Lacandonia schismatica* (Triuridaceae). *American Journal of Botany* 93(1): 15–35.
- APG 2003. An update of the Angiosperm Phylogeny Group classification for the orders and families of flowering plant. APG II. *Botanical Journal of the Linnean Society* 141:339 – 436.
- Barrett S. 2002. The Evolution of Plant Sexual Diversity. *Nature* 3: 274-284.
- Bawa K. y J. Beach. 1981. Evolution of Sexual Systems in Flowering Plants *Annals of the Missouri Botanical Garden* 68: 254-274.
- Bhojwani S. y S. Bhatnagar. 2000. The embryology of Angiosperms. Vikas Publishing House PVT LTD.
- Charlesworth D. 2002. Plant sex determination and sex chromosomes. *Heredity* 88: 94-101.
- Cheek M., S. Williams y M. Etuge. 2003. *Kupea martinetugei*, a new genus and species of Triuridaceae from western Cameroon. *Kew Bulletin* 58: 225–228.
- Cheek M. 2003. Kupeaeae, a new tribe of Triuridaceae from Africa. *Kew Bulletin* 58: 939 – 949.
- 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. EUA. 555 pp.
- Dahlgren R. y H. Clifford. 1982. The Monocotyledons: A Comparative Study. Academic Press Inc. Great Britain. 378 pp.
- Dahlgren R. H. Clifford y P. Yeo. 1985. The families of the Monocotyledons: structure, evolution and taxonomy. Springer-Verlag. New York.
- Davis G. 1966. Systematic embryology of the angiosperms. John Wiley and Sons, Inc. New York. 528 pp.
- Dellaporta S. y A. Calderón-Urrea. 1993. Sex determination in flowering plants. The Plant Cell 5: 1241-1251.
- Esau K. 1982. Anatomía de las Plantas con Semilla. Hemisferio Sur. Buenos Aires. 512 pp.
- Espinosa S. 1991. Estudio estructural e histoquímico de individuos femeninos de *Triuris alata* (Triuridaceae) nuevo registro para México. Tesis de Licenciatura (Biólogo), Facultad de Ciencias, UNAM. México, D.F. 74 pp.
- Espinosa S. 1994. Anatomía e histoquímica de los individuos masculinos de *Triuris alata* Brade (Triuridaceae). Tesis de Maestría (Biólogo), Facultad de Ciencias, UNAM. México, D.F. 98 pp.
- Fahn A. 1974. Anatomía Vegetal. H. Blume Ediciones. Madrid. 643 pp.
- Flores E. 1999. La Planta: estructura y función. Libro Universitario Regional. Costa Rica. 884 pp.
- Furness C y P. Rudall. 1999. Microsporogénesis in Monocotyledons. Annals of Botany 84: 475 – 499.
- Furness C., P. Rudall y Eastman. 2002. Contribution of pollen and tapetal characters to the systematics of Triuridaceae. Plant Systematics and Evolution 235: 209 – 218.

- Furness C. y P. Rudall. 2006. Comparative Structure and Development of Pollen and Tapetum in Pandanales. *International Journal of Plant Sciences* 167: 331 – 348.
- Gandolfo M., K. Nixon y W. Crepet. 2002. Triuridaceae fossil flowers from the Upper Cretaceous of New Jersey. *American Journal of Botany* 89 (12): 1940 – 1957.
- Giesen H. 1938. Triuridaceae. *Das Pflanzenreich*. 4. 18 (Heft 104). 1-84 pp.
- Green P. y O. Solbrig. 1966. *Sciaphila dolichostyla* (Triuridaceae). *J. Arnold Arboretum* 47: 266-269.
- Hsieh T.-H., C.-S. Wu y K.-C. Yang. 2003. Revision of *Sciaphila* (Triuridaceae) in Taiwan. *Taiwania* 48 (4): 239 – 247.
- Johri B. M., K. Ambegaokar y B. Srivastava. 1992. Triuridales. *Comparative Embriology of Angiosperms*. Springer-Verlag. Germany. 860 – 862.
- Jonker P.P. 1943. Triuridaceae. *Flora of Suriname*. 1(1): 461 – 466.
- Lebel-Hardenack S. y S. Grant, 1997. Genetics of sex determination in flowering plants. *Trends in Plant Science* 2: 130-136.
- López M. L., J. Márquez y G. Murguía. 2005. Técnicas para el estudio del desarrollo en angiospermas. *Las prensas de Ciencias*. México, D.F. 178 pp.
- Maas H. y P. Maas. 2005. Flora da Reserva Ducke, Amazonas, Brasil: Triuridaceae. *Rodriguésia* 56 (86): 209 – 211.
- Maas P. 1988. Triuridaceae. *Fl. Colombia* 6(10): 1 – 32.
- Maas P. y T. Rübtsamen. 1986. Triuridaceae. *Flora Neotrópica* 40: 1–55.
- Maas P. y H. Mass. 1987. Ecuatorian saprophytes, a preliminary review. *Opera. Bot.* 92: 131 – 145.
- Maas P. y H. Mass-van de Kamer. 1989. Triuridaceae. *Flora of the Guyanas*. 21 pp.

