



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MEXICO

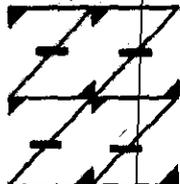
FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES "ZARAGOZA"

ESTUDIO MORFOLOGICO DE LOS PROCESOS DE LA REPRODUCCION SEXUAL DE LA PALMA *Chamaedorea elegans* Mart. (ARECACEAE)

T E S I S
QUE PARA OBTENER EL TITULO DE
B I O L O G O
P R E S E N T A :
RAUL FLORES MEJIA

DIRECTOR DE TESIS: M. en C. AMADEO BARBA ALVAREZ

UNAM
FES
ZARAGOZA



LO NUMERO DE
DE NUESTRA REFLEXION

MEXICO, D. F.

1999

277938



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

**La presente tesis fue realizada en la Unidad de Investigación en
Biología Vegetal de la Facultad de Estudios Superiores Zaragoza, de la
Universidad Nacional Autónoma de México,
bajo la dirección del M. en C. Amadeo Barba Álvarez y con
apoyo de beca-tesis otorgada por DGAPA (UNAM).**

AGRADECIMIENTOS

Al M. en C. Amadeo Barba Álvarez, por su dirección y apoyo para la realización de esta tesis.

A los miembros del jurado:

M. en C. Bárbara Susana Luna Rosales

Biól. Balbina Vázquez Benítez

Biól. Rosa Isela Ramírez Ramírez

Biól. Juan Romero Arredondo

Por sus comentarios y correcciones que ayudaron a enriquecer esta tesis.

Un agradecimiento y reconocimiento especial al Biól. Juan Romero Arredondo por su valiosa asesoría teórica y práctica para la realización del trabajo de tesis.

DEDICATORIAS

A mis padres:

Con respeto y cariño.

A mis hermanos:

Por todo lo que hemos compartido.

A mi esposa e hija:

Por quienes siempre daré lo mejor de mí.

A mis suegros:

Gracias por su confianza.

A mis amigos incondicionales:

**Antonieta, Toño, Beto, Alejandro, Paty, Maribel, Alma, Rommel, Rubén,
Juan, Sergio, Hortensia, Bety y Susana.**

ÍNDICE

ÍNDICE

RESUMEN	i
I. INTRODUCCIÓN	1
II. ANTECEDENTES	
2.1. Familia <i>Arecaceae</i>	
2.1.1. Descripción y distribución	3
2.1.2. Género <i>Chamaedorea</i> Willd.	
2.1.2.1. Descripción y distribución	4
2.1.3. <i>Chamaedorea elegans</i> Mart.	
2.1.3.1. Descripción y distribución	5
2.1.3.2. Clasificación taxonómica	7
2.1.4. Usos y problemática de la palma camedor	8
2.2. Procesos de la reproducción sexual	
2.2.1. Embriología	11
2.2.2. Reproducción sexual	
2.2.2.1. Angiospermas	12
2.2.2.2. Familia <i>Arecaceae</i>	17
2.2.3. Embriogénesis	
2.2.3.1. Tipos de embriogénesis	18
2.2.3.2. Angiospermas	20
2.2.3.3. Familia <i>Arecaceae</i>	23
2.2.4. Histogénesis	26
2.2.5. Embrión	
2.2.5.1. Angiospermas	28
2.2.5.2. Familia <i>Arecaceae</i>	30
III. JUSTIFICACIÓN Y OBJETIVOS	31

IV.	MATERIALES Y MÉTODOS	
	4.1. Obtención del polen y pruebas de viabilidad	32
	4.2. Polinización artificial	33
	4.3. Colecta y fijación del material biológico	33
	4.4. Procesamiento histológico	34
	4.5. Análisis de datos	
	4.5.1. Análisis histológico	36
	4.5.2. Análisis citológico	36
V.	RESULTADOS	
	5.1. Estructura anatómica de la flor	37
	5.2. Germinación del grano de polen	39
	5.3. Embriogénesis	41
VI.	DISCUSIÓN DE RESULTADOS	53
VII.	CONCLUSIONES	64
VIII.	LITERATURA CITADA	66
IX.	ANEXO	72

RESUMEN

RESUMEN

El presente estudio describe el proceso ontogénico del desarrollo del embrión de la palma *Chamaedorea elegans*, que pertenece a la familia *Arecaceae*. Esta especie se reporta distribuida para México en los estados de Oaxaca, Tabasco, Chiapas, Veracruz, Quintana Roo y Campeche.

Esta planta ocupa el primer lugar mundial de importancia en el comercio de palmas de ornato y está catalogada como vulnerable por la UICN (Unión Internacional para la Conservación de la Naturaleza).

Con base en la información existente es claro que son pocos los conocimientos acerca de la reproducción de las palmas del género *Chamaedorea* y en particular de *Chamaedorea elegans*, por lo que el presente estudio tuvo como finalidad aportar conocimientos de los procesos de la reproducción sexual de esta especie, particularmente en el desarrollo morfológico del embrión.

La metodología utilizada comprendió la obtención y evaluación de la calidad del polen, la polinización artificial de flores femeninas para inducir la formación de embriones, colecta del material biológico y el procesamiento y análisis histológico.

Dentro de los resultados se observó que el tubo polínico al geminar sigue el canal locular para penetrar al saco embrionario por el micrópilo.

El cigoto pasó por un periodo en el que no se divide, la primera división es transversal y posteriormente sigue el desarrollo embrionario tipo Asterado.

Durante el proceso de desarrollo el embrión de *Chamaedorea elegans* presentó las siguientes etapas: proembrión de una célula, proembrión cuadrante, proembrión octante, proembrión globular temprano, proembrión