



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA  
DE MEXICO

2  
2<sup>es</sup>

FACULTAD DE CIENCIAS  
DIVISION DE ESTUDIOS DE POSGRADO

ANATOMIA E HISTOQUIMICA DE LOS INDIVIDUOS  
MASCULINOS DE *Triuris alata* BRADE.  
(TRIURIDACEAE)

**T E S I S**

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

P R E S E N T A :

BIOL. SILVIA ESPINOSA MATIAS

DIRECTORA DE TESIS:

DRA. GUADALUPE JUDITH MARQUEZ GUZMAN

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN



## **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 está 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.

ESTA TESIS SE REALIZO EN EL LABORATORIO DE CITOLOGIA DE LA FACULTAD DE CIENCIAS DE LA UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO, BAJO LA DIRECCION DE LA DOCTORA GUADALUPE JUDITH MARQUEZ GUZMAN. Y FORMA PARTE DEL PROYECTO SOBRE BIOLOGIA REPRODUCTIVA DEL ORDEN TRIURIDALES DE LA SELVA LACANDONA DE CHIAPAS, MEXICO. PARA LA REALIZACION Y TERMINO DE LA MISMA, FUE APOYADA POR LA DIRECCION GENERAL DE ASUNTOS DEL PERSONAL ACADEMICO (DGAPA) CON LA BECA ESTUDIOS-TESIS DE MAESTRIA No. 3861, POR EL CONSEJO NACIONAL DE CIENCIA Y TECNOLOGIA (CONACYT) CON LA BECA REG.-81544 REFERENCIA DB/C/066567 Y PARCIALMENTE APOYADA POR EL INSTITUTO NACIONAL DE ECOLOGIA (INE) DEPENDIENTE DE LA SECRETARIA DE DESARROLLO SOCIAL (SEDESOL).

SUSTENTADA ANTE EL SIGUIENTE JURADO:

DRA. GUADALUPE JUDITH MARQUEZ GUZMAN  
M. en C. NELLY DIEGO PEREZ  
DR. GUILLERMO LAGUNA HERNANDEZ  
M. en C. BEATRIZ LUDLOW WEICHERS  
DR. SERGIO RAFAEL SILVESTRE CEVALLOS FERRIZ  
DRA. MARGARITA COLLAZO ORTEGA  
DRA. PATRICIA DAVILA ARANDA

A MIS PADRES  
FRANCISCO ESPINOSA Y SABINA MATIAS  
POR SU APOYO Y CARIÑO

A MIS HERMANOS  
ROSA, ROBERTO, ANGELES  
POR LOS BUENOS MOMENTOS

A IÑIGO, MOISES  
NISAYE, MARIANA, LAURA Y MARICRUZ

## AGRADECIMIENTOS

A la Dra. Gpe. Judith Márquez Guzmán, directora de esta tesis, por su invaluable apoyo, orientación e interés en mi formación académica.

A la Dra. Gpe. Judith Márquez Guzmán, M. en C. Nelly Diego Pérez y Dr. Guillermo Laguna Hernández, integrantes del Comité Tutorial que evaluó el desarrollo del trabajo de investigación, por sus valiosas sugerencias, comentarios y orientación.

A la Dra. Gpe. Judith Márquez Guzmán, M. en C. Nelly Diego Pérez, Dr. Guillermo Laguna Hernández, M. en C. Beatriz Ludlow Weichers, Dr. Sergio Rafael Silvestre Cevallos Ferriz, Dra. Margarita Collazo Ortega y Dra. Patricia Dávila Aranda; miembros del jurado que evaluó esta tesis. A todos ellos les agradezco las valiosas sugerencias, críticas y correcciones que enriquecieron esta tesis.

A la Dirección General de Asuntos del Personal Académico (DGAPA), al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) y al Instituto Nacional de Ecología (INE) dependiente de la Secretaría de Desarrollo Social (SEDESOL) por el apoyo brindado.

Al Biól. Braulio Centeno Urruiza por su valiosa asesoría técnica.

A los integrantes del laboratorio de Microcine de la Facultad de Ciencias U.N.A.M., especialmente al M. en C. Alejandro Martínez Mena por el excelente trabajo fotográfico que ilustra los resultados de esta tesis.

A la M. en C. Yolanda Ornelas del Instituto de Ciencias del Mar y Limnología de la U.N.A.M. por las facilidades prestadas para el uso del microscopio electrónico de barrido.

A la P. de Biól. Verena Rubio Godoy por su valiosa ayuda en la traducción del alemán.

A los pobladores de la comunidad El Censo, en especial al guía, Sr. Juan Hernández Guzmán por su invaluable ayuda durante las colectas del material biológico.

A Felipe Cruz, José Antonio Hernández, Enrique Martínez, Guillermina Murguía, Margarita Ponce, Armando Rincon, Ricardo Wong, y Sonia Vázquez, por su ayuda y compañía durante el trabajo de campo. A todos ellos, Muchas gracias.

A los compañeros del laboratorio de Citología de la Facultad de Ciencias de la U.N.A.M., por hacer del laboratorio un lugar agradable, por su apoyo anímico, y actitud solidaria.

A Alicia Brechú, Felipe Cruz, Dalila Fragoso, Guillermina Murguía, Citlali Nuñez, Fabiola Raygadas, Ricardo Wong, Sonia Vázquez y a los esposos Rodolfo Hernández y Ma. Eugenia Villagrán, a todos ellos por la amistad siempre demostrada.

# INDICE

	PAGS.
I. Lista de láminas, figuras, mapas, y cuadros.....	1
II. Resumen.....	ii
1. Introducción.....	1
2. Antecedentes.....	5
2.1. Conceptos generales.....	5
2.1.1. Características de los órganos reproductores masculinos.....	5
2.1.2. Microsporogénesis.....	6
2.1.3. Pared del grano de polen.....	6
2.1.4. Pared de la antera.....	7
2.1.5. Palinología.....	8
2.1.6. Anatomía vegetativa.....	8
2.1.7. Micorrizas.....	9
2.2. Estudios en la familia Triuridaceae Lindley.....	10
2.2.1. Ubicación taxonómica de la familia Triuridaceae.....	10
2.2.2. Características morfológicas de la familia Triuridaceae.....	11
2.3. Estudios anatómicos y morfológicos en <i>Triuris</i> Miers.....	13
2.3.1. Organos reproductores masculinos.....	13
2.3.1.1. Morfología de los órganos reproductores masculinos.....	13
2.3.1.2. Anatomía y embriología de los órganos reproductores masculinos.....	15
2.3.2. Organos Vegetativos.....	16
2.3.2.1. Morfología de los órganos vegetativos.....	16

2.3.2.2. Anatomía de los órganos vegetativos.....	17
2.3.3. Micorrizas en <i>Triuris</i> Miers.....	19
3. Objetivos .....	20
3.1. Objetivo general.....	20
3.1.1. Objetivos particulares.....	20
4. Materiales y Métodos.....	21
4.1. Fijación.....	21
4.2. Inclusión.....	21
4.2.1. Inclusión en parafina (paraplast).....	22
4.2.1.1. Pruebas histoquímicas.....	22
4.2.2. Inclusión en JB-4.....	23
4.2.3. Inclusión en Epon 812.....	24
4.3. Microscopia electrónica de transmisión (MET).....	25
4.4. Microscopia electrónica de barrido (MEB).....	25
4.5. Tinción micorrizas V-A.....	26
4.6. Disociación de tejidos.....	26
4.7. Fotomicroscopia.....	26
5. Resultados.....	27
5.1. Observaciones de campo.....	27
5.2. Organos reproductores.....	27
5.2.1. Morfología de las flores masculinas.....	27
5.2.2. Desarrollo del botón floral.....	33
5.2.3. Desarrollo de la pared de antera.....	33
5.2.4. Microsporogénesis.....	34
5.2.5. Palinología.....	45
5.2.6. Anatomía del androceo.....	45
5.2.7. Anatomía del andróforo.....	45



5.2.8. Histoquímica del andróforo y androceo.....	46
5.3. Organos vegetativos.....	53
5.3.1. Morfología de los órganos vegetativos.....	53
5.3.2. Anatomía de los órganos vegetativos.....	54
5.3.3. Características del hongo micorrizico.....	63
5.3.4. Histoquímica de los órganos vegetativos.....	63
5.3.5. Histoquímica del hongo micorrizico.....	65
6. Discusión.....	72
6.1. Observaciones de Campo.....	73
6.2. Morfología de los órganos reproductores.....	74
6.3. Anatomía de los órganos reproductoras.....	77
6.4. Morfología de los órganos vegetativos.....	81
6.5. Anatomía de los órganos vegetativos.....	82
6.6. Micorrizas.....	84
6.7. Cuadros comparativos entre las especies de <i>Triuris</i> .....	87
7. Conclusiones.....	92
8. Bibliografía citada.....	94

I. LISTA DE LAMINAS, FIGURAS, MAPAS Y CUADROS

	PAGS.
Figura 1 .....	3
Mapa I .....	4
Lámina I. Morfología de las flores masculinas (Figs. 1A a 7).....	30
Lámina II. Morfología de los órganos reproductores (Figs. 8 y 9)....	32
Lámina III. Desarrollo de la pared de la antera (Figs. 10 a 16)....	38
Lámina IV. Microsporogénesis (Figs. 17 a 24).....	40
Lámina V. Microsporogénesis (Figs. 25 a 32).....	42
Lámina VI. Microsporogénesis (Figs. 33 a 38).....	44
Lámina VII. Palinología (Figs. 39 a 42).....	48
Lámina VIII. Palinología (Figs. 43 a 46).....	50
Lámina IX. Anatomía e histoquímica del andróforo y androceo (Figs. 47 a 54).....	52
Lámina X. Morfología y anatomía del tallo (Figs. 55 a 62).....	58
Lámina XI. Anatomía del rizoma (Figs. 63 a 70).....	60
Lámina XII. Anatomía de la raíz (Figs. 71 a 76).....	62
Lámina XIII. Características del hongo micorrízico (Figs. 77 a 79)...	67
Lámina XIV. Características del hongo micorrízico (Figs. 80 a 85)...	69
Lámina XV. Histoquímica de los órganos vegetativos y hongo micorrízico (Figs. 86 a 94).....	71
Cuadro 1: Anatomía reproductiva.....	87
Cuadro 2: Anatomía vegetativa.....	89

## II. RESUMEN

*Triuris alata* Brade. (Triuridaceae Lindley) es una planta saprófita, dioica que crece en la materia orgánica en descomposición. El estudio estructural e histoquímico de los individuos masculinos de *T. alata* se realizó en diferentes etapas de desarrollo. Se colectó material biológico en sitios localizados en los bordes de la Reserva de Montes Azules en la Selva Lacandona de Chiapas. El material en los sitios de la colecta se fijó en FAA y glutaraldehído 3.2 % en amortiguador de s. collidina (0.1 M., pH=7.2) a 4°C; en el laboratorio se incluyó en paraplast, JB-4 y Epon 812, se seccionó en microtomo rotatorio y ultramicrotomo respectivamente, algunos cortes se tificaron con azul de toluidina, otros fueron contrastados para observaciones en el microscopio electrónico de transmisión. En el material incluido en parafina se realizaron diversas pruebas histoquímicas en estructuras vegetativas y reproductivas. En el material fresco se realizaron mediciones, tinciones específicas para micorrizas, y disociación de tejidos en estructuras vegetativas. Material representativo de las distintas etapas del desarrollo se observó al microscopio fotónico y se fotografió. Otra parte del material fue procesado para observaciones en el microscopio electrónico de barrido. Durante el desarrollo de la flor los resultados indican que en las primeras etapas, cuando la protodermis del meristemo floral se ha diferenciado en epidermis, el tejido meristemático sufre un crecimiento asincrónico formando lóbulos, que corresponden a los primordios de las anteras y del andróforo. El andróforo desde que surge no presenta cambios morfológicos sólo crece, está constituido principalmente por células parenquimáticas. El desarrollo de la pared de la antera es del tipo monocotiledóneo y comprende a la epidermis, endotecio, una capa media y el tapete de tipo secretor. La microsporogénesis es del tipo sucesivo formando tétradas isobilaterales. El grano de polen listo para la dispersión es tricelular con inclusiones de polisacáridos insolubles en el citoplasma, apolar, intacto e inaperturado con exina delgada y ornamentaciones en forma de verrugas, la lintina está engrosada y bien formada. Aún cuando el estomio o línea de dehiscencia longitudinal extrorsa es funcional algunos granos de polen probablemente germinan dentro de la antera. El sistema vascular de las estructuras vegetativas está reducido, la endodermis de dichas estructuras presenta engrosamientos en las paredes tangenciales y radiales con reacción positiva a la prueba de proteínas. Los estratos externo y medio del córtex medio de la raíz presentan endomicorrizas vesículo-arbuscular las hifas forman ovillo muy compactos, no se pudieron observar arbusculos. Las endomicorrizas presentan inclusiones de polisacáridos insolubles y taninos.

# 1. INTRODUCCION

*Triuris alata* Brade. (Fig. 1) es una planta saprófita que pertenece a la familia Triuridaceae del orden Triuridales (Dahlgren, et al. 1985; Cronquist, 1981, 1988).

El género *Triuris* (de las palabras Griegas tri (tres) y oura (cola) en alusión a los tres apéndices caudados de los tépalos.) está integrado por tres especies: *T. hyalina* Miers., *T. hexophthalma* Maas y *T. alata*. Se distribuyen en las zonas tropicales de el sur de México (Mapa 1), Guatemala, Colombia, Venezuela, Guyana y Brasil (Maas y RübSamen, 1986; Maas, 1988)

-----

\* Recientemente apareció el volumen 6 de Flora Mesoamericana el cual incluye a la familia Triuridaceae (Martínez, S.E. 1994. *Triuris* Miers. En: G. Davidse, M. Sousa, & A.O. Chater (eds.). Flora Mesoamericana 6: 18-19. México). En este trabajo Martínez (1994) reporta la presencia de *Triuris brevistylis* J.D. Smith en la selva Lacandona de Chiapas, México. *T. brevistylis* fue colocada en sinonimia con *T. hyalina* Miers. por Maas y RübSamen (1986) y RübSamen-Weustenfeld (1993). Martínez (1994) reconoce a *T. brevistylis* como especie separada de *T. hyalina* y establece que es la única especie de la familia Triuridaceae reportada para Mesoamérica (México y Guatemala). Por lo tanto es muy probable que la especie reportada en este trabajo como *T. alata* corresponda en realidad a *T. brevistylis*. Sin embargo cuando apareció Flora Mesoamericana el manuscrito de esta tesis había concluido por tal motivo el trabajo de Martínez (1994) no fue ampliamente considerado en esta investigación. Ejemplares del material con el que se realizó este trabajo han sido enviados a los taxónomos especialistas de la familia para su identificación, misma que será usada en el artículo de investigación que se está elaborando.

-----

En general para todas las especies solo hay trabajos que describen la morfología externa de las plantas, siendo pocos los trabajos sobre la anatomía vegetativa y embriología. El primer trabajo realizado con *T. alata* (Fig. 1) corresponde a la descripción de la especie realizada por Brade (1943), en el mismo año Milanez y Meira (1943) estudiaron la anatomía de los órganos vegetativos. Algunos trabajos relacionados con la embriología son los de Rüksamen (1986, en Maas y Rüksamen, 1986) y Rüksamen-Weustenfeld (1991). En este último además de recopilar información hizo un estudio sobre la anatomía, embriología y morfología del polen y de las semillas de *T. hyalina*, *T. hexophthalma* y *T. alata*. En cuanto a *T. alata* Rüksamen-Weustenfeld (1991) señala que se desconoce la microsporogénesis, megasporogénesis, gametogénesis y las características del grano de polen; menciona que sólo se conoce la morfología externa de las semillas. Otros datos referentes a la embriología son los aportados por Espinosa-Matias (1991), quién estudió este aspecto de las plantas femeninas de *T. alata*. En la presente investigación se abordó el estudio de la morfología, anatomía vegetativa, embriología e histoquímicas de las plantas masculinas de *T. alata*, cuyos resultados permitirán compararla con los que ya existen sobre el género *Triuris*.

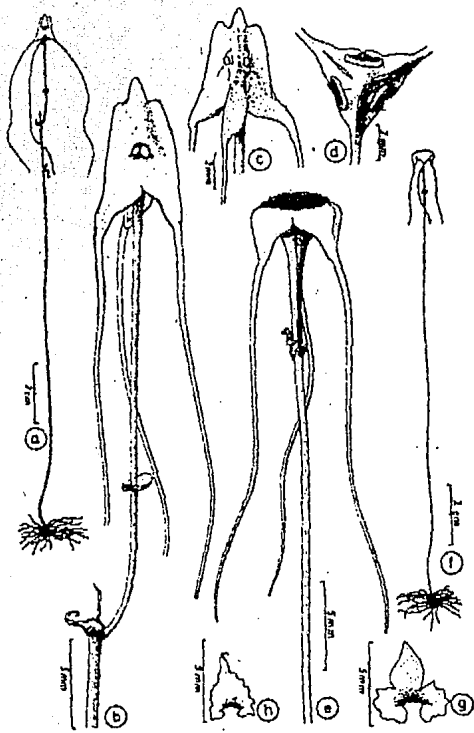
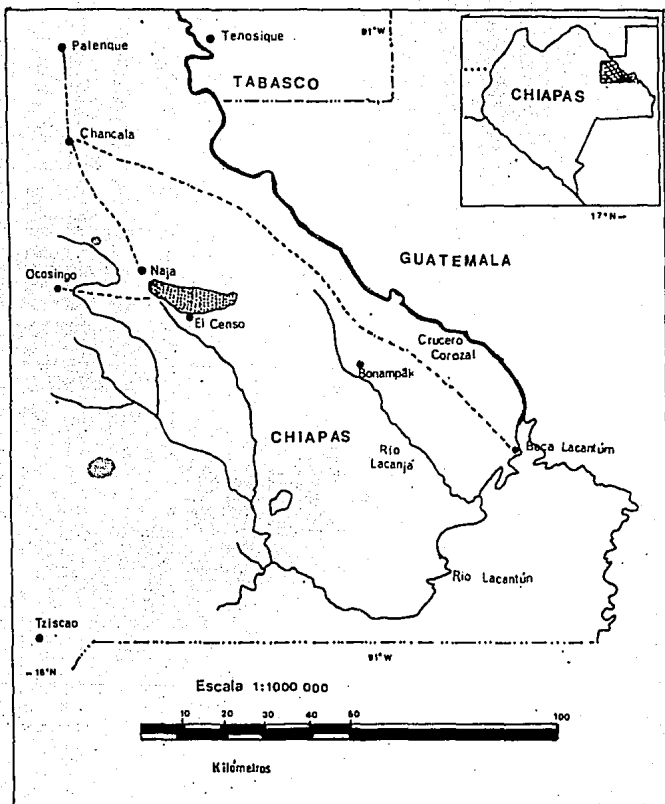


Fig. 1: *Triuris alata* (a-h dibujos de Brade, (1943)); a, b dos plantas masculinas; c, d dos flores masculinas vistas de lado y hacia abajo; e, f plantas femeninas; g, h brácteas



Mapa 1: Ubicación geográfica de los sitios de colecta de *T. alata* en la Selva Lacandona de Chiapas, México

## 2. ANTECEDENTES

### 2.1. CONCEPTOS GENERALES

#### 2.1.1. CARACTERISTICAS DE LOS ORGANOS REPRODUCTORES MASCULINOS

Los órganos reproductores masculinos de la flor son los estambres, que reciben el nombre colectivo de androceo. Un estambre comunmente está formado por el filamento, que porta en su extremo apical a la antera (Jensen y Salisbury, 1988). Una antera generalmente es tetrasporangiada, cada lóbulo contiene dos microsporangios separados por tejido estéril. En las anteras maduras se produce la dehiscencia para permitir la salida del polen, la ruptura de la pared de la antera se realiza por la zona del estomio (Esau, 1972, 1982). De acuerdo a la posición de la línea de dehiscencia en el microsporangio, las anteras se dividen en introrsas cuando la dehiscencia está dirigida hacia el interior de la flor y extrorsa cuando está dirigida hacia el exterior de la flor. La línea de dehiscencia puede ser longitudinal o transversal (Dahlgren, et al. 1985).

Se utiliza el término de "flores estaminadas" para indicar a las flores que solo tienen estambres y carecen de carpelos y el término "flores carpeladas" se utiliza cuando las flores sólo poseen carpelos y carecen de estambres. La condición dioica se presenta cuando se producen flores estaminadas y carpeladas en plantas separadas (Dahlgren, et al. 1985; Foster y Gifford, 1988; Esau, 1982; Jensen y Salisbury, 1988).



### 2.1.2. MICROSPOROGENESIS

Antes de la antesis la antera esta conformada por tejido meristemático rodeado por la protodermis. Durante el desarrollo, el tejido meristemático se diferencia en la protodermis y el arquesporio éste puede estar formado por una o varias capas de células. El arquesporio se divide periclinalmente originando a la célula parietal primaria y a la célula esporógena esta última sufre mitosis formando a las células madres de las microsporas (CMM). Las CMM se rodean por una gruesa pared de calosa, y por meiosis dan origen a las tétradas de microsporas. Antes de separarse de la tétrada cada microspora inicia la síntesis de su propia pared celular, misma que continua hasta la madurez del grano de polen (Maheshwari, 1950; Bhojwani y Bhatnagar, 1981; Shivanna y Johri, 1985).

### 2.1.3. PARED DEL GRANO DE POLEN

El desarrollo de la pared del grano de polen comienza cuando las tétradas están aún envueltas en la capa de calosa (Bhojwani y Bhatnagar, 1981). En el grano de polen maduro la pared está conformada por la exina e intina. La exina puede ser uniforme o estar subdividida en la sexina externa y la nexina interna. La sexina es la zona esculturada, se adhiere a la nexina por medio de los báculos que pueden ser libres o estar unidos arriba formando el tectum. El componente químico más importante de la exina es la esporopolenina (polímero de carotenos) resistente a diversos agentes químicos, a las altas temperaturas y a los agentes de la descomposición natural de la materia orgánica. Cuando la pared de calosa ha sido degradada se inicia la síntesis de la intina que, más adelante aumenta en espesor.

La Intina esta compuesta de pectina y celulosa (Praglowski, 1971; Esau, 1982; Shivanna y Johri, 1985)

#### 2.1.4. PARED DE LA ANTERA

Con base en el origen y presencia de la (s) capa(s) media (s) se han descrito cuatro tipos de desarrollo de la pared de la antera: básico, dicotiledóneo, monocotiledóneo y reducido (Davis, 1966).

La pared de la antera madura comprende de afuera hacia adentro a la epidermis, endotecio, capa(s) media(s) persistente(s) o efímera(s) y el tapete (Maheshwari, 1950; Davis, 1966; Bhojwani y Bhatnagar, 1981). La epidermis tiene la función de protección. Las células del endotecio alcanza su máximo desarrollo cuando la antera esta lista para liberar el polen, la pared celular de las células del endotecio presenta engrosamientos en forma de banda que al deshidratarse se rompen facilitando la salida de los granos de polen; en las células de la región del estomio no se presentan dichos engrosamientos. La(s) capa(s) media(s) suele(n) ser efímera(s) y casi siempre se aplasta(n). El tapete está compuesto generalmente por una sola capa de células de citoplasma denso y núcleos muy prominentes. Es una capa celular altamente especializada, rodea totalmente al tejido esporógeno y controla procesos bioquímicos que tienen lugar en este tejido e interviene en la nutrición de los granos de polen. Se conocen dos tipos de tapete: secretor o glandular y ameboido o periplasmoidal. En el primer caso el citoplasma se encuentra en gran actividad durante la meiosis, al término de este proceso las células del tapete comienzan a colapsarse, sus paredes se lisan y el citoplasma se vierte dentro del lóculo, donde algunos de sus

materiales se depositan como una capa externa sobre los granos de polen aún jóvenes. En el segundo caso el citoplasma se encuentra intacto cuando se produce la lisis de las paredes; los contenidos citoplásmicos de las células tapetales se fusionan formando el periplasmodio que se introduce entre los granos de polen en desarrollo y permanece hasta su madurez, al término de la cual los restos citoplásmicos también se depositan sobre la pared del grano de polen (Bhojwani y Bhatnagar, 1981; Chapman 1987).

### 2.1.5. PALINOLOGIA

Los datos palinológicos se derivan de las características del grano de polen maduro como son: el arreglo que presentan (mónadas, diádas, tétradas o políadas), forma y tamaño de los granos de polen, número, forma y posición de aberturas y las ornamentaciones de la exina (Walker y Doyle, 1975; Stuessy, 1990). Una de las aplicaciones que se ha dado a los datos palinológicos ha sido en la taxonomía, para establecer relaciones filogenéticas o de similitudes morfológicas entre géneros y especies. Recientemente con el uso de nuevas técnicas de estudio, como los microscopios electrónicos de transmisión y de barrido, los datos palinológicos han permitido establecer relaciones filogenéticas por arriba de la categoría de familia (Stuessy, 1990; Blackmore y Barnes, 1991)

### 2.1.6. ANATOMIA VEGETATIVA

Los tejidos vegetales son el producto de divisiones celulares y de un proceso de diferenciación que sufren las células meristemáticas. En las plantas vasculares dichos tejidos están organizados formando tres

sistemas de tejidos: dérmico, vascular y fundamental; arreglados en los órganos vegetativos (raíz, tallo, y hoja) y reproductivos (flor, fruto y semilla). El sistema de tejido dérmico es la cubierta externa, su función es la protección, y la regulación de la entrada y salida de materiales. El sistema de tejidos vasculares tiene la función de transportar agua y nutrientes. El tejido fundamental interviene en el almacenamiento de nutrientes y en la fotosíntesis. (Cronquist, 1969; Esau, 1972, 1982; Cortés, 1985; Jensen y Salisbury, 1988).

#### 2.1.7. MICORRIZAS

Las micorrizas son asociaciones simbióticas mutualistas que se desarrollan entre las raíces de las plantas y ciertos hongos del suelo. Los hongos colonizan el córtex de las raíces estableciendo relaciones biotróficas (Barea, *et al.* 1989). De acuerdo con la relación entre el hongo y las células del córtex, las micorrizas se dividen en ecto y endomicorrizas. En el primer caso el hongo cubre la superficie de la raíz y penetra en los espacios intercelulares; en las endomicorrizas el hongo forma un manto inconspicuo e invade el interior de la célula (Nelsen, 1987).

Durante el complejo ciclo de vida el hongo da origen a terminaciones globosas u ovoides llamadas vesículas, o terminaciones ramificadas en forma de árbol llamadas arbuscúlos, cada una de estas terminaciones tiene diferente posición y función en la raíz (Bonfante-Fasolo, 1984). Cuando se presentan vesículas y arbuscúlos en la raíz la micorriza es llamada vesículo-arbuscúlar, sin embargo pueden no estar presentes los arbuscúlos y recibir el mismo nombre (Varela com.

pors.). La producción intracelular e intercelular de vesículas se inicia durante la penetración del hongo, generalmente las vesículas se forman en la capa externa del córtex de raíces con alto grado de infección, la función de las vesículas es almacenar nutrientes. Después de iniciada la infección se forman los arbuscúlos en células del córtex cercanas al cilindro central. Los arbuscúlos son las primeras estructuras involucradas en la transferencia bidireccional de nutrientes entre el hongo y la planta. Los arbuscúlos son de vida corta y al término de su actividad las ramas arbusculares se colapsan, formando una densa masa irregular compuesta por restos del citoplasma del hongo y de la célula hospedera (Brown y King, 1991; Bonfante-Fasolo, 1984). Se ha señalado que los hongos vesículo-arbuscular (V-A) no producen alteraciones en la morfología de la raíz (Barea, et al. 1989; Brown y King, 1991).

## 2.2 ESTUDIOS EN LA FAMILIA TRIURIDACEAE LINDLEY.

### 2.2.1. UBICACION TAXONOMICA DE LA FAMILIA TRIURIDACEAE

Con base en los estudios anatómicos, morfológicos, químicos, cromosómicos, palinológicos, geográficos etc. que realizaron Dahlgren et al. (1985), ubican a la familia Triuridaceae dentro del orden Triuridales, superorden Triuridiflorae. A diferencia de Dahlgren et al. (1985), Cronquist (1981, 1988) señala que las familias Triuridaceae y Petrosaviaceae pertenecen al orden Triuridales, Martínez y Ramos (1989) incluyen a la familia Lacandoniaceae en este mismo orden. Estas familias se caracterizan por presentar semillas con endospermo bien desarrollado, gineceo

apocárpico, y hábito saprófito.

La familia Triuridaceae esta conformada por 7 géneros: *Andruris* Schlechter., *Hyalisma* Champ., *Seychellaria* Hemsl., *Sciaphila* Blume., *Soridium* Miers., *Peltophyllum* Gardner., y *Triuris* Miers y alrededor de 80 especies, todas son plantas saprófitas y viven sobre la materia orgánica en descomposición de las zonas tropicales y subtropicales del mundo (Giesen, 1938; Tomlinson, 1982; Dahlgren, et al., 1985; Maas y RübSamen, 1986; Maas y Maas, 1987; Maas, 1988).

## 2.2.2. CARACTERISTICAS MORFOLOGICAS DE LA FAMILIA TRIURIDACEAE

Las plantas de la familia Triuridaceae no contienen clorofila siendo generalmente de color rosa, morado o pardo. Miden de 2 a 10 ó 30 cm de alto. El tallo aéreo es filiforme y hialino, surge de los rizomas, el tallo carece de estomas o estructuras glandulares. El rizoma es de color pardo y mide de 0.5 a 0.8 cm de largo. Las raíces también de color pardo miden de 5 a 8 cm de largo, son glabras o con escasos pelos radicales. Las células del córtex están infestadas por hifas de endomicorrizas. En las estructuras vegetativas (raíz, tallo aéreo y rizoma) el sistema vascular está reducido. Las partes florales de acuerdo con Tomlinson (1982) son trimeras. El perianto esta dividido en 3 a 6 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. Las plantas pueden ser perfectas (*Sciaphila* y *Andruris*), monoicas (*Sciaphila* y *Soridium*) o dioicas (*Peltophyllum* y *Triuris*). En el primer caso las flores tienen numerosos ovarios libres y un número variable de estambres con filamento corto, las anteras son tri

o tetralocular. En las plantas monoicas, las flores pistiladas están casi siempre en la base de la inflorescencia y son generalmente de 2 a 9; las flores estaminadas ocupan la parte superior de la inflorescencia y tienen de 2 a 4 ó 6 estambres cuyos filamentos pueden ser cortos unidos en la base o estar ausentes, las anteras son bi o tetraloculares con línea de dehiscencia longitudinal o transversal extrorsa. En las especies dioicas las flores pistiladas tienen numerosos ovarios libres insertos en un receptáculo liso; las flores masculinas presentan de 3 a 6 estambres sésiles insertos en la base del andróforo y alternando con los tépalos, en este caso, las anteras son tetraloculares con línea de dehiscencia longitudinal extrorsa. La inflorescencia puede ser un racimo de crecimiento simpodial o una cima (Giesen, 1938; Jonker, 1943; Standley, 1958; Maas y RübSamen, 1986, Maas y Maas 1987; Maas, 1988; Maas y Maas-van de Kamer, 1989).

Con base en las características morfológicas antes señaladas Giesen (1938), Jonker (1943), Dahlgren, et al., (1985), Maas y RübSamen (1986) y RübSamen-Weustenfeld (1991) coinciden en dividir a la familia Triuridaceae en las tribus Sciaphileae y Triurideae:

- I) Tribu Sciaphileae (Incluye a los géneros *Sciaphila*, *Soridium*, *Andruris*, *Hyalisma* y *Seychellaria*):
- a) las plantas son monoicas o perfectas.
  - b) el perianto está dividido desde la base en 4 ó 5 tépalos
  - c) el ápice de los tépalos termina en estructuras pilosas.
  - d) con 2 a 3 estambres sésiles o con filamentos cortos, anteras uni o tetrasporangiadas.
  - e) la línea de dehiscencia es transversal.
  - f) las flores femeninas carecen de estaminodios.

II) Tribu Triurideae (incluye a los géneros *Peltophyllum* y *Triuris*):

- a) las plantas son dioicas.
- b) el perianto está dividido en 3 ó 6 tépalos que se unen en la base.
- c) el ápice de los tépalos termina en una cauda muy evidente.
- d) con 3 estambres sésiles y anteras tetrasporangiadas.
- e) la línea de dehiscencia longitudinal.
- f) las flores femeninas algunas veces presentan estaminodios.

2.3. ESTUDIOS ANATOMICOS Y MORFOLOGICOS EN TRIURIS MIERS.

Nota: La especie colectada por Brade (1943) será indicada con un asterisco: *Triuris alata*\*.

2.3.1. ORGANOS REPRODUCTORES MASCULINOS

2.3.1.1. MORFOLOGIA DE LOS ORGANOS REPRODUCTORES MASCULINOS

2.3.1.1.1. TEPALOS

En *Triuris* el perianto de las flores masculinas está dividido en tres tépalos generalmente connatos en la base, el ápice de cada uno de los tépalos termina en una larga cauda. Los tépalos están inflexos en los botones florales, y hacia atrás en las flores maduras (Jonker, 1943; Standley, 1958; Waechter, 1984; Maas y RübSamen, 1986). En *T. hyalina*, *T. hexophthalma* y *T. alata*\* la dimensión de las caudas varía. En *T. hyalina* los tépalos son triangulares y las caudas miden de 8 a 10 y menos de 20 mm de largo; en *T. hexophthalma* las caudas miden de 20 a 30 mm de largo (Jonker, 1943; Standley, 1958; Maas y RübSamen, 1986; Maas, 1988; Maas y Maas-van de Kamer, 1989); en *T. alata*\* los tépalos son someramente triangulares mide de 3 a 4 mm de largo, y la cauda puede medir de 50 a 54 mm de largo (Brade, 1943; Maas y RübSamen, 1986). En su superficie los tépalos tienen estructuras de



aparición glandular (Tomlinson, 1982) que junto con los tres largos apéndices caudados, sirven para atraer a los polinizadores (Maas, 1979 en: Larsen, 1979; Maas y Rüksamen, 1986).

#### 2.3.1.1.2 ANDRÓFORO

Las flores estaminadas se caracterizan por presentar una estructura de forma cónica a deltoide llamada andróforo, en cuya base se insertan tres estambres sésiles (Standley, 1958; Maas, 1979 en: Larsen, 1979; Maas y Rüksamen, 1986; Maas y Maas-van de Kamer, 1989). Igual que en los tépalos y de acuerdo a la especie, el andróforo también presenta diferencias en su forma y dimensiones; en *T. hyalina* el andróforo es deltoide a ampliamente ovoide, de consistencia carnosa, mide de 1 a 1.5 mm de largo por 2 a 3 mm de ancho (Standley, 1958; Maas y Maas-van de Kamer, 1989); en *T. alata*\* el andróforo es deltoide, succulento, con la región apical anchamente alada, mide de 3 mm de largo por 4 mm de ancho (Brade, 1943; Maas y Rüksamen, 1986); con respecto a *T. hexophthalma* el andróforo es cónico, mide de 2.5 a 3 mm de largo por 2 a 2.5 de ancho (Maas y Rüksamen, 1986; Maas y Maas-van de Kamer, 1989).

#### 2.3.1.1.3 ANTERAS

Son características de las flores masculinas los estambres con anteras sésiles, alternando con los tépalos, y la dehiscencia longitudinal extrorsa (Tomlinson, 1982; Dahlgren, et al. 1985). Otra característica, señalada por Engler (1889) es la presencia de 2 a 4 estaminodios sésiles o con un corto filamento, situados también en la base del andróforo. Las anteras en *T. hyalina* son bitecadas (Glesen,

1938), tetraloculares, con línea de dehiscencia longitudinal extrorsa (Jonker, 1943; Standley, 1958; Dahlgren et al., 1985; Maas y RübSamen, 1986); en *T. hexophthalma* las anteras son sésiles con las tecas ampliamente separadas; en *T. alata* las anteras también son sésiles pero con las tecas unidas (Maas y RübSamen, 1986; Maas y Maas-van de Kamer, 1989).

### 2.3.1.2. ANATOMIA Y EMBRIOLOGIA DE LOS ORGANOS REPRODUCTORES MASCULINOS

Tomlinson (1982) observó que las anteras carecen de 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. Dahlgren, et al. (1985), Maas y RübSamen (1986) y RübSamen-Weustenfeld (1991) han realizado investigaciones sobre la embriología *T. hyalina* y *T. hexophthalma*. En estas especies observaron que el desarrollo de la pared de la antera es del tipo monocotiledóneo, formando cuatro capas celulares: la epidermis uniestratificada y persistente; el endotecio con engrosamientos de la pared celular en forma de U en anteras maduras; una capa media efímera y el tapete parcialmente binucleado, del tipo secretor.

En las especies antes mencionadas la microsporogénesis es sucesiva formando tétradas de microsporas de tipo isobilateral o decusada (Dahlgren, 1985; RübSamen, 1986 en: Maas y RübSamen, 1986; RübSamen-Weustenfeld, 1991). Engler (1889) indicó que el grano de polen es redondo (apolar) y liso; en contraste RübSamen-Weustenfeld (1991) menciona que el grano de polen es de globoso (apolar) a ovoide, con exina finamente reticulada o psilosa, y de 15 a 20 µm de

diámetro; inaperturado o monosulcado, con tres células cuando se dispersa.

## 2.3.2. ORGANOS VEGETATIVOS

### 2.3.2.1. MORFOLOGIA DE LOS ORGANOS VEGETATIVOS

Jonker (1943), Waechter (1984), Maas y Rüksamen (1986) coinciden al señalar que en las especies del género *Triuris* las raíces son sencillas y que surgen del rizoma, de acuerdo con Giesen (1938) y Waechter (1984) estos órganos son filiformes. En *T. hyalina*, *T. hexophthalma* y las raíces miden de 2.5 cm a 7 cm de largo (Jonker, 1943; Maas y Rüksamen, 1986; Maas y Maas-van de Kamer, 1989), surgen solitarias o según Tomlinson (1982) en pares del rizoma. Standley (1958) observó tricomas largos en la raíz de *T. hyalina*, mientras que en *T. alata*\* Milanez y Meira (1943) observaron escasos pelos esparcidos en éste órgano.

El rizoma es filiforme (Waechter, 1984), mide de 3 a 5 mm de largo (Jonker, 1943). De acuerdo con Tomlinson (1982) es totalmente glabro, aunque Milanez y Meira (1943) observaron que el rizoma de *T. alata*\* presenta escamas.

En las tres especies de *Triuris* el tallo es hialino, cilíndrico y surcado. Los surcos, en material herborizado le dan la apariencia de alado, sobre todo en *T. alata*\* (Waechter, 1984; Maas, 1988; Maas y Maas-van de Kamer, 1989), miden de 7 a 12 cm de largo. Engler (1889) menciona que algunas veces varios tallos pueden crecer juntos aunque lo normal en el género *Triuris* es que los tallos sean solitarios (Maas y Rüksamen, 1986).

Con respecto a las brácteas, éstas han sido observadas en las tres especies, y en general son lanceoladas a triangulares y semiamplexicaules (Giesen, 1938; Standley, 1958). Maas y Maas-van de Kamer (1989) mencionan que las brácteas son de consistencia carnosa y de vida corta. Jonker (1943), y Waechter (1984) mencionan que *T. hyalina* tiene de 1 a 2 hojas reducidas, parecidas a escamas dispersas en el tallo, en contraste *T. hexophthalma* y *T. alata*\* carecen de hojas dispersas en el tallo. (Brade, 1943; Maas y RübSamen, 1986).

### 2.3.2.2. ANATOMIA DE LOS ORGANOS VEGETATIVOS

Los estudios anatómicos de los órganos vegetativos realizados por Milanez y Meira (1943) en *T. alata*\* mostraron que el sistema vascular de estos órganos se encuentra muy reducido debido al hábito saprófito. La estructura histológica es muy sencilla, predomina el tejido parenquimático (Fiebrig, 1921). Milanez y Meira (1943) mencionan que la anatomía del tallo aéreo y rizoma es muy parecida y sólo se pueden diferenciar por el diámetro, que es mayor en el tallo, y por el engrosamiento de las paredes tangenciales externas de la endodermis, tal engrosamiento es conspicuo en el rizoma. A pesar de estas observaciones Tomlinson (1982) señala que tanto el rizoma como el tallo aéreo carecen de endodermis.

Ambos órganos tienen una epidermis uniestratificada que carece de estomas y tricomas, con las paredes externas cutinizadas de acuerdo con Milanez y Meira (1943), o lignificadas como lo menciona Tomlinson (1982) para *Andruris vitensis*. Milanez y Meira (1943) observaron que el córtex consiste de 4 a 8 estratos celulares que abarcan la mayor parte del órgano; el tejido vascular en ambos órganos es un solo

cilindro central que consiste del periciclo uniestratificado y los elementos conductores. En el tallo aéreo el xilema presenta elementos traqueales con engrosamientos anulares o de tipo reticulado, mientras que modificaciones del engrosamiento helicoidal son comunes en el rizoma. Coincidiendo con las observaciones de Milanez y Meira (1943), Tomlinson (1982) menciona que en estos órganos los vasos son difíciles de observar, y en contraste Dahlgren et al. (1985) señalan que los vasos están ausentes. Los elementos cribosos no pudieron ser observados con claridad por Milanez y Meira (1943), sobre este tejido Tomlinson (1982) menciona que los elementos cribosos tienen paredes delgadas. La anatomía de la raíz es aún más simple que la del tallo y rizoma. Milanez y Meira (1943) en *T. alata* observaron una epidermis uniestratificada con pocos pelos absorbentes, Tomlinson (1982) observó pelos absorbentes septados. La exodermis en corte transversal no es un estrato celular continuo (Milanez y Meira, 1943). Flebrig (1921), Milanez y Meira (1943), Tomlinson (1982) y Dahlgren, et al. (1985) mencionan que el córtex está constituido por tres estratos celulares, 2 de los cuales están invadidos por hifas de endomicorrizas. Engler (1889) y Milanez y Meira (1943) observaron que en la endodermis el engrosamiento de las paredes tangenciales externas es conspicua con respecto a la del tallo aéreo y el rizoma. El cilindro central está constituido por el periciclo uniestratificado (o biestratificado según Tomlinson, 1982), y escasos elementos traqueales y cribosos (Milanez y Meira, 1943). Estos autores pudieron observar un elemento de tubo criboso con una célula acompañante y de 1 a 3 células parenquimáticas, y en corte

transversal distinguieron de 2 a 3 elementos de vaso en el haz vascular.

### 2.3.3. MICORRIZAS EN *Triuris*. Miers.

Las micorrizas han sido encontradas en las tres especies del género *Triuris*, también se han observado micorrizas en *Sciaphila japonica*, *S. schwackoana*, *S. tenella*, *Hexuris caudata*, *H. gardnerri*, y *Triuris mayor*. Giesen (1938), Maas y Rüksamen (1986), y Rüksamen-Weustenfeld (1991) consideran que probablemente todas las especies de la familia Triuridaceae presentan esta característica.

Fiebrig (1921) y después Waechter (1984) mencionan que la ausencia de clorofila en *Triuris*, ha determinado que sea totalmente dependiente de los hongos para la obtención de sus nutrimentos, estableciéndose una fuerte dependencia fisiológica entre el hongo y la planta.

Fiebrig (1921) observó en *T. mycenoides* que las hifas forman densos glomérulos en dos estratos celulares del córtex y que los estratos que forman a la epidermis, exodermis y la adyacente a la endodermis están libres de hifas, Milanez y Meira (1943) observaron la misma distribución de las hifas en la raíz de *T. alata*\*. Además, notaron algunas diferencias entre las hifas distribuidas en el estrato adyacente a la exodermis y el estrato medio. En el primer caso observaron de 2 a 4 vesículas o dilataciones terminales esféricas mientras que en el estrato celular medio las hifas están muy enrolladas y con dilataciones terminales vermiformes de apariencia arbúscular, aunque, reconocen que debido a la fijación, probablemente estas estructuras no sean verdaderos arbúsculos.

### 3. OBJETIVOS

#### 3.1. OBJETIVO GENERAL

Estudiar la anatomía vegetativa y reproductiva de los individuos masculinos de *Triuris alata*.

#### 3.1.1. OBJETIVOS PARTICULARES

##### ESTUDIAR:

- 1) El desarrollo de la flor desde botón floral hasta la antesis.
- 2) El desarrollo de la pared de la antera.
- 3) El desarrollo del grano de polen (microsporogénesis).
- 4) La estructura del grano de polen maduro (estudio palinológico).
- 5) La anatomía, morfología e histoquímica de las estructuras vegetativas (raíz, tallo y rizoma).
- 6) La estructura y distribución de las micorrizas.

#### 4. MATERIALES Y METODOS

Se hicieron colectas de plantas de *T. alata* en los sitios conocidos como la Segunda Ampliación de El Censo y Naja, Municipio de Ocosingo, en los bordes de la Reserva de Montes Azules de la Selva Lacandona de Chiapas (Mapa 1). Las colectas se realizaron en Enero y Septiembre-Octubre de 1991 a 1993. El material biológico colectado consistió de:

a) algunos ejemplares completos con el sustrato donde crecían, los cuales fueron trasladados vivos al laboratorio de Citología de la Facultad de Ciencias, UNAM, para realizar mediciones de los órganos vegetativos y reproductivos así como para la toma de fotografías.

b) botones florales en diferente etapa de desarrollo, flores en antesis, y flores maduras fijados en los sitios de colecta.

c) órganos vegetativos (raíz, tallo y rizoma) que fueron seccionados para la fijación en fresco en los sitios de la colecta.

##### 4.1. FIJACION

Se utilizaron los siguientes fijadores:

- 1.-FAA (formol, ácido acético, etanol al 96% y agua, 1:0.5:5:3.5)
- 2.-Glutaraldehído 3.2 % en amortiguador de s. collidina (0.1 M., pH=7.2) a 4°C durante 12-18 horas.

##### 4.2. INCLUSION

El material fijado en FAA fue procesado en el laboratorio para su inclusión en parafina (paraplast) a 56°C y en plástico de JB-4. Para la observación de la estructura fina el material, fijado en glutaraldehído 3.2%, fue incluido en Epon 812.



#### 4.2.1 INCLUSION EN PARAFINA (PARAPLAST)

(Johansen, 1940)

Se tomaron muestras del material biológico, se seccionaron de 0.5 a 1 cm<sup>3</sup> y se procesaron de la siguiente forma:

- a) Se lavaron en agua corriente durante 3 horas.
- b) Se deshidrataron en alcoholes etílicos graduales: 50%, 70%, 85%, 96%, 100%, y 100% durante 2 horas en cada uno.
- c) Se preinfiltraron con paraplast-xilol (1:1), y paraplast-xilol (2:1) a 56°C durante 24 horas en cada mezcla.
- d) Se infiltraron con paraplast puro a 56°C por 24 horas.
- e) Se incluyeron en parafina pura.
- f) Los bloques fueron cortados en plano longitudinal y transversal de 8 a 10 µm de grosor con un microtomo de rotación American Optical 820
- g) Los cortes obtenidos fueron desparafinados, en éstos se realizaron diversas pruebas histoquímicas.

##### 4.2.1.1. PRUEBAS HISTOQUÍMICAS

Para el análisis histoquímico se aplicaron las siguientes pruebas histoquímicas:

- 1) APS / AZUL NEGRO DE NAFTOL (E.M. Engleman, com. pers.)  
Tinción doble para evidenciar polisacáridos insolubles en color rosa y proteínas en color azul.
- 2) ACIDO PERYODICO-REACTIVO DE SCHIFF (APS) (Curtis, 1986)  
Tife polisacáridos insolubles de color rosa intenso.

- 3) AZUL MERCURICO DE BROMOFENOL (Mazia *et al.*, 1953)  
 Tíñe proteínas de color azul.
- 4) ROJO DE ACEITE O (Curtis, 1986)  
 Tíñe reservas lipídicas y cutícula de rojo.
- 5) YODO EN YODURO DE POTASIO (LUGOL) (Johansen, 1940; Curtis, 1986)  
 Tíñe almidón de azul intenso o morado.
- 6) PERMANGANATO DE POTASIO ( $KMnO_4$ ) (Curtis, 1986)  
 Tíñe taninos de color pardo muy intenso.
- 7) CLOROYODURO DE ZINC (Jensen, 1962)  
 Tíñe celulosa y hemicelulosa de azul; la lignina, cutina y suberina de amarillo o anaranjado.

#### 4.2.2. INCLUSION EN JB-4

(Valley, 1976)

Se tomaron muestras del material biológico, se seccionaron de 0.3 a 0.5 o hasta un  $1\text{ cm}^3$  y se procesaron de la siguiente forma:

- a) Se lavaron en agua corriente por 3 horas.
- b) Se deshidrataron con acetonas graduales: 30%, 50%, 70%, 80%, 85%, 90%, 96%, 100%, y 100% 3 horas en cada uno.
- c) Se preinfiltraron con la mezcla del Componente A y catalizador durante 3 horas a temperatura ambiente.
- d) Se incluyeron en la mezcla del Componente A, catalizador, y Componente B, en ausencia de oxígeno a temperatura ambiente.
- e) Los bloques obtenidos fueron cortados en plano longitudinal y transversal de 2 a 4  $\mu\text{m}$  en un ultramicrotomo Sorvall MT2-B.
- f) Los cortes se tñieron con azul de toluidina (Locquin y Langeron, 1985).

#### 4.2.3. INCLUSION EN EPON 812

(Técnica de Santander (1969) con adaptaciones de Centeno, 1990)

Del material fijado en Glutaraldehído 3.2% se tomaron muestras, se seccionaron de 0.3 a 0.5 cm<sup>3</sup> y se procesaron de la siguiente forma:

- a) Se enjuagaron por 30 minutos (con cambios cada 5 minutos) con amortiguador de s. collidina (0.05 M., pH=7.2) más sacarosa.
- b) Se postfijaron en tetraóxido de osmio al 1% por 30 minutos.
- c) Se enjuagaron (igual que en el inciso a).
- d) Se deshidrataron con alcoholes etilicos graduales: 30%, 50%, 70%, 80%, 96%, 100% y 100% por 5 minutos en cada uno y dos cambios de óxido de propileno de 15 minutos cada cambio.
- e) Se inició la preinfiltración con óxido de propileno-Epon 812 (1:1) y óxido de propileno-Epon 812 (1:2) a temperatura ambiente por 24 horas en cada cambio.
- f) Se infiltraron con Epon 812 puro por 24 horas temperatura ambiente.
- g) Se incluyeron en Epon 812 puro.
- h) Se polimerizaron a 60°C por 48 horas.
- i) Los bloques obtenidos se cortaron en el ultramicrotomo Sorvall MT2-B con cuchillas de vidrio de 0.5-2 µm (para microscopio de luz) o con cuchilla de diamante de 60 a 90 nm (color plata para microscopio electrónico de transmisión) en plano longitudinal y transversal.
- j) Los cortes para microscopio de luz se tñieron con azul de toluidina.

#### 4.3. MICROSCOPIA ELECTRONICA DE TRANSMISION (MET)

(Desmond, 1965)

- a) Los cortes se colocaron en rejillas de cobre, cubiertas por una delgada película de formvar.
- b) Se contrastaron con acetato de uranio al 2.5% de 5 a 10 minutos citrato de plomo al 0.3% por 1 minuto.
- c) Se lavaron con agua destilada.
- d) Se observaron en el microscopio electrónico de transmisión Zeiss EM-9, y se tomaron fotomicrografías.

#### 4.4. MICROSCOPIA ELECTRONICA DE BARRIDO (MEB)

(Kessel y Shih, 1976)

- a) Los primeros pasos de la técnica se mencionan en 4.2.3. (inclusión en Epon 812).
- b) Se deshidrataron en alcoholes etílicos graduales: 30%, 50%, 70%, 80%, 96%, 100%, y 100%, durante 2 horas en cada uno, por último se colocaron en acetona al 100% durante 15 minutos.
- c) Se llevaron a punto crítico de CO<sub>2</sub> en la cámara de presión Chamber C.P.A.I.I.
- d) Se montaron en cilindros metálicos.
- e) Se cubrieron con una fina capa de oro.
- f) Se observaron y tomaron placas fotográficas en el microscopio electrónico de barrido Jeol JMS-35.

#### 4.5. TINCION PARA MICORRIZAS V-A

(Phillips y Hayman, 1970)

- a) Las raíces se colocaron frescas (o enjuagadas después de haber estado en FAA) en KOH al 10% en baño maría hasta que se ablandaron.
- b) Se enjuagaron tres veces en agua destilada durante 10 minutos en cada cambio.
- c) Se colocaron en HCl al 2% por 5 minutos a temperatura ambiente.
- d) Se decantó la solución ácida y se colocó el colorante azul de tripano al 0.05% de 2 a 3 horas a temperatura ambiente.
- e) Se lavaron en abundante agua y se montaron en jalea glicerinada

#### 4.6. DISOCIACION DE TEJIDOS

(Curtis, 1986)

- a) Los órganos vegetativos se colocaron en KOH al 5% de 3 a 5 horas a temperatura ambiente.
- b) Se lavaron con agua corriente por 15 minutos.
- c) Se montaron en jalea glicerinada.

#### 4.7 FOTOMICROSCOPIA

La observación y análisis de los cortes obtenidos se hizo en un microscopio fotónico American Optical. Se seleccionaron cortes con material de las diferentes etapas de la microsporogénesis, morfología, anatomía y ultraestructura de los órganos vegetativos y reproductivos. Se tomaron fotomicrografías en el fotomicroscopio Olympus BH-2.

## 5. RESULTADOS

### 5.1. OBSERVACIONES DE CAMPO

Las plantas de *Triuris alata* crecen en sitios de alta humedad con penumbra permanente, como los contrafuertes de los árboles y oquedades donde se acumula la materia orgánica en avanzado estado de descomposición, generalmente las plantas están cubiertas por hojorazca de la vegetación circundante (Fig. 1A). Las colectas se realizaron solamente en dos épocas del año, enero y septiembre-octubre. Durante las colectas se observó que las plantas femeninas son abundantes en enero-febrero, con alta densidad de la población. En esta época del año se presentan flores en todas las etapas del desarrollo. Mientras que las plantas masculinas se presentan principalmente en agosto-septiembre y muy pocas en octubre, la densidad de la población es significativamente menor (en una área aproximada de 5 m<sup>2</sup> se encontraron de 2 a 1 ó a veces ninguna planta masculina) que la de las plantas femeninas. De esta forma cuando las plantas masculinas aparecen, las femeninas son pocas y sólo algunas se observan en antesis, la mayoría presenta frutos.

### 5.2. ORGANOS REPRODUCTORES

#### 5.2.1. MORFOLOGIA DE LAS FLORES MASCULINAS

El botón floral está cubierto por una bráctea que permanece hasta poco antes de la antesis. (Fig. 2). Internos a la bráctea, y cuando está degenera, se observa que el meristemo floral está también cubierto por tres tépalos incoloros que miden de 2 a 3 mm en la base y de 1.7 a 2.3 de mm de largo. Basalmente están unidos, son

deltados y terminan en un apéndice caudal largo que se extiende a medida que la flor madura (Fig. 3). La cauda llega a medir de 1.5 a 2.5 mm según el grado de madurez de la flor. En los botones florales las caudas están muy enrolladas dando la apariencia de estrella a los botones florales (Fig. 4). Las flores son trimeras, miden de 33 a 35 mm de una cauda a otra, con un pedicelo poco desarrollado; al término de la floración hay restos de la bráctea en la base del pedicelo (Fig. 5). El andróforo mide de 2.3 a 2.6 mm en la base y de 2.5 a 3.2 mm de altura; es incoloro y de consistencia carnosa, ligeramente deltoide a obcordiforme, en la región apical los bordes del andróforo son alados (Fig. 6), mientras que en la región basal se observan tres cavidades casi circulares que alternan con los tépalos, y donde se insertan los estambres sésiles. Las anteras presentan numerosas papilas (Figs. 6 y 8 MEB). Cada lóculo de la antera tienen una línea de dehiscencia longitudinal extrorsa (Fig. 9 MEB).

En la inflorescencia la maduración de las flores y de las anteras puede ser asincrónica, algunas anteras presentan alguno de los lóculos abortado (Fig. 7).

L A M I N A I  
MORFOLOGIA DE LAS FLORES MASCULINAS

Fig. 1: *Triuris alata* en su hábitat. Escala = 0.8 mm.

Fig. 2: Botón floral: primeras etapas del desarrollo. Escala= 0.9 mm.

Fig. 3: Flor en antesis: tépalos basalmente unidos (flecha).  
Escala= 2.5 mm.

Fig. 4: Tépalos con las caudas inflexas (flecha). Escala= 0.8 mm.

Fig. 5: Flores masculinas maduras mostrando los apéndices caudados  
(flechas grandes). Flor trímera (flecha chica). Escala= 1 mm.

Fig. 6: Zona apical alada del andróforo (flecha blanca). Antera  
(flecha negra). Escala= 0.1 mm.

Fig. 7: Antera: uno de los lóculos abortado.  
Escala= 0.18 mm.

AN: andróforo

Br: bráctea

Fl: flor

At: antera

Ca: cauda

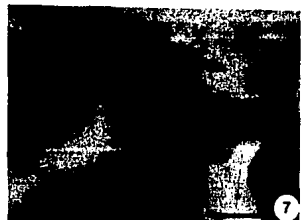
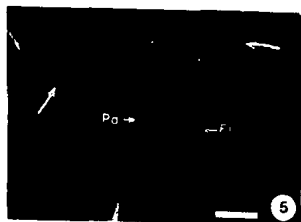
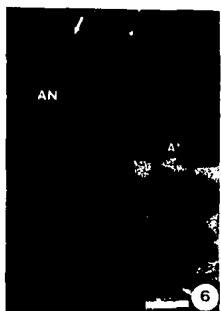
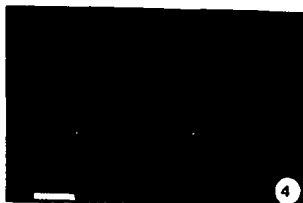
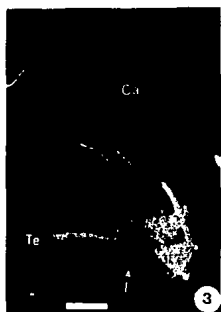
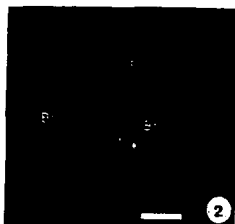
Pd: pedicelo

Ca: cauda

Cv: cavidad

Te: tépalo





## L A M I N A 11

### MORFOLOGIA DE LOS ORGANOS REPRODUCTORES

Fig. 8: Cavity y antera sésil con papilas. Escala= 4.5  $\mu\text{m}$  (MEB).

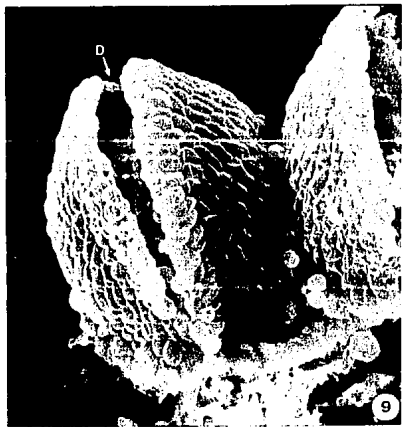
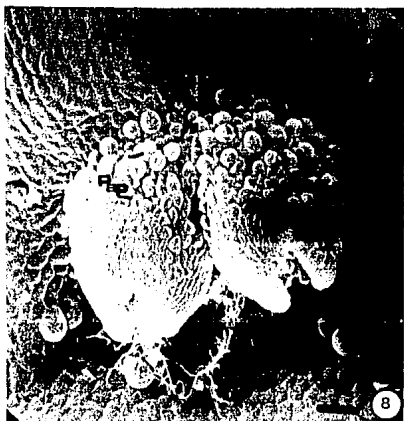
Fig. 9: Antera: cada lóculo presenta una línea de dehiscencia longitudinal extrorsa. Escala= 2.8  $\mu\text{m}$  (MEB).

At: antera

D: dehiscencia longitudinal

Cv: cavity

Pap: papilas



### 5.2.2. DESARROLLO DEL BOTÓN FLORAL

En las primeras etapas del desarrollo, el botón floral está protegido por una bráctea que en corte longitudinal muestra de 2 a 3 estratos celulares, de paredes delgadas y núcleo conspicuo. El tejido meristemático de la yema floral se caracteriza por presentar células de paredes delgadas y núcleos evidentes (Fig. 10).

En el botón floral, los primordios de los tépalos surgen desde la base del tejido meristemático. Estos son pluriestratificados con células isodiamétricas de núcleo muy evidente y citoplasma denso. En la yema floral se distingue a la protodermis uniestratificada, que rodea a las células meristemáticas que darán origen al andróforo y al androceo (Fig. 11).

Cuando ya se ha diferenciado la epidermis uniestratificada, el tejido meristemático, presenta un crecimiento asincrónico que provoca la formación de lóbulos. De los lóbulos, el más grande se encuentra en posición central y corresponde al primordio del andróforo, mientras que los laterales corresponden a los primordios del androceo (Fig. 12).

### 5.2.3. DESARROLLO DE LA PARED DE LA ANTERA

El primordio de la antera presenta una masa de tejido meristemático que está rodeado por la epidermis uniestratificada (Fig. 12). Por abajo de la epidermis, las células hipodérmicas se diferencian en las células del arquesporio. Estas se dividen periclinalmente formando dos capas de células: la capa externa corresponde a la capa parietal primaria y la interna a las células esporógenas primarias que continúan su actividad de división celular (Fig. 13).

Posteriormente la capa perietal primaria se divide periclinalmente dando origen a las dos capas parietales secundarias (Fig. 14). La capa externa adyacente a la epidermis, se diferencia en el endotecio, mientras que la otra, adyacente al tejido esporógeno, se divide periclinalmente dando origen a la capa media (adyacente al endotecio), y al tapete (contiguo al tejido esporógeno) (Fig. 15). De acuerdo a este desarrollo de tipo monocotiledóneo, la pared de la antera consta de: la epidermis, el endotecio, una capa media efímera y el tapete que rodean al tejido esporógeno (Fig. 16). La epidermis se interrumpe en la parte media del lóculo formando al estomio, y sus células sufren divisiones anticlinales y periclinales, para aumentar el área de la antera, y en la zona del estomio, dar origen de 2 a 3 estratos celulares de paredes gruesa (Fig. 17).

#### 5.2.4. MICROSPOROGENESIS

Al mismo tiempo que se están formando las capas de la pared de la antera, las células del tejido esporógeno, aumentan de tamaño y se diferencian en las células madres de las microsporas, éstas por mitosis aumentan en cantidad en el lóculo de la antera y posteriormente sufren divisiones meióticas (Fig. 18).

Desde el inicio de la meiosis las células madres de las microsporas se rodean por una gruesa pared de calosa, mientras que los núcleos en gran actividad celular muestran diferentes fases de la meiosis (Fig. 19). Al mismo tiempo las células del tapete también se encuentran en gran actividad celular. Éstas se caracterizan por presentar un citoplasma denso y un núcleo conspicuo con uno o dos nucleolos (Fig. 20). Entre las células del tapete se forman puentes citoplásmicos

(Fig. 21).

Las diadas que se forman durante la meiosis están rodeadas por la pared de calosa (Fig. 22), éstas continúan con el proceso (Fig. 23), al término del cual se originan cuatro células que forman una tétrada de microsporas del tipo isobilateral, también rodeadas por una gruesa capa de calosa (Figs. 24 y 25 acercamiento a las tétradas). En esta etapa (de tétrada), en las células tapetales se observa una disminución considerable del contenido citoplásmico, que aún forma puentes citoplásmicos, mientras tanto, las células de la capa media de la pared de la antera empiezan a aplastarse adosándose al endotecio (Fig. 24). Las células de la tétrada de microsporas se separan formando células libres llamadas microsporas, cada una con un núcleo haploide muy evidente y pared celular (Fig. 26). Al término de la meiosis y cuando las microsporas están libres, la pared celular de las células tapetales entran en lisis, de tal forma que, los restos del citoplasma se vierten al interior del lóculo de la antera y se depositan sobre los granos de polen uninucleados, por otro lado, las células de la capa media de la antera quedan totalmente apiñadas y adosadas al endotecio (Fig. 27).

En la etapa de grano de polen joven, el núcleo es conspicuo y desplazado hacia un extremo de la célula (Fig. 28). Este núcleo sufre mitosis, dando origen a dos células, una más grande con mayor contenido citoplásmico corresponde a la célula vegetativa, y la otra de menor tamaño corresponde a la célula generatriz (Fig. 29). La célula generatriz sufre mitosis, formando a las células espermáticas (Fig. 30). De esta forma el grano de polen maduro listo para la dispersión es tricelular, conformado por la célula vegetativa y dos

células espermáticas (Fig. 31). La cromatina se encuentra muy condensada en los núcleos de las células espermáticas, mientras que en la célula vegetativa la cromatina es laxa, y no condensada, lo que sugiere que se encuentra en gran actividad celular (Fig. 32 MET).

En etapa de grano de polen tricelular, en la antera ya no se observan células del tapete ni capa media. Las células del endotecio han aumentado considerablemente de tamaño, y sus paredes anticlinales y tangenciales internas presentan engrosamientos en forma de U (Fig. 33), por el contrario las células de la epidermis que persiste hasta esta etapa, disminuyen en tamaño, quedando adosadas al endotecio (Fig. 33 y 34).

Cuando se produce la salida del grano de polen en etapa tricelular a través del estomio, las células de la epidermis situadas en esta zona adelgazan sus paredes celulares, y los engrosamientos del endotecio al deshidratarse y romperse facilitan la apertura de esta zona (Figs. 34 y 35). Aún cuando las anteras presentan un estomio funcional por donde los granos de polen son liberados, se observa que, algunos granos de polen probablemente están germinando en el interior de la antera (Fig. 36), con proyecciones citoplásmicas en diferentes etapas de desarrollo (Figs. 37 y 38).

L A M I N A III  
DESARROLLO DE LA PARED DE LA ANTERA

Fig. 10: Corte longitudinal de botón floral mostrando la bráctea que lo protege. Escala= 60  $\mu$ m.

Fig. 11: Corte longitudinal mediano de botón floral mostrando a la protodermis (flecha) y primordios de tépalos.  
Escala= 59.5  $\mu$ m.

Fig. 12: Corte transmediano mostrando el crecimiento asincrónico del tejido meristemático. Escala= 71  $\mu$ m.

Fig. 13: Corte longitudinal. División periclinal de las células arquesporales (flechas). Escala= 10  $\mu$ m.

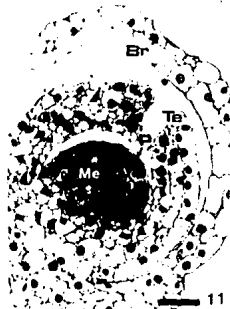
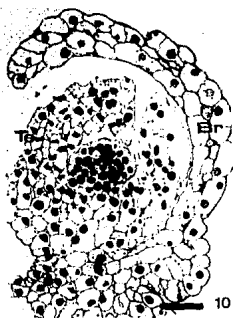
Fig. 14: Corte transmediano. División de la capa parietal primaria (flecha). Escala= 19.6  $\mu$ m.

Fig. 15: Corte longitudinal. División periclinal de la capa parietal secundaria interna (flechas). Escala= 15  $\mu$ m.

Fig. 16: Corte longitudinal de antera mostrando las capas de la pared de la antera. Escala= 19  $\mu$ m.

A: células arquesporales	Ep: epidermis	T: tapete
Br: bráctea	Me: tejido meristemático	Te: tépalos
CE: tejido esporógeno	P: protodermis	
Ca: capa media	PP: parietal primaria	
E: endotecio	PS: parietal secundaria	





## L A M I N A IV

### MICROSPOROGENESIS

- Fig. 17: Corte longitudinal del estomio. Escala= 28  $\mu\text{m}$
- Fig. 18: Divisiones mitóticas de las células madres de las microsporas (flechas). Escala= 11  $\mu\text{m}$ .
- Fig. 19: Corte transmediano de la antera mostrando diferentes etapas de la meiosis en las células madres de las microsporas. Escala= 51.6  $\mu\text{m}$ .
- Fig. 20: Corte tangencial de antera mostrando las células del tapete (flechas). Escala= 52  $\mu\text{m}$ .
- Fig. 21: Corte transversal de antera mostrando los puentes citoplásmicos en las células del tapete (flecha). Escala= 10.8  $\mu\text{m}$ .
- Fig. 22: Diadas (flechas) rodeadas por calosa. Escala= 21.6  $\mu\text{m}$ .
- Fig. 23: Diadas rodeadas por calosa (flecha), preparándose para finalizar la meiosis. Escala= 12  $\mu\text{m}$ .
- Fig. 24: Tétrada isobilateral de microsporas (flechas chica) rodeada por calosa. Escala= 28  $\mu\text{m}$ .

Cm: capa media

Cl: calosa

D: diada

E: endotecio

Ep: epidermis

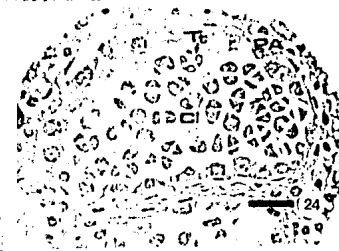
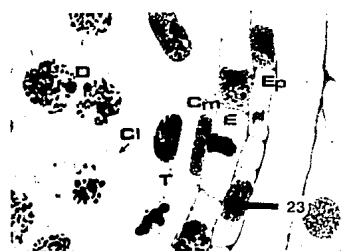
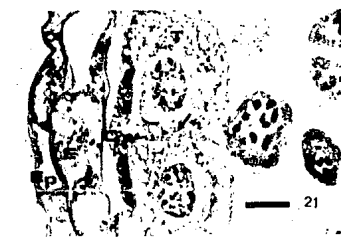
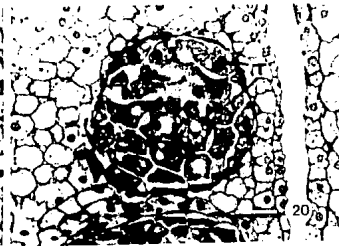
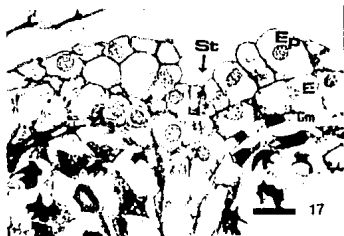
MC: cél. madres de microsporas

PA: pared de antera

St: estomio

T: tapete

Tt: tétrada de microsporas



L A M I N A V  
MICROSPOROGENESIS  
(CONTINUACION)

Fig. 25: Acercamiento a la tetrada isobilateral rodeada por calosa (flecha). Escala= 10  $\mu$ m.

Fig. 26: Grano de polen joven uninucleado. El tapete y la capa media se han colapsado. El endotecio inicia el engrosamiento de sus paredes celulares. Escala= 16  $\mu$ m.

Fig. 27: Corte transversal de pared de antera mostrando la degradación de la capa media (flecha chica) y tapete (flechas grandes). Escala= 31  $\mu$ m.

Fig. 28: Grano de polen joven. Núcleo desplazado hacia un lado preparándose para la mitosis. Escala= 6  $\mu$ m.

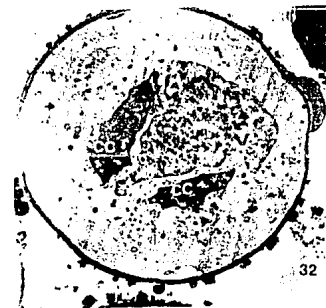
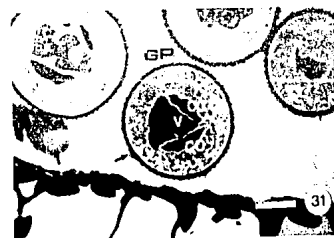
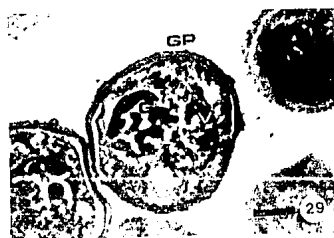
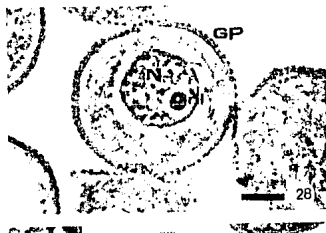
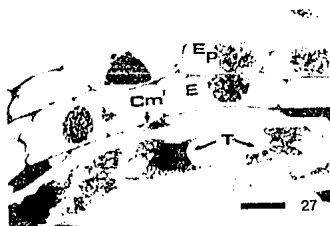
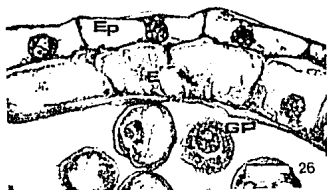
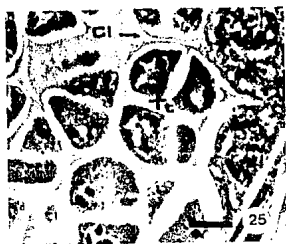
Fig. 29: Grano de polen bicelular: célula vegetativa y célula generatriz. Escala= 5.8  $\mu$ m.

Fig. 30: División mitótica de la célula generatriz. Escala= 5.9  $\mu$ m.

Fig. 31: Grano de polen maduro tricelular. Escala= 8  $\mu$ m.

Fig. 32: Grano de polen maduro tricelular. X 2500 (MET).

CC: células espermáticas	Ep: epidermis	nl: nucleolo
Cm: capa media	G: cél. generatriz	T: tapete
Cl: calosa	GP: grano de polen	Tt: téttrada
E: endotecio	N: núcleo	V: cél. vegetativa.



L A M I N A VI  
MICROSPOROGENESIS  
(CONTINUACION)

Fig. 33: Antera madura mostrando los engrosamientos en U del endotecio (flechas). Escala= 10  $\mu$ m.

Fig. 34: Corte tangencial de antera mostrando la dehiscencia (flecha) de la antera en el momento de la salida del grano de polen. Escala= 155  $\mu$ m.

Fig. 35: Acercamiento a la zona del estomio. Escala= 20  $\mu$ m.

Fig. 36: Antera madura mostrando granos de polen probablemente germinando dentro del lóculo (flecha). Escala= 30.7  $\mu$ m.

Figs. 37, 38: Acercamiento a granos de polen. Se observan proyecciones citoplásmicas que semejan tubos polínicos, y restos citoplásmicos del tapete (flechas en fig. 37).

At: antera

Ep: epidermis

St: estomio

CC: cél. espermáticas

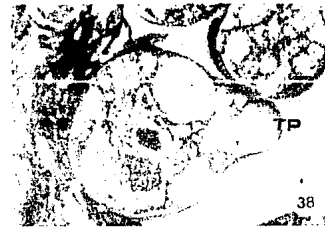
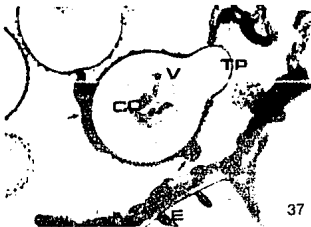
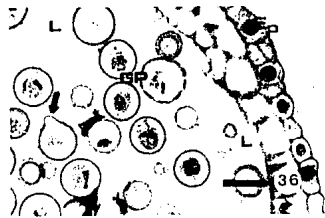
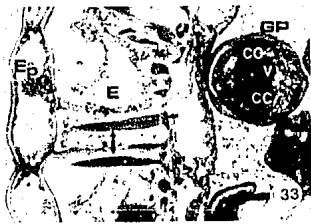
GP: grano de polen

TP: tubo polínico

E: endotecio

L: lóculo

V: cél. vegetativa



### 5.2.5. PALINOLOGIA

El grano de polen es intectado, inaperturado, y apolar, mide de 30 a 35  $\mu\text{m}$  de diámetro (Fig. 39). La exina es muy delgada, forma pequeñas ornamentaciones en forma de verrugas (Fig. 40). Algunos granos de polen no presentan exina, sólo tienen la pared de la intina que se observa muy engrosada en todo el grano de polen (Fig. 41), otros tienen hifas (Fig. 42) o bacterias (Fig. 43). Al término de la meiosis, los restos citoplásmicos del tapete, llamados trifina se depositan sobre la exina del grano de polen (Figs. 44 y 45 MET). El organelo celular más evidente en los granos de polen es el retículo endoplásmico, aunque también hay numerosas vacuolas (Fig. 46).

### 5.2.6. ANATOMIA DEL ANDROCEO

La antera madura es séssil, bilocular y tetrasporangiada, con línea de dehiscencia o estomio, longitudinal extrorsa. En la base de las anteras hay un grupo de células indiferenciadas (Fig. 47). Algunas anteras en la misma flor están dañadas, en algunos casos uno de los lóculos está deteriorado (Fig. 48), en otros el interior de los lóculos está ocupado con hifas (Fig. 49).

### 5.2.7 ANATOMIA DEL ANDROFORO

El andróforo desde que surge no presenta cambios anatómicos o algún tipo de diferenciación, sólo aumenta su tamaño. Está conformado por un estrato de células epidérmicas cúbicas que lo delimitan y por el cuerpo del andróforo, éste último está constituido por células parenquimáticas, cúbicas aunque algunas son esféricas, de paredes delgadas y núcleo evidente.



En la región apical del andróforo se observan prolongaciones de tejido que le confieren la forma alada (Fig. 50).

En las células epidérmicas, de la zona basal del andróforo y de los tépalos, muy cerca de las anteras, se observan tricomas de apariencia glandular (Fig. 51), en los cuales, la vacuola ocupa la mayor parte de la célula, el núcleo es conspicuo y el citoplasma denso es desplazado hacia un extremo de la célula (Fig. 52).

#### 5.2.8. HISTOQUIMICA DEL ANDROFORO Y ANDROCEO.

Con la doble tinción APS-Azul negro de naftol, los núcleos de las células del andróforo y pared de la antera dan reacción en azul indicando la presencia de proteínas. En la pared y citoplasma de estas células la reacción en rosa indica la presencia de polisacáridos insolubles (Fig. 53).

En las células madres de las microsporas y granos de polen maduros los núcleos dan reacción positiva a la prueba de proteínas, mientras que en el citoplasma hay reacción positiva a la prueba de polisacáridos insolubles (Fig. 54).

L A M I N A VII

PALINOLOGIA

Fig. 39: Grano de polen intacto, inaperturado y apolar.

X 262 (MEB).

Fig. 40: Ornamentación verruculosa de la exina (flecha). X 872 (MEB).

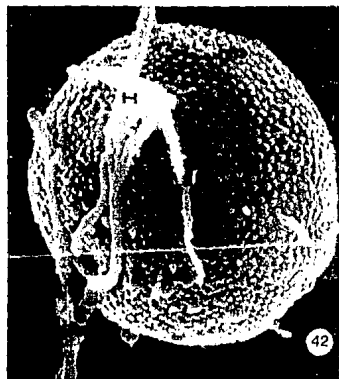
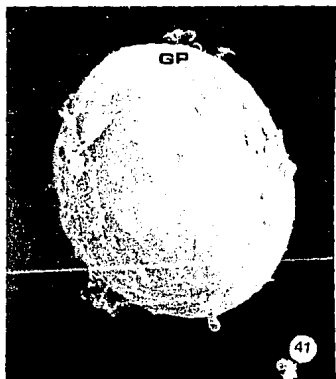
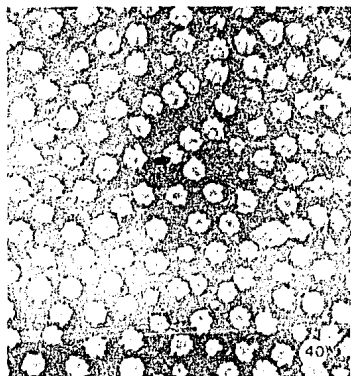
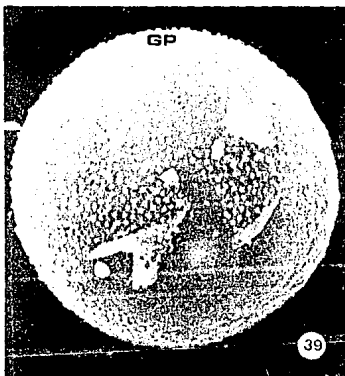
Fig. 41: Grano de polen sin exina, solo muestran la intina.

X 500 (MEB).

Fig. 42: Grano de polen con algunas hifas (flecha). X 262 (MEB).

GP: grano de polen

H: hifas



L A M I N A VIII

PALINOLOGIA

(CONTINUACION)

Fig. 43: Grano de polen con bacterias (flechas). X 262 (MEB).

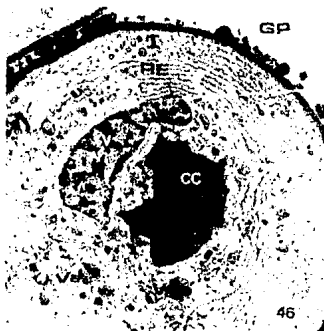
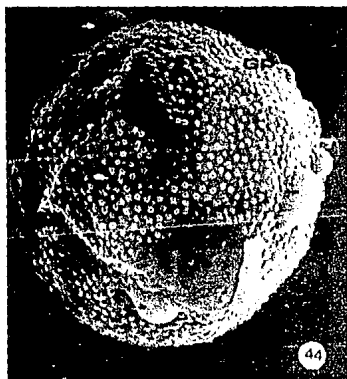
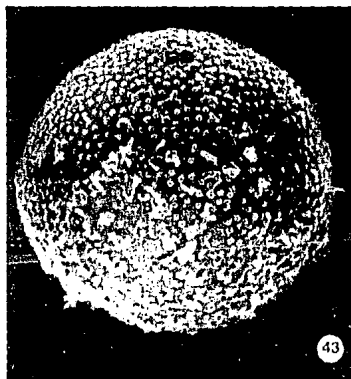
Fig. 44: Restos citoplásmicos del tapete (flechas) depositados en la pared del grano de polen. X 262 (MEB).

Fig. 45: Detalle de las secreciones del tapete (flecha grande) sobre la pared de la exina del grano de polen. X 4000 (MET).

Fig. 46: Grano de polen maduro mostrando abundante reticulo endoplásmico, y algunas vacuolas. X 4000 (MET).

B: bacterias  
CC: células espermáticas  
Ex: exina  
GP: grano de polen

I: intina  
RE: reticulo endoplásmico  
V: célula vegetativa  
Va: vacuola



## L A M I N A IX

### ANATOMÍA E HISTOQUÍMICA DEL ANDRÓFORO Y ANDROCEO

Fig. 47: Corte longitudinal de antera. Células indiferenciadas en la base de la antera (flechas). Escala= 125  $\mu$ m.

Fig. 48: Corte longitudinal de antera madura mostrando uno de los lóculos dañado (flechas). Escala= 32  $\mu$ m.

Fig. 49: Lóculo de la antera infestado por hifas (flecha). Escala= 21.5  $\mu$ m.

Fig. 50: Corte longitudinal del andróforo, mostrando las "alas" en la región apical (flechas). Escala= 162  $\mu$ m.

Fig. 51: Tricomas (flecha) en la base de los tépalos y andróforo. Escala= 62  $\mu$ m.

Fig. 52: Acercamiento a los tricomas (flechas). El citoplasma se observa desplazado hacia un extremo de la célula. Escala= 12  $\mu$ m.

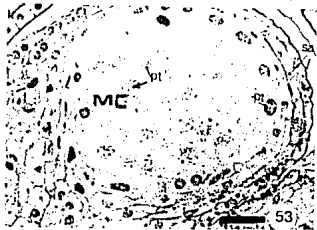
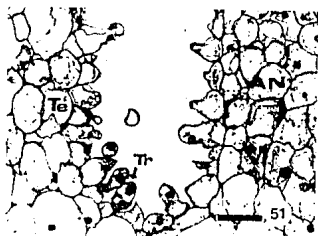
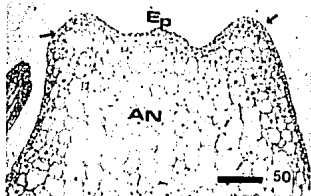
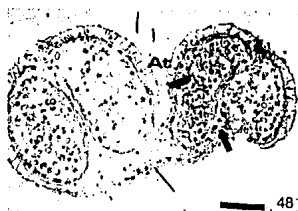
Fig. 53: Cuerpos proteicos en las células madres de las microsporas y nucleos de la pared de la antera. Polisacáridos en la pared de la antera. Escala= 48.8  $\mu$ m.

Fig. 54: Polisacáridos insolubles y cuerpos proteicos en el citoplasma del grano de polen. Escala= 15.8  $\mu$ m.

AN: andróforo  
At: antera  
C: citoplasma  
Ep: epidermis  
H: hifas  
L: lóculo

MC: cél. madres de microsporas  
N: núcleo  
nl: nucleolo  
pt: proteínas  
sa: polisacáridos insolubles  
St: estomio

T: tépalo  
Tr: tricomas  
Va: vacuolas



### 5.3. ORGANOS VEGETATIVOS

#### 5.3.1. MORFOLOGIA DE LOS ORGANOS VEGETATIVOS

Los órganos vegetativos de *T. alata* son el tallo aéreo, el rizoma y la raíz:

##### TALLO AEREO

Los tallos aéreos surgen de los rizomas; son erectos y cilíndricos, miden de 3 a 10 ó 15 cm de largo y de 1 a 1.5 ó menos de 2 mm de diámetro, son simples y sólo se ramifican en la inflorescencia en donde se diferencian en los pedicelos de las flores. Los tallos aéreos carecen de clorofila, son hialinos y longitudinalmente surcados por 6 a 8 surcos de diferente tamaño. Los tallos carecen de estomas y hojas, solo se ven restos de la bráctea adheridos a los pedicelos. (Figs. 2 y 55).

##### RIZOMA

Los rizomas son rastreros, cilíndricos se extienden por debajo del sustrato, miden de 4 a 5 mm de largo y de 0.5 a 0.7 ó 1 mm de diámetro, son de incoloros a ligeramente amarillentos, no se observaron escamas y/o glándulas. De los nudos del rizoma surgen numerosas raíces (Fig. 56).

##### RAIZ

Las raíces son filiformes, muy numerosas miden de 1.5 a 3 hasta 5 cm de largo y de 0.4 a 0.7 mm de diámetro, de color pardo. La raíz carece de pelos radicales y de raíces secundarias (Fig. 56).



### 5.3.2. ANATOMIA DE LOS ORGANOS VEGETATIVOS

En los órganos vegetativos están presentes los tres sistemas de tejidos básicos conocidos (dérmico, fundamental y vascular), arreglados de la siguiente forma:

#### TALLO

En corte transversal de tallo se notan de 6 a 8 surcos (Fig. 57). De afuera hacia dentro se observa a la epidermis, córtex, endodermis (estrato más interno del córtex) y el cilindro central. La epidermis es uniestratificada, de células cúbicas aunque algunas son esféricas con una cutícula conspicua (Fig. 58). El córtex ocupa el mayor volumen de este órgano, en promedio mide 50  $\mu\text{m}$  aunque puede alcanzar las 80  $\mu\text{m}$  de diámetro, está formado por células parenquimáticas arregladas en 6 a 8 estratos celulares, entre los cuales hay espacios intercelulares. Estas células son generalmente isodiamétricas (Fig. 58 y 59). El estrato más interno del córtex corresponde a la endodermis que está formada por 18 a 20 células arregladas formando un anillo uniestratificado, las células son casi esféricas y con las paredes tangenciales externas e internas, ligeramente engrosadas. En las paredes radiales y transversales de estas células se observan las bandas de Caspary (Figs. 60 y 61). El diámetro del cilindro central varía, en promedio mide 15  $\mu\text{m}$ , y está circundado por el periciclo uniestratificado de células parenquimáticas. En corte transversal se observan de 5 a 6 haces vasculares colaterales formando un anillo (Fig. 60) alrededor de una columna central de tejido parenquimático o médula (Fig. 62). Los elementos traqueales presentan engrosamientos de tipo anular y helicoidal (Fig. 63).

## RIZOMA

El rizoma al igual que el tallo aéreo presenta una estructura muy simple. Carece de escamas y/o glándulas así como de surcos (Fig. 64).

En plano transversal se observan las siguientes estructuras: epidermis, córtex, endodermis y

cilindro central. La epidermis presenta características similares a la del tallo (Fig. 65). Como en el tallo, el córtex ocupa el mayor volumen de este órgano en promedio mide 25  $\mu\text{m}$  aunque puede llegar a medir 35  $\mu\text{m}$ , está constituido por células parenquimática arregladas en 5 ó 6 estratos, entre los que se observan espacios intercelulares, la forma de las células es similar a la del tallo (Figs. 64 y 65). La endodermis es uniestratificada, está formada por 14 a 16 células parenquimáticas isodiamétricas arregladas como en el tallo, y con las paredes tangenciales externas e internas engrosadas. En las paredes radiales y transversales de la endodermis se observan las bandas de Caspary (Figs. 66 y 67). El diámetro del cilindro central varía de 7 a 10  $\mu\text{m}$ . El periciclo es uniestratificado conformado por células parenquimáticas isodiamétricas, en corte transversal se observan de 3 a 4 haces vasculares colaterales situados alrededor de una médula de células parenquimáticas. Los elementos traqueales presentan engrosamientos de tipo helicoidal (Fig. 68).

En la zona de los nudos hay células meristemáticas de las cuales se diferencian las raíces (Figs. 69 y 70), y en esta zona los elementos traqueales se enrollan adquiriendo formas irregulares (Fig. 71).

## RAIZ

En corte transversal de raíz se observa a la epidermis uniestratificada, sus paredes periclinales externas presentan depresiones, mientras que las paredes anticlinales tienen prolongaciones tan largas que aparentan ser tricomas. Por abajo y adyacente a la epidermis se localiza la exodermis (capa externa del córtex) uniestratificada y formada por células parenquimáticas (Fig. 72). El córtex medio (que no incluye a la exodermis y la endodermis) está integrado por tres estratos celulares, de células de naturaleza parenquimática. Las células del estrato externo en promedio miden de 4 a 4.8  $\mu\text{m}$  de largo X 3 a 3.5  $\mu\text{m}$  de ancho. El estrato medio presenta células de mayor dimensión, y en promedio miden miden de 6 a 8  $\mu\text{m}$  de largo X 5 a 7  $\mu\text{m}$  de ancho. El estrato interno adyacente a la endodermis esta conformada por células casi isodiamétricas, de mucho menor tamaño con respecto a las anteriores, sus dimensiones en promedio son de 2 a 3.6 de largo X 2 a 3  $\mu\text{m}$  por ancho. Sólo los estratos externo y medio están infestados por hifas, las cuales están ausentes en el estrato interno (Fig. 73). La endodermis uniestratificada está constituida por 6 a 7 células parenquimáticas, isodiamétricas con las paredes tangenciales externas e internas muy engrosadas. En las paredes radiales y transversales se observan las bandas de Caspary. En el cilindro central el periciclo es uniestratificado de células parenquimáticas. En corte transversal de raíz se observan de 3 a 4 elementos traqueales y 2 ó 3 elementos cribosos. (Figs. 74 y 75). Los elementos traqueales presentan engrosamientos de tipo helicoidal (Fig. 76).

L A M I N A X  
MORFOLOGIA Y ANATOMIA DE TALLO.

Fig. 55: *Triuris alata* mostrando el tallo aéreo hialino y sin hojas.

Escala= 15 mm.

Fig. 56: Rizoma mostrando los nudos en donde surgen las raíces.

Escala= 0.8 mm.

Fig. 57: Corte transversal de tallo mostrando su anatomía simple, así como los surcos (flechas). Escala= 22  $\mu$ m.

Fig. 58: Corte transversal de tallo mostrando a la epidermis uniestratificada y células del córtex. Escala= 54.7  $\mu$ m.

Fig. 59: Corte longitudinal de tallo mostrando 6 a 8 estratos del córtex. Escala= 184  $\mu$ m.

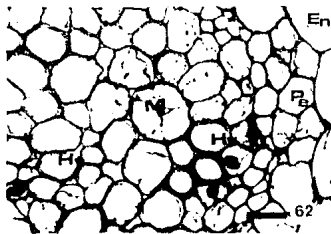
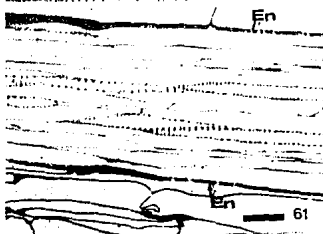
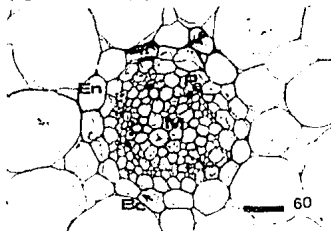
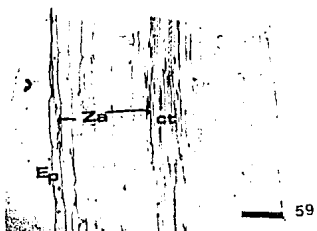
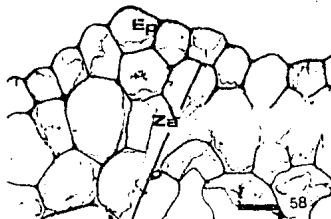
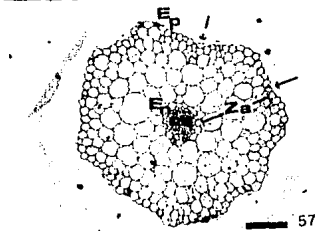
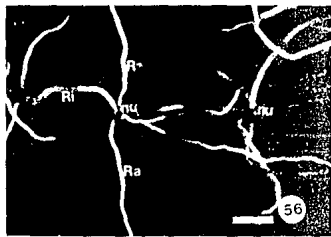
Fig. 60: Corte transversal de tallo mostrando a la endodermis y bandas de Caspary (flecha). Escala= 48.7  $\mu$ m.

Fig. 61: Corte longitudinal de tallo mostrando los engrosamientos (flechas) de las paredes tangenciales y radiales de la endodermis. Escala= 55  $\mu$ m.

Fig. 62: Corte transversal de tallo mostrando el cilindro central y haces vasculares colaterales. Escala= 16  $\mu$ m.

Bc: banda de Caspary  
ct: cilindro central  
En: endodermis  
Ep: epidermis  
Hv: haz vascular  
M: médula

nu: nudo  
Pe: periciclo  
Ra: raíz  
Ri: rizoma  
tl: tallo  
Za: córtex



L A M I N A X I  
ANATOMIA DEL RIZOMA

Fig. 63: Material disociado de tallo mostrando los elementos traqueales del xilema con engrosamientos anulares y helicoidales.

Escala= 43.6  $\mu$ m.

Fig. 64: Corte transversal de rizoma mostrando los diferentes tipos celulares que lo conforman. Escala= 116  $\mu$ m.

Fig. 65: Corte transversal de rizoma. Epidermis uniestratificada y células del córtex. Escala= 30.6  $\mu$ m.

Fig. 66: Corte transversal de rizoma mostrando la endodermis y bandas de Caspary (flecha). Escala= 26  $\mu$ m.

Fig. 67: Corte longitudinal de rizoma mostrando el engrosamiento de las paredes tangenciales externas e internas de la endodermis (flecha). Escala= 124  $\mu$ m.

Fig. 68: Material disociado. Elementos traqueales del rizoma con engrosamientos helicoidales. Escala= 50  $\mu$ m.

Fig. 69: Zona del nudo mostrando un primordio de raíz.

Escala= 102.  $\mu$ m.

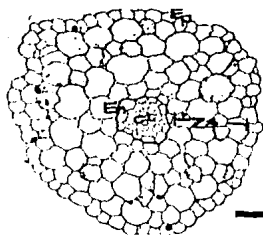
Fig. 70: Corte transversal del rizoma mostrando el tejido meristemático en la zona del nudo. Escala= 37.8  $\mu$ m.

Bc: bandas de Caspary  
ct: cilindro central  
Hv: haz vascular  
En: endoermis  
Ep: Epidermis  
M: médula

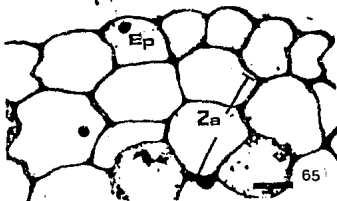
Me: tejido meristemático  
Pe: periciclo  
Ra: raíz  
Ri: rizoma  
Za: córtex



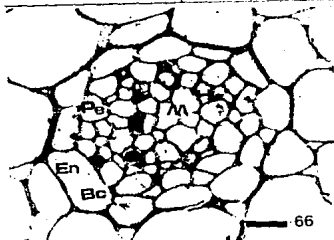
63



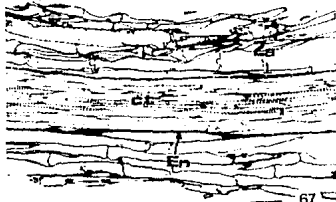
64



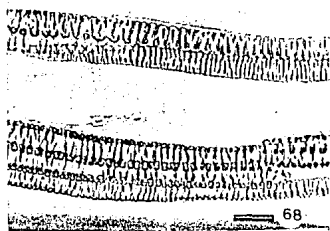
65



66



67



68



69



70

L A M I N A XII  
ANATOMIA DE LA RAIZ

Fig. 71: Elementos traqueales del rizoma en la zona de los nudos.

Escala= 85.7  $\mu$ m

Fig. 72: Corte transversal de raíz mostrando a la epidermis y exodermis uniestratificadas. Escala= 98  $\mu$ m.

Fig. 73: Corte transversal de raíz mostrando los dos estratos del córtex medio ocupado por hifas las cuales forman ovillos compactos. Escala= 112  $\mu$ m.

Fig. 74: Corte transversal de raíz mostrando a la endodermis (flecha grande), cilindro central y bandas de Caspary (flecha chica). Escala= 16.3  $\mu$ m.

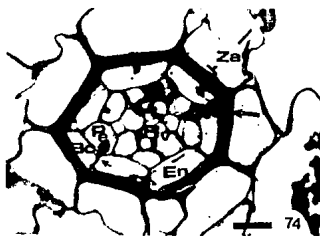
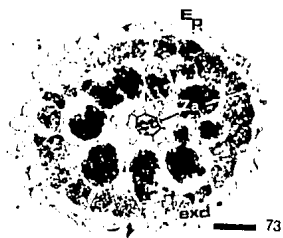
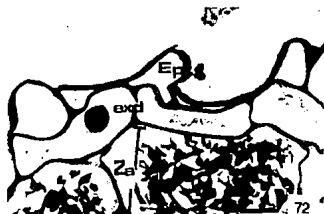
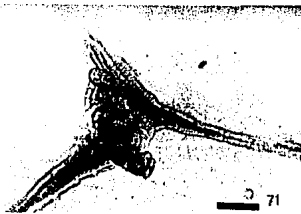
Fig. 75: Corte longitudinal de raíz mostrando los engrosamiento de las paredes tangenciales externas e internas de la endodermis (flecha). Escala= 96.3  $\mu$ m.

Fig. 76: Elementos traqueales del rizoma mostrando los engrosamientos de tipo helicoidal. Escala= 32  $\mu$ m.

ct: cilindro central  
En: endodermis  
Ep: epidermis  
exd: exodermis  
H: hifas

Hv: haz vascular  
Pe: periciclo  
Za: córtex





### 5.3.3. CARACTERISTICAS DEL HONGO MICORRIZICO

La micorriza corresponde a una endomicorriza, ya que sobre la superficie de las paredes externas de la raíz se observan pocas hifas (Fig. 77), las cuales penetran al interior de las células del estrato externo y medio del córtex medio (Fig. 73 y 79). Las hifas se enrollan formando ovillos muy compactos (Fig. 78). Cada uno de estos ovillos ocupa una célula (Fig. 79). Las hifas presentan paredes gruesas y citoplasma denso (Fig. 80). El diámetro de las hifas varia, algunas de estas son septadas (Fig. 81), otras forman vesículas (Fig. 82), en cuyo interior se pueden observar numerosas vacuolas (Fig. 83). Las hifas distribuidas en el estrato medio son amorfas y compactas (Fig. 84), mientras que las hifas del estrato externo son laxas. Generalmente las hifas del estrato externo forman las vesículas, que varían en tamaño y número dentro de la célula (Fig. 85). Como se verá más adelante las diferencias entre las hifas del estrato externo y medio del córtex también se dan a nivel histoquímico. No se pudieron observar arbuscúlos en ninguno de los cortes examinados.

### 5.3.4. HISTOQUIMICA DE LOS ORGANOS VEGETATIVOS

\*DOBLE TINCION DE APS/AZUL NEGRO DE NAFTOL.

En tallo (Fig. 86), rizoma (Fig. 87) y raíz (Fig. 88) la prueba para polisacáridos, es positiva en la pared celular de todas las células de estos órganos. Mientras que la prueba para proteínas es positiva en todos los núcleos de las células, en la pared celular de los elementos traqueales y pared periclinal externa de la endodermis (más evidente en raíz y rizoma).

#### \*ACIDO PERYODICO-REACTIVO DE SCHIF

En tallo, rizoma y raíz la prueba para polisacáridos insolubles da reacción positiva en la pared celular de las células de la epidermis, exodermis (de la raíz), córtex, en la pared periclinal externa de la endodermis (raíz y rizoma principalmente) y médula principalmente del tallo (Fig. 86). Sólo en el rizoma hay reacción positiva en la pared celular y citoplasma de los elementos traqueales y cribosos del haz vascular.

#### \*AZUL MERCURICO DE BROMOFENOL

En tallo, rizoma y raíz la prueba para proteínas la reacción es positiva en los núcleos de todas las células, así como en la pared periclinal externa de la endodermis del rizoma y raíz.

#### \*ROJO O DE ACEITE

En tallo, rizoma y raíz la prueba para lípidos la reacción es positiva en la pared celular de las células de la epidermis. En el tallo y rizoma también hay reacción positiva en la cutícula, y sólo en la corteza del tallo se observa reacción positiva (Fig. 89).

#### \*PRUEBA DE LUGOL

La prueba para determinar almidón es negativa

#### \*PERMANGANATO DE POTASIO

En tallo, rizoma y raíz la prueba para taninos no es específica ya que se observa reacción positiva en la cutícula (principalmente del tallo), pared celular de las células de la epidermis, córtex y

endodermis (pared periclinal externa); así como en la pared celular de los elementos traqueales de tallo (Fig. 91 y 92) y rizoma.

**\*CLOROYODURO DE ZINC**

En tallo y rizoma la prueba para lignina, suberina y cutina da reacción positiva en la cutícula y pared celular de las células de la epidermis; y sólo en la pared celular de las células del córtex del del rizoma. En la raíz la prueba es negativa.

**5.3.5. HISTOQUIMICA DEL HONGO MICORRIZICO**

**\*DOBLE TINCION DE APS/AZUL NEGRO DE NAFTOL.**

Las paredes celulares de las hifas dan reacción positiva al APS indicando la presencia de polisacáridos insolubles. Las hifas de la capa externa se tñen menos que las hifas de la capa media. Los núcleos de las hifas dan reacción positiva a la prueba de proteínas (Fig. 92).

**\*ACIDO PERYODICO-REACTIVO DE SCHIF**

La reacción es positiva, las hifas de la capa externa tñen con menor intensidad que las localizadas en la capa media (Fig. 93).

**\*PERMANGANATO DE POTASIO**

La reacción para taninos es positiva, las hifas de la capa externa toman mayor tñción que las hifas de la capa media (Fig. 94).

## L A M I N A XIII

### CARACTERISTICAS DEL HONGO MICORRIZICO

Fig. 77: Hifas sobre la epidermis de la raiz. X 400 (MEB)

Fig. 78: Hifas formando ovillos (flecha) muy compactos. X 181 (MEB).

Fig. 79: A cada célula de la raiz le corresponde un solo ovillo de hifas. X 401 (MEB).

H: hifas



L A M I N A XIV  
CARACTERISTICAS DEL HONGO MICORRIZICO  
(CONTINUACION)

Fig. 80: Hifas teñidas con azul de tripano mostrando gruesas paredes celulares (flecha).

Fig. 81: Algunas hifas septadas (flecha). Escala= 21.8  $\mu$ m.

Fig. 82: Vesículas (flechas) de las hifas. Escala= 21.7  $\mu$ m.

Fig. 83: Acercamiento a una vesícula. Escala= 11.7  $\mu$ m.

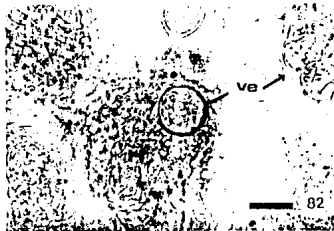
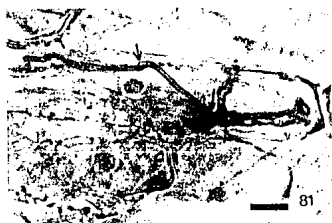
Fig. 84: Hifas compactas del estrato medio (flechas). Escala= 16  $\mu$ m.

Fig. 85: Hifas laxas del estrato externo (flecha). Escala= 8  $\mu$ m

H: hifa

Va: vacuola

ve: vesícula.





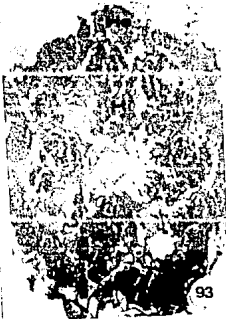
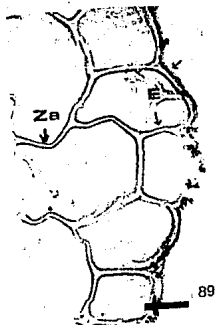
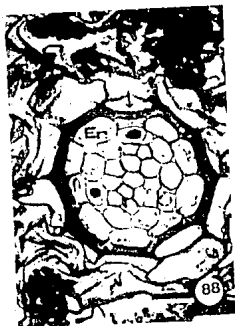
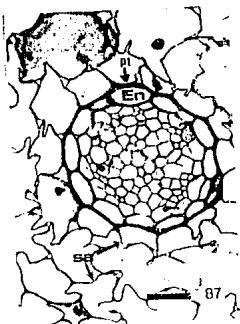
## L A M I N A X V

### HISTOQUÍMICA DE LOS ORGANOS VEGETATIVOS Y HONGO MICORRIZICO

- Fig. 86: Corte transversal de tallo mostrando polisacáridos insolubles en paredes celulares y proteínas en las paredes engrosadas de la endodermis y elementos traqueales (APS/Azul negro de naftol). Escala= 40  $\mu$ m.
- Fig. 87: Corte transversal de rizoma mostrando polisacáridos insolubles en paredes celulares y proteínas en las paredes engrosadas de la endodermis, núcleos y elementos traqueales (APS/Azul negro de naftol). Escala= 40  $\mu$ m.
- Fig. 88: Corte transversal de raíz mostrando polisacáridos insolubles en las paredes celulares y proteínas en la endodermis (flecha), elementos traqueales y núcleos de las células (APS/Azul negro de naftol). Escala= 20  $\mu$ m.
- Fig. 89: Corte transversal de tallo con lípidos en cutícula, paredes celulares de epidermis y córtex (flechas) (Rojo de aceite). Escala= 25.7  $\mu$ m.
- Fig. 90: Corte transversal de tallo mostrando taninos en cutícula (flecha), paredes celulares de epidermis, córtex y elementos traqueales (Permanganato de Potasio). Escala= 167  $\mu$ m.
- Fig. 91: Corte transversal de tallo mostrando taninos en las paredes de los elementos traqueales del tallo (Permanganato de potasio). Escala= 25.3  $\mu$ m.
- Fig. 92: Hifas de la capa externa mostrando menor tinción que las hifas de la capa interna (flecha) (APS/Azul negro de naftol). Escala= 14.7  $\mu$ m.
- Fig. 93: Corte transversal de raíz mostrando la reacción diferencial de las hifas a la prueba de polisacáridos insolubles (APS). Escala= 64  $\mu$ m.
- Fig. 94: Corte transversal de raíz mostrando la reacción diferencial de las hifas a la prueba de taninos. Escala= 62.5  $\mu$ m.

E: epidermis  
En: endodermis  
Hi: hifas internas  
He: hifas externa  
Hv: haz vascular

M: médula  
pt: proteína  
sa: polisacáridos  
Za: córtex



## 6. DISCUSION

El estudio de la embriología vegetal en su sentido más amplio esta relacionada con el desarrollo del óvulo y de la antera, incluyendo micro y megasporogénesis, gametofitos y gametogénesis, así como el crecimiento del embrión, nucela y tegumentos. Estos caracteres aunados a los proporcionados por otras disciplinas tales como los palinológicos, moleculares, genéticos etc. han permitido relacionar o separar grupos taxonómicos (Cronquist, 1981, 1988; Tobe, 1989; Stuessy, 1990). Por ejemplo los datos palinológicos han permitido caracterizar grupos botánicos superiores o inferiores a la categoría taxonómica de familia. A pesar de esto son pocos los autores que consideran a los caracteres embriológicos y anatómicos en la caracterización de las familias y géneros. Esto posiblemente se deba a la escasez de trabajos en estas disciplinas, tal y como lo menciona Tobe (1989).

En este sentido las investigaciones sobre la familia Triuridaceae, y en especial sobre el género *Triuris* se han enfocado principalmente a descripciones de la morfología externa. Los únicos trabajos conocidos sobre la anatomía vegetativa y reproductiva del género *Triuris* son los realizados por Milanez y Meira (1943), Maas y Rübssamen (1986), Rübssamen-Weustenfeld (1991) y Espinosa-Matias (1991). En este último se estudió la embriología de las flores femeninas de *Triuris alata*, y los resultados fueron comparados con los datos conocidos de las otras especies del género: *T. hyalina* y *T. hexophthalma*. En la presente discusión se compararán y discutirán los caracteres embriológicos anatómicos, y palinológicos de las flores masculinas de *T. alata* con

los existentes en las otras especies del género *Triuris*.

Nota: Cuando se mencione la especie colectada por Brade (1943) será indicada con un asterisco: *Triuris alata*\*; y cuando se haga referencia a los ejemplares colectados para este trabajo en la selva Lacandona, no se pondrá el asterisco.

#### 6.1. OBSERVACIONES DE CAMPO

Es importante recordar que las colectas se realizaron solamente en 2 épocas del año, enero y septiembre-octubre y que no hay datos sobre la presencia o ausencia de los individuos masculinos y femeninos para los meses restantes. Aunque se hayan observado pocos individuos masculinos, las anteras producen gran cantidad de polen estructuralmente bien formado (Figs. 31 y 32) que podrían polinizar a las flores femeninas, ya que ambos individuos se presentaban simultáneamente entre agosto y octubre. Las flores femeninas con frutos y semillas observadas en enero-febrero pudieron ser polinizadas por polen de plantas masculinas que aunque en muy poca densidad se pudieran presentar en esa época. El que no se hayan observado no indica que no existan, seguramente son aún más escasas y eso impidió su localización, no se debe olvidar que son plantas incoloras e inconspicuas además de estar ocultas por la hojarasca de la vegetación circundante lo que también pudo impedir su observación. Otra posibilidad es que algunos individuos o toda la población pudieran ser apomicticos desarrollando frutos y semillas sin fecundación, al respecto Tomlinson (1982) señala que la apomixis es una característica de algunas especies de la familia Triuridaceae, quizá *T. alata* es una de estas especies. Sin embargo en las flores

femeninas *T. alata* hay evidencias de restos de tubo polínico en el micrópilo del óvulo, sugiriendo que la fecundación es porógama y la formación de la semilla es un proceso sexual (Espinosa-Matías, 1991). Probablemente, y de acuerdo a estas observaciones, en esta planta se presenta la apomixis cuando la densidad de las flores femeninas es muy elevada y la densidad de las flores masculinas es muy baja y tal vez el polen bien estructurado que producen, no es suficiente para fecundar a todos los óvulos (de 100 a 150 por flor), mientras que la reproducción sexual es posible cuando coinciden en el tiempo las flores masculinas y femeninas.

También podría suceder que algunos individuos de apariencia femenina o masculina fueran en realidad bisexuales y que una fecundación autógena sucediera, ya que se colectaron algunas flores (4 a 6) que morfológicamente poseen órganos femeninos y masculinos, sin embargo no se han realizado los estudios pertinentes para saber si estos órganos producen gametos bien estructurados y viables.

## 6.2. MORFOLOGIA DE LOS ORGANOS REPRODUCTORES

Las estructuras más evidente a simple vista en la flor masculina de *T. alata* son los tépalos y el andróforo, mencionado este último desde los trabajos de Engler (1889) y utilizado por Maas (1986, en Maas y RübSamen, 1986) como un criterio para delimitar a las especies del género considerando su forma y dimensiones. Los resultados de las mediciones realizadas en *T. alata* (2.3 a 2.6 mm en la base y de 2.5 a 3.2 mm de altura) no concuerdan con las dimensiones que mencionan Brade (1943), y Maas (1986, en Maas y RübSamen, 1986) para *T. alata*\* (3 a 4 mm en la base y de 3 a 4 mm de altura). Esta diferencia puede

Implicar que las dimensiones del andróforo pueden variar, con las fluctuaciones de los parámetros ambientales del hábitat de estas plantas o bien que las especies sean diferentes. Con respecto al primer caso, por falta de información específica referente a las condiciones ambientales que prevalecen en el hábitat donde crecen estas especies, es difícil afirmar que las diferencias en la dimensión del andróforo se deban a posibles fluctuaciones en los parámetros ambientales. Con respecto al segundo punto se enviaron ejemplares a los taxónomos especialistas de la familia para aclarar está interrogante.

En las superficie interna de los tépalos de *T. alata* se observaron tricomas de apariencia glandular, estas estructuras también fueron observadas en *Andruris vitensis* por Tomlinson (1982) y por Maas y RübSamen (1986) en *T. hyalina* y *T. hexophthalma*. Estos autores sugieren que estas estructuras emiten olores agradables para atraer a los polinizadores, en *T. alata* no se pudieron hacer los estudios pertinentes para determinar la naturaleza química de los tricomas, por lo que no se puede asegurar que éstos produzcan fragancias, además durante el trabajo de campo de esta investigación en *T. alata* no se observó ningún tipo de polinizador cuya función sería transportar los granos de polen desde las anteras de las flores masculinas a los estigmas de las femeninas, requisito indispensable si estas plantas dioicas se reproducen sexualmente. Sólo trabajos en el campo nos pueden ayudar a solucionar esta interrogante.

En el cuadro 1 se observa que las anteras sésiles y tetrasporangliadas son caracteres de todas las especies del género *Triuris*, además de estas características, se debe agregar que las anteras de *T. alata*

tienen una línea de dehiscencia longitudinal extrorsa, caracter que comparte con *T. hyalina*, mientras que en *T. hexophthalma* aún no hay información acerca de la dehiscencia de las anteras. La posición extrorsa de la línea de dehiscencia es un caracter constante y de valor taxonómico en los miembros de la familia Triuridaceae según Giesen (1938), Jonker (1943), Standley (1958), Dahlgren et al. (1985) y Maas y Rübtsamen (1986). La presencia de éste caracter, el diocismo, el hábito saprófito, el gineceo apocárpico y las semillas con abundante endospermo (Espinosa-Matias, 1991) en *T. alata* apoyan su inclusión como especie del género *Triuris*.

### 6.3. ANATOMIA DE LOS ORGANOS REPRODUCTORES

El trabajo más completo sobre los aspectos anatómicos y embriológicos de la familia Triuridaceae es el de Rübtsamen-Weustenfeld (1991). Para el género *Triuris* ella afirma la existencia de tres especies: *T. alata*, *T. hexophthalma* y *T. hyalina*. La especie mejor estudiada desde el punto de vista embriológico es *T. hexophthalma* de la que sólo se desconoce la macrosporogénesis y la estructura de la semilla, en *T. hyalina* se desconoce la micro y megasporogénesis, así como la estructura de la semilla, mientras que para *T. alata* solo se conocía la morfología de la pared del fruto y de la semilla. Debido al número de caracteres estudiados de los individuos masculinos de *T. alata* en este trabajo y por Espinosa-Matias, (1991), puede considerarse, que hasta el momento, *T. alata* es la especie del género *Triuris* mejor conocida desde el punto de vista anatómico, embriológico y palinológico.

En particular, los caracteres embriológicos de las flores masculinas de *T. alata* presentados en este trabajo (cuadro 1: desarrollo de la pared de la antera tipo monocotiledóneo, tapete tipo secretor uni o binucleado, tétrada de tipo isobilateral, grano de polen tricelular al momento de la dispersión), son totalmente similares a los mencionados por Dahlgren (1985), Rüksamen (1986 en: Maas y Rüksamen, 1986) y Rüksamen-Weustenfeld (1991) quienes han estudiado la embriología de las otras especies del género *Triuris* y de otros miembros de la familia Triuridaceae, lo cual indica que a este nivel los caracteres en la familia son bastante constantes. Con respecto a la embriología de las flores femeninas de *T. alata* Espinosa-Matias (1991) observó que los caracteres embriológicos también se mantienen constantes en el género *Triuris*.

Los resultados del estudio palinológico de *T. alata* coinciden sólo con los indicados por Engler (1889), Rüksamen (1986 en: Maas y Rüksamen, 1986) y Rüksamen-Weustenfeld, (1991) para *T. hyalina*, ya que en *T. hexophthalma* se menciona que los granos de polen son monosulcados, en las muestras de polen de *T. alata* analizadas no se observó ningún tipo de abertura, todos los granos de polen observados fueron inaperturados.

La exina verrugosa observada en *T. alata* es otro carácter constante que comparte con las otras dos especies del género de *Triuris* (cuadro 1). Una observación importante del grano de polen en *T. alata* con respecto a la exina es que ésta es muy delgada y en la mayoría del polen estudiado se desprende quedando solo la intina (Fig. 41) muy engrosada (Fig. 46), recubriendo la superficie del grano de polen. Al respecto se han reportado granos de polen con exina delgada o poco



estratificada en 30 familias y 13 órdenes de Monocotiledóneas entre las cuales se incluye a la familia Triuridaceae (Dalhgren y Clifford, 1982; Kress, 1986). Kress et al. (1978) y Stone et al. (1979) coinciden en señalar que los granos de polen con una exina delgada se caracterizan por presentar la capa de intina muy engrosada y altamente estructurada, por otro lado Kress (1986) menciona que la intina muy estructurada se distribuye en toda la superficie del grano de polen. Los granos de polen de *T. alata* presentan características similares a las antes mencionadas. Nuevamente, en la Fig. 41 se observa claramente que la exina es una capa delgada y la capa de intina engrosada (Fig. 46) está distribuida uniformemente en toda la superficie del grano de polen. Este hecho hace suponer que las funciones de protección, harmomegátia y reconocimiento que generalmente le corresponden a la exina las asume la intina. Kress et al. (1978) y Kress (1986) trabajando con granos de polen de plantas que habitan selvas tropicales señalan que la harmomegátia es mínima en los granos de polen con exina delgada o no exinados al momento de la antesis, es posible que los granos de polen de *T. alata* esten totalmente hidratados al momento de la antesis y probablemente han desarrollado algún mecanismo para soportar la pérdida de agua al estar expuestos al ambiente durante la dispersión, de tal forma que la intina, sería la responsable de regular la entrada y salida de agua. Debido a que los granos de polen de *T. alata* carecen de aberturas y de una exina gruesa, probablemente, durante la germinación el tubo polínico es capaz de emerger de cualquier punto de la superficie.

Sin embargo las muestras de polen utilizadas para este trabajo, pudieron estar alteradas ya que no fueron tomadas directamente de los ejemplares de herbario como lo establece la técnica convencional de Erdtman (1960) sino que previamente estuvieron sometidas a fijadores que pudieron alterar la naturaleza de la pared del grano de polen. Es probable que el desprendimiento de la exina que se observa en las microfografías se deba a lo antes señalado. Con respecto a las observaciones sobre la germinación de los granos de polen en el interior de la antera se hacen los siguientes comentarios; en primer lugar probablemente no es una verdadera germinación, Dieringer y Cabrera (1994) establecen que un grano de polen ha germinado cuando la longitud del tubo polínico es igual o mayor al diámetro del grano de polen, bajo esta condición en *T. alata* nunca se observaron tubos polínicos mayores o iguales al diámetro del grano de polen. La "germinación" observada podría ser solamente una ruptura de la pared del grano de polen y una proyección del contenido citoplásmico. En segundo lugar, y con respecto a la tasa de germinación de los granos de polen, esta fue realmente escasa, de igual forma fueron escasas las anteras en donde se observaron dichos granos de polen. Por último, como ya se había mencionado, se colectaron algunos ejemplares que desde el punto de vista morfológico son bisexuales, si realmente existieran las flores bisexuales funcionales, se pudiera pensar en un tipo de fecundación autógena y quizá en una cleistógama como la observada en *Lacandonia schismatica* Martínez y Ramos, (Lacandoniaceae) (Martínez y Ramos, 1989) planta bisexual (Márquez-Guzmán, et al. 1993; Vázquez, 1993), que pertenece al mismo orden que *T. alata*.

Brewbaker (1967) al estudiar al orden Triuridales y la familia Triuridaceae propone que los géneros de esta familia presentan granos de polen tricelulares y que la condición tricelular es un carácter filogenéticamente avanzado. En *T. alata* los granos de polen maduros listos para la dispersión, son tricelulares. Por lo que respecta a las otras especies del género, Rüksamen (1986 en Maas, 1986) y Rüksamen-Weustenfeld (1991) observaron este carácter en *T. hyalina* y *T. hexophthalma*. Otra familia del mismo orden que presenta el carácter de granos de polen tricelulares es Lacandoniaceae (Quiroz, 1990; Márquez-Guzmán, et al. 1993). Probablemente éste carácter se mantiene constante a nivel de orden, ya que los granos de polen de las especies estudiadas de ambas familias son tricelulares, lo cual apoya la hipótesis de Brewbaker (1967).

En *T. alata* el núcleo de la célula vegetativa se encuentra en gran actividad transcripcional indicada por la presencia de eucromatina. Lo contrario es observado en las células espermáticas las cuales presentan abundante heterocromatina. Esta diferencia de actividad celular quizá se deba a que, como lo mencionan Bhojwani y Bhatnagar (1981) al hacer referencia a la fisiología del grano de polen, "la célula vegetativa está llevando a cabo la síntesis de nutrimentos para las células espermáticas hasta el momento de la fecundación". La observación del núcleo de la célula vegetativa en gran actividad y de aspecto fragmentado fue señalado por Rüksamen-Weustenfeld (1991) en *T. hyalina*.

#### 6.4. MORFOLOGIA DE LOS ORGANOS VEGETATIVOS

La morfología de los órganos vegetativos de *T. alata* es similar a la descrita para *T. hyalina* y *T. hexophthalma* por Engler (1889), Giesen (1938), Jonker (1942), Standley (1958), Tomlinson (1982), Waechter (1984) y Maas y RübSamen (1986), Maas y Maas (1987), Maas (1988), Maas-van de Kamer (1989) y RübSamen-Weustenfeld (1991).

A diferencia de la observación de escamas en el rizoma de *T. hyalina* por Engler (1889) y *T. alata*\* por Brade (1943) y Maas-van de Kamer (1989), en las preparaciones analizadas con diferentes técnicas, en el rizoma de *T. alata*, no se observaron escamas. En la zona de los nudos hay primordios de raíces que al surgir rompen la epidermis (Fig. 70) dando una apariencia escamosa al rizoma. Probablemente las escamas que mencionan los autores antes señalados para *T. alata*\* corresponden a restos de la epidermis.

La presencia de surcos en los tallos aéreos sólo se han observado en *T. hexophthalma* y *T. alata* (cuadro 2), a esta última le dan la apariencia alada una vez que se ha herbarizado, aún falta por saber si *T. hyalina* presenta surcos en el tallo. De ser así, se podría suponer que es un carácter que delimita al género.

#### 6.5 ANATOMIA DE LOS ORGANOS VEGETATIVOS

Como se puede constatar en el cuadro 2, la anatomía de los órganos vegetativos de las especies del género *Triuris* no se ha realizado en su totalidad. Solamente se tiene información de los órganos vegetativos de *T. alata*\* del Brasil y *T. alata* de la selva Lacandona. El análisis de la anatomía de las estructuras vegetativas de *T. alata* nos lleva a plantear, que salvo algunas diferencias que

se mencionan a continuación, los resultados son similares a lo presentado por Milanez y Meira (1943) quienes trabajaron con esta misma especie colectada por Brade (1943) en Brasil.

Milanez y Meira (1943) observaron que la raíz de *T. aiata*\* presenta escasos pelos radicales los cuales están poco desarrollados, las observaciones en las raíces de *T. aiata* estudiadas con diferentes técnicas hacen suponer que la pubescencia mencionada por estos autores probablemente se debe a las hifas del hongo micorrizico que cubren parcialmente a la raíz y/o a las depresiones y levantamientos de la pared celular de la epidermis.

En *T. aiata* y *T. aiata*\* se observó que la endodermis del tallo posee paredes tangenciales externas e internas ligeramente engrosadas, mientras que el grosor es mayor en la endodermis del rizoma y raíz (Figs. 86 a 88). El grosor de las paredes de la endodermis fue mencionada desde los trabajos de Engler (1889). A pesar de esto Fiebrig (1921) y Tomlinson (1982) no observaron la endodermis en los órganos vegetativos que estudiaron. En este trabajo además de corroborar la presencia de la endodermis y del grosor de sus paredes, se realizaron pruebas histoquímicas que ponen de manifiesto la naturaleza química de esta estructura, las pruebas aplicadas indican que presenta taninos, polisacáridos insolubles y proteínas, la cual no ha sido mencionada para ninguna de las especies del género *Triuris*. En general el tejido vascular de los órganos vegetativos de *T. aiata* se encuentra reducido como corresponde a las plantas saprófitas. Esta reducción es aún más evidente en la raíz, en donde, en corte transversal, solo se observó un haz vascular con escasos elementos traquales y cribosos. En ninguno de los cortes

transversales analizados de los órganos vegetativos se pudo distinguir con claridad al proto y metafloema y proto y metaxilema, y sólo en el material disociado se observan elementos del protoxilema.

## 6.6 MICORRIZAS

La distribución de las hifas en la raíz coincide con lo mencionado por Flehring (1943) y Milanez y Meira (1943), así como las diferencias morfológicas entre las hifas del estrato medio y externo del córtex medio de la raíz de *T. alata*. En *T. alata* las diferencias también fueron detectada a nivel histoquímico como se puede apreciar en las Figs 93 y 94. Con respecto a la histoquímica de las micorrizas en el género *Triuris* no existe este tipo de información.

Dado que *T. alata* es una planta sin clorofila y por lo tanto incapaz de realizar fotosíntesis es lógico suponer que depende de su asociación con el hongo para obtener sus nutrimentos. Según Jackson y Mason (1984) "las plantas saprófitas que establecen asociación con hongos micorrizicos, terminan siendo parásitas de sus huéspedes", en este caso, no se puede asegurar que algo similar suceda debido a que, tanto en *Triuris* como en los otros géneros de la familia Triuridaceae no hay estudios ecológicos o fisiológicos sobre la asociación entre el hongo y la raíz de la planta, por lo cual sería conveniente hacer este tipo de estudios y determinar la importancia que tiene el hongo para la planta y viceversa.

Las micorrizas de *T. alata* son consideradas como endomicorrizas ya que las hifas forman un manto laxo en la superficie de la raíz, y por que penetran en las células del córtex medio, sin provocar alteraciones o daños, una vez dentro de la célula las hifas adoptan

la forma de ovillos. Aunque no se observaron arbusculos, no se sabe si esto ocurre por que no se forman o por que son efimeros, sin embargo este tipo de micorriza se considera vesiculo-arbuscular (aun cuando no se forman arbusculos Varela com. per). Brow y King (1991) consideran que los arbusculos son efimeros y que al término de su actividad se colapsan formando masas amorfas en las células hospederas. Se considera que en *T. alata* las hifas que se observaron colapsadas y amorfas corresponden a restos de arbusculos.

El estudio de la biología de *T. alata* recién se ha iniciado. El aspecto taxonómico ha sido abordado por diversos especialistas (Maas y Rùbsamen, 1986; Martinez, 1994). La anatomía vegetativa y la embriología fueron el propósito de estudio de este trabajo y de uno anterior. (Espinosa-Matias, 1991). Sin embargo aspectos tan importantes como la polinización, la fecundación, la embriogénesis, la germinación de las semillas, la morfología de la plántula y el establecimiento de la relación hongo-planta son temas de investigación abiertos.

Este trabajo aportó el conocimiento embriológico y anatómico de los individuos masculinos de *T. alata* que era, hasta antes de la presentación de estos resultados, la especie menos estudiada al respecto.

6.7. CUADROS COMPARATIVOS ENTRE LAS ESPECIES DE *Triuris* Miers.

CUADRO 1: ANATOMIA REPRODUCTIVA

CARACTER	<i>T. hyalina</i>	<i>T. hexophthalma</i>	<i>T. alata</i>
No. de estambres	3 Sésiles, unido a una línea basal horizontal.	3 Sésiles, unidos a la base del andróforo.	3 Sésiles, implantados en cavidades del andróforo
Anteras	Tecas unidas, bi o tetrasporangiada Dehiscencia extrorsa	Tecas separadas, bi o tetrasporangiada. No se conoce la dehiscencia de la antera.	Tecas unidas, tetrasporangiadas Dehiscencia extrorsa
Andróforo	Deltoide a ampliamente ovoide. Carnoso, de 1-1.5 X 2-3 mm	Cónico a deltoide Carnoso, de 2.6-3 X 1.8-2.3 mm.	Deltoide y obcordiforme, alado. Carnoso, de 2.3-2.6 X 2.5-3.2 mm.
Desarrollo de la pared de antera	No se ha estudiado	Monocotiledóneo	
Tapete	Parcialmente binucleado. Entre periplasmodial y secretor		Uni-binucleado. Secretor
Microesporogénesis	Sucesiva		
Tétrada	Isobilateral o decusada		Isobilateral.
Grano de Polen	Tricelular al dispersarse		



CUADRO 1: ANATOMIA REPRODUCTIVA  
(CONTINUACION)

CARACTER	<i>T. hyalina</i>	<i>T. hexophthalma</i>	<i>T. alata</i>
Exina	Reticulada o verrugosa		Verrugosa, delgada
Intina	Bien formada		Bien formada y engrosada.
Forma del grano de polen	Apolar	Apolar a Ovoide	Apolar
Aberturas del grano de polen	Inaperturado	Monosulcado	Inaperturado

CUADRO 2: ANATOMIA VEGETATIVA.

CARACTER	<i>T. hyalina</i>	<i>T. hexophthalma</i>	<i>T. alata</i> *	<i>T. alata</i>
RAIZ	No se han cuantificado	numerosas	No se han cuantificado	numerosas
Dimensiones	8 cm de largo, 0.1-0.4 mm de diámetro.	1-1.5 cm de largo, 0.4-0.7 mm de diámetro	7 cm de largo, no se conoce el diámetro.	1.5-3 cm de largo, 0.4-0.45 mm de diámetro.
Tricomas	Ausentes o con pelos esparcidos de 0.2-0.3 mm de diámetro			Ausentes
Epidermis	No se ha estudiado		Uniestratificada	
Exodermis	No se ha estudiado		Uniestratificada y por abajo de la epidermis	
Córtex medio	No se ha estudiado		Células parenquimáticas de diferentes dimensiones. El estrato externo y medio presentan hifas.	
Endodermis	No se ha estudiado		Uniestratificada con las paredes tangenciales externas e internas muy engrosadas. En las paredes radiales se observan las bandas de Caspary.	
Cilindro central	No se ha estudiado		Muy reducido. Periciclo uniestratificado. Tejido vascular reducido.	
Micorrizas	Endomicorrizas, las hifas se distribuyen en el estrato medio y externo del córtex medio. No se han observado los arbusculos. Algunas hifas forman vesículas.			
	V-A, las hifas forman ovillos compactos.			

CUADRO 2: ANATOMIA VEGETATIVA.  
(CONTINUACION)

CARACTER	<i>T. hyalina</i>	<i>T. hexophthalma</i>	<i>T. alata</i> *	<i>T. alata</i>
TALLO AEREO	Blanco			Hialino
Dimensiones	2-12(-20)cm de largo, 0.3-1.5 mm de diámetro. No se han descrito surcos.	8-20 cm de largo 0.9-1.5mm de diámetro. Con pequeños surcos.	6-20 cm de largo, 0.3-1.5 mm de diámetro. No se han descrito surcos.	3-10(15) cm de largo, 1-1.5 (2) mm de diámetro. Con grandes surcos.
Epidermis	No se ha estudiado		Uniestratificada	
			No se han observado escamas, estomas y/o tricomas.	Carece de escamas, estomas y tricomas. Cutícula engrosada
Córtex	No se ha estudiado		De 4-6 estratos de cél. parenquimáticas.	6-8 estratos células parenquimáticas.
Endodermis	No se ha estudiado		Uniestratificada con las paredes tangenciales externas e internas ligeramente engrosadas, en las paredes radiales se observan las bandas de Caspary.	
Cilindro central	No se ha estudiado		Periciclo uniestratificado.	
			No se han observado haces vasculares, sólo en corte transversal se han observado de 2-3 elementos traqueales.	En corte transversal de 5 a 6 haces vasculares laterales. Médula parenquimática.

CUADRO 2: ANATOMIA VEGETATIVA.  
(CONTINUACION)

CARACTER	<i>T. hyalina</i>	<i>T. hexophthalma</i>	<i>T. alata</i> *	<i>T. alata</i>
RIZOMA	Largos de 10 mm de longitud		Corto, no se mencionan las dimensiones.	Cortos, cilindricos. 4-5 mm de longitud. 0.5-0.7 mm de diámetro
Tricomas	No se han estudiado		Se han observado escamas	Ausentes
Epidermis	No se ha estudiado			Uniestratificada.
Córtex	No se ha estudiado		De 4-5 (6) estratos celulares	Células parenquimáticas.
			Se desconoce la naturaleza celular.	
Endodermis	No se ha estudiado		Las paredes tangenciales externas e internas presentan engrosamientos. Bandas de Gaspary presentes.	
Cilindro central	No se ha estudiado		No se menciona al periciclo, los haces vasculares forman un anillo, que rodea a la médula.	Periciclo parenquimático uniestratificado 3 a 4 haces vasculares colaterales rodeando a la médula.
Hojas	Modificadas en la bráctea que cubre al botón floral			
	Además 1 ó 2 dispersas en el tallo.			

## 7. CONCLUSIONES

1. En la base del andrógono y tépalos hay tricomas de apariencia glandular.
2. La región apical del andrógono es alada.
3. Las anteras son sésiles, biloculares y tetrasporangiadas. En la base presentan células indiferenciadas.
4. Cada lóculo presenta una línea de dehiscencia longitudinal extrorsa.
5. La maduración de las anteras es asincrónica.
6. El desarrollo de la pared de la antera es de tipo Monocotiledóneo.
7. La epidermis es persistente.
8. El endotecio tiene engrosamientos en forma de U.
9. El tapete es de tipo secretor.
10. La microsporogénesis es sucesiva y forma tétradas isobilaterales.
11. El grano de polen es apolar, intectado e inaperturado con tres células cuando se dispersa. Presenta polisacáridos y proteínas.
12. La exina es delgada, mientras que la intina es gruesa.
13. Algunos de los granos de polen probablemente germinan dentro del lóculo de la antera.
14. Los caracteres embriológicos observados para los individuos masculinos de *T. alata* son compartidos con todas las especies del género hasta ahora estudiadas.

15. Algunas características permiten suponer la presencia de reproducción sexual en *T. alata* como son :
- a) Granos de polen perfectamente formados.
  - b) Un saco embrionario heptacelular (octanucleado) con una ovocélula estructuralmente bien constituida (Espinosa-Matias, 1991).
  - c) La presencia de un cigoto (Espinosa-Matias, 1991).
  - d) Un embrión derivado de la división del cigoto (Espinosa-Matias, 1991).
16. El tallo aéreo presenta surcos que lo recorren a todo lo largo.
17. El tallo carece de estomas y glándulas.
18. La endodermis de los órganos vegetativos tienen las paredes tangenciales externas e internas engrosadas.
19. El sistema vascular está reducido.
20. Las micorrizas son endomicorrizas vesículo-arbuscular. Las hifas infestan solo el estrato medio y externo del córtex medio de la raíz.
21. Las hifas toman la forma de ovillos muy compactos.
22. Hay diferencias morfológicas e histoquímicas entre las hifas del estrato medio y externo.

## 8. BIBLIOGRAFIA CITADA

- Barea, J.M., C. Azcon-Agullar y B. Roldan-Fajardo. 1989. Avances recientes en el estudio de la Micorriza V-A. Formación, funcionamiento y efectos en la nutrición vegetal (1). Ann. Inst. Edafol. 49: 659-675.
- Bhojwani, S.S., y S.P. Bhatnagar. 1981. The Embryology of angiosperm. Vikas Publishing House PVT LTD., Delhi. 280 pp.
- Blackmore, S., y S.H. Barnes. 1991. Palynological diversity. En: Blackmore, S., y S.H. Barnes (eds). Pollen and spores, Patterns of diversification 44. The Systematics Association. Oxford University Press. New York. 391 pp.
- Bonfante-Fasolo, P. 1984. Anatomy and Morphology of VA Mycorrhizae. En: Powell, C. L., y J. Bagyaras (eds). VA Mycorrhizae. CRC Press, Inc. Florida. 5-35 pp.
- Brade, A.C. 1943. Saprófitas do Itatiaia. Arq. Serv. Florestal 2(1): 45-49.
- Brewbaker, L.J. 1967. The distribution and phylogenetic significance of binucleate and trinucleate pollen grains in the angiosperms. Amer. J. Bot. 54(9): 1069-1083.
- Brow, H. F. y E.J. King. 1991. Morphology and Histology of vesicular-arbuscular micorrhizae. En: N.C. Schenck (ed.). Methods and principles of micorrhizal research. APS Press, Minnesota. 15-23 pp.
- Chapman, G.P. 1987. The Tapetum. En: Bourne, G.P., K.W. Jeon. y M. Friedlander (eds). Pollen: Cytology and development. Academic Press., INC. New York. 111-124 pp.

- Cortés, C. F. 1985. Cuadernos de Histología Vegetal. Edit. Marban. Madrid España. 190 pp.
- Cronquist, A. 1969. Introductory Botany. Harper & Row Publish, New York. 209 pp.
- \_\_\_\_\_. 1981. An integrated system of classification of flowering plants. Columbia Univ. Press, New York. 1262 pp.
- \_\_\_\_\_. 1988. The evolution and classification of flowering plants. The New York Botanical Garden, New York. 555 pp.
- Curtis, P.J. 1986. Microtecnia Vegetal. Edit. Trillas, México. 106 pp.
- Dahlgren, R.M.T. y H.T. Clifford. 1982. The Monocotyledons. A comparative study. New York, Academic Press. 320 pp.
- Dahlgren, R.M.T., H.T. Clifford and P.F. Yeo. 1985. The Families of the Monocotyledons: Structure, Evolution and Taxonomy. Spring-Verlag, New York. 520 pp.
- Davis, G.L. 1966. Systematic embryology of the Angiosperms. John Wiley and Sons, INC., New York. 528 pp.
- Desmond, H.K. 1965. Techniques for electron microscopy. 2nd, ed., F.A. Davis Company, U.S.A. 218 pp.
- Dieringer, G. y L. Cabrera. 1994. A manual for the study of pollination ecology at field stations. Instituto de Ecología y Alimentos, UAT. México. 39 pp.
- Engler, A. 1889. Triuridaceae. *Plranti Nat. Pflanzenfam* 2(1): 235-238.
- Erdtman, G. 1960. The acetolysis method a revised description. *Suensk. Bot. Tidskr.* 54: 561-564.



- Esau, K. 1972. Anatomía Vegetal. Edit. (trad. del inglés). Omega, Barcelona España. 663 pp.
- \_\_\_\_\_ 1982. Anatomía de las plantas con semilla. (trad. del inglés). Hemisferio Sur, Buenos Aires. 512 pp.
- Espinosa-Matias, S. 1991. Estudio estructural e histoquímico de individuos femeninos de *Triuris alata* (Triuridaceae) nuevo registro para México. Tesis de Licenciatura. Facultad de Ciencias. México. 74 pp.
- Fiebrig, C. 1921. Phanerógamas saprófitas: *Triuris mycolides* sp. nov. Rev. Jard. Bot. Paraguay. 1: 164-169.
- Foster, A.S., y E.M. Gifford. 1988. Morphology and evolution of vascular plants. 3<sup>th</sup> ed., W.H. Freeman and Co., New York. 626 pp.
- Giesen, H. 1938. Triuridaceae. Das Pflanzenreich. IV. 18., Heft 104: 1-84.
- Jackson, R.M., y P.A. Mason. 1984. Mycorrhiza studies in Biology No. 159. Edward Arnold Publishers. Ltd. London. 60 pp.
- Jensen, W.A. 1962. Botanical Histochemistry. Principles and practice. W.H. Freeman and Co., San Francisco. 406 pp.
- \_\_\_\_\_, F.B. Salisbury. 1988. Botánica. MacGraw-Hill, México. 761 pp.
- Johansen, D.A. 1940. Plant Microtechnique. MacGraw-Hill, New York. 523 pp.
- Jonker, F.P. 1943. Triuridaceae. Fl. of Suriname 1: 461-466.

- Kessel, R.G. y Y.C. Shih. 1976. Scanning electron microscopy in Biology. Springer Verlag, Berlin Alemania. 1-19 pp.
- Kress, W.J., Stone, D.E. y S.C. Sellar. 1978. Ultrastructure of exine-less pollen: *Heliconia* (Heliconiaceae). *Amer. J. Bot.* 65: 1064-1076.
- \_\_\_\_\_. 1986. Exineless pollen structure and pollination systems of tropical *Heliconia* (Heliconiaceae). En: Blackmore, S. y I.K. Ferguson (eds). *Pollen and spores. Form and function.* Academic Press, New York. 429 pp.
- Locquin, M., Langeron, M. 1985. *Manual de Microscopia.* 1ra. ed. Edit. Labor España 275 pp.
- Maas, P.J.M. 1979. Neotropical saprophytes. En: Larsen, K. y H. Nielsen (eds). *Tropical Botany.* Bot. Inst. San Francisco. 365-370.
- \_\_\_\_\_. y T. RübSamen. 1986. Triuridaceae. *Fl. Neotrop* 40: 1-55.
- \_\_\_\_\_. y H. Maas. 1987. Ecuatorian saprophytes, a preliminary review. *Opera. Bot.* 92: 131-145.
- \_\_\_\_\_. 1988. Triuridaceae. *Fl. Colombia* 6(10): 1-32.
- \_\_\_\_\_. y H. Maas-van de Kamer. 1989. 174. Triuridaceae. *Fl. of the Guyanas* 3: 3-21.
- Maheshwari, P. 1950. *An introduction to the embryology of Angiosperm.* MacGraw-Hill, New York. 453 pp.

- Márquez-Guzmán J., S. Vázquez-Santana, E.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.
- \_\_\_\_\_. 1994. *Triuris* Miers. En: G. Davidse, M. Sousa, y A.D. Chatters (eds). *Flora Mesoamericana* 6. México. 18-19 pp.
- Mazia, D., P.A. Brewer, y M. Alfert. 1953. The cytochemical staining and measurement of protein with Mercuric Bromophenol Blue. *Biol. Bull.* 104: 57-67.
- Milanez, F.M., y E. Meira. 1943. Observações sobre *Triuris alata* Brade. *Arq. Serv. Florestal.* 2(1): 51-64.
- Nelsen, Ch.E. 1987. The water relations of vesicular-arbuscular mycorrhizal systems. En: R.G. Safir (ed.). *Ecophysiology of VA mycorrhizal plants*. CRC Press, Florida. 71-93 pp.
- Phillips, J.M., y D.S. Hayman. 1970. Improved procedures for clearing root and staining parasitic and vesicular-arbuscular mycorrhizas fungi for rapid assessment of infection. *Trans. Br. Mycol. Soc.* 55: 158-161.
- Pragłowski, J. 1971. Reticulate and allied exines. *Grana* 11: 79-86.
- Quiroz, Ch.S. 1990. Estudio estructural del desarrollo del microsporangio de *Lacandonia schismatica* (Lacandoniaceae). Tesis de Licenciatura. Facultad de Ciencias. U.N.A.M. México. 47 pp.

- Rübsamen-Weustenfeld, T. 1991. Morphologische, embriologische und systematische untersuchungen an Triuridaceae. Biblioth. Bot. 140: 1-113.
- Santander, G.R. 1969. Técnicas de Microscopia electrónica en Biología. Edit. Aguilar, Madrid España. 666 pp.
- Shivanna, K.R. y B.M. Johri. 1985. The angiosperm pollen. Structure and function. Wiley Eastern Limited, New Delhi. 374 pp.
- Standley, P.C. y J.A. Steyermark. 1958. Triuridaceae. Fieldiana Bot. 4 (1): 86-90.
- Stone, D.E., S.C. Sellers y W.J. Krees. 1979. Ontogeny of exineless pollen in *Heliconia*, a banana relative. Ann. Missouri. Bot. Gard. 66: 701-730.
- Stuessy, F.T. 1990. Plant taxonomy. The systematic evaluation of comparative data. Columbia Univ. Press, New York. 514 pp.
- Tobe, H. 1989. The Embryology of angiosperm: Its broad application to the systematic and evolutionary study. Bot. Mag. Tokyo 102: 351-367.
- Tomlinson, P.B. 1982. Helobiae (Alismatidae): Triuridaceae. En: Metcalfe, C.R. (ed). Anatomy of the Monocotyledons VII. Clarendon Press, Oxford. 466-559 pp.
- Valley, P. 1976. JB-4 embedding kit. Polysciences Inc. Printed in U.S.A.
- Vázquez, S.S. 1993. Estudio estructural e histoquímico de *Lacandonia schismatica* Martínez-Ramos (Lacandoniaceae). Familia, género y especie nuevos para la ciencia. Tesis de Maestría. Facultad de Ciencias. U.N.A.M. México. 95 pp.

Waechter, J.L. 1984. Ocorrência da família Triuridaceae no Rio Grande do Sul, Brasil. *Iheringia. Sér. Bot.* 32: 3-8.

Walker, J.W., y J. Doyle. 1975. The bases of angiosperm phylogeny: Palynology. *Ann. Missouri Bot. Gard.* 62: 664-723.

Ante la insidia de los blancos, Canek convocó a los indios semaneros. Sin hablarles, les señaló una mesa donde había armas y pan.

Unos tomaron un pan. A éstos les dio un arma y les dijo que defendieran sus casas. Otros tomaron un arma. A éstos les dio un pan y les dijo que defendieran las trincheras. Otros tomaron un arma y un pan. A éstos, como los viera con señales de cautela, les ordenó que fueran capitanes.

Canek

Ernilo Abreu Gómez