- Maas P. y L. Westra. 1998. Familias de plantas neotropicales, una guía concisa a las familias de plantas vasculares en la región Neotropical. Koeltz Scientific Books. Alemania. 313 pp.
- Maas-Van de Kamer H. y P. Maas. 1994. *Triuridopsis*, a new monotypic genus in Triuridaceae. *Plant Systematics and Evolution* 192: 257-262.
- Maheswari P. 1950. An Introduction the Embryology of Angiosperms. McGraw-Hill. New York. 453 pp.
- Márquez-Guzmán J, M. Engleman, A. Martínez-Mena, E. Martínez y C. Ramos. 1989. Anatomía reproductiva de *Lacandonia schismatica* (Lacandoniaceae). *Ann. Missouri Bot. Gard.* 76: 124-127.
- Márquez-Guzmán J, S. Vázquez-Santana, M. Engleman, A. Martínez-Mena y E. Martínez. 1993. Pollen development and fertilization in *Lacandonia schismatica* (Lacandoniaceae). *Ann. Missouri Bot. Gard.* 80: 891 – 897.
- Martínez E. y C. H. Ramos. 1989. Lacandoniaceae (Triuridales) una nueva familia de México. *Ann. Missouri: Bot. Gard.* 76: 128 – 135.
- Martínez E. y L. D. Gómez. 1994. Triuridaceae. En Davidse G., M. Sousa, A. Chater. *Flora Mesoamericana* 6. Missouri Botanical Garden. 18 – 19 pp.
- Martínez E. 1994. *Triuris* Miers. En Davidse G., M. Sousa, A. Chater. *Flora Mesoamericana* 6. Missouri Botanical Garden. 18 – 19 pp.
- Mauseth J. 1998. *Botany. An introduction to plant Biology.* Jones and Bartlett Publishers. EUA. 794 pp.
- Meerendonk J. P. M. van de. 1984. Triuridaceae. *Flora Malesiana ser. I*, 10: 109 – 121.
- Milanez F. y E. Meira. 1943. Observacoes sobre *Triuris alata* Brade. *Arq. Serv. Florestal* 2: 51-65.
- Ohga I. y Y. Sinoto. 1924. Cytological studies on *Sciaphila japonica* Mak. I. On chromosome. *Bot. Mag. (Tokyo)* 38: 202-207.

- Ohga I. y Y. Sinoto. 1932. Cytological studies on *Sciaphila japonica* Mak. II. On pollen and embryo sac development. III. On micorrhiza. Bot. Mag. (Tokio) 46: 311-315.
- Quiroz S. 1990. Estudio estructural del desarrollo del microsporangio de *Lacandonia schismatica* (Lacandoniaceae). Tesis de Licenciatura (Biólogo), Facultad de Ciencias, UNAM. México, D.F. 47 pp.
- Rao A. y D. Verma. 1976. Materials towards a monocot flora of Assam V: Triuridaceae. Bull. Bot. Surv. India 18: 1-48.
- Renner S. y R. Ricklefs. 1995. Dioecy and its correlates in the flowering plants. American Journal of Botany 82: 596-606.
- Rübsamen-Weustenfeld T. 1991. Morphologische, embryologische und systematische untersuchungen an Triuridaceae. E. Schweizerbar'sche Verlagsbuchhandlung, Stuttgart. 113 pp.
- Rudall P. 2003. Monocot Pseudanthia Revisited: Floral Structure of the Mycoheterotrophic Family Triuridaceae. International Journal of Plant Sciences 164: S307-S320.
- Rudall P. y R. Bateman. 2006. Morphological Phylogenetic Analysis of Pandanales: Testing Contrasting Hypotheses of Floral Evolution. Systematic Botany 31(2): 223-238 pp.
- Standley P. y J. Steyermark. 1958. Triuridaceae. Fieldiana Botany 24 1: 86 - 90.
- Simpson M. 2006. Plant Systematics. Elsevier Inc. Canada. 590 pp.
- Singh G. 2004. Plant Systematics. Science Publishers. USA. 561 pp.
- Takhtajan A. 1980. Outline of the classification of flowering plants (Magnoliophyta). Bot. Rev. 46: 225-359.
- Tomlinson P. 1982. Helobiae (Alismatidae). In: Metcalfe C. Anatomy of the Monocotyledons VII. Clarendon Press. Oxford. 466-559 pp.

- Vázquez-Santana. 1992. Estudio estructural e histoquímico de *Lacandonia schismatica* Martínez-Ramos (Lacandoniaceae). Familia, género y especie nuevos para la ciencia. Tesis de Maestría (Biólogo), Facultad de Ciencias, UNAM. México, D.F. 95 pp.
- Vázquez-Santana S., E. Engleman, A. Martínez-Mena y J. Márquez-Guzmán. 1998. Ovule and seed development of *Lacandonia schismatica* (Lacandoniaceae). *American Journal of Botany* 85 (3): 299 – 304.
- Vergara-Silva F., S. Espinosa Matías, B. A. Ambrose, S. Vázquez-Santana, A. Martínez Mena, J. Márquez-Guzmán, E. Martínez, E. M. Meyerowitz y E. R. Álvarez-Buylla. 2003. Inside-out flowers characteristics of *Lacandonia schismatica* evolved at least before its divergence from a closely related taxon, *Triuris brevistylis*. *International Journal of Plant Sciences* 164(3): 345 – 357.
- Waechter J. 1984. Ocorrência da familia Triuridaceae no Rio Grande do Sul, Brasil. *Iheringia. Sér. Bot.* 32: 3 – 8.
- Watson L. y M. Dallwitz. 1992. The families of flowering plants: descriptions, illustrations, identification and information retrieval. *Transactions of the Linnean Society of London* 21: 10-28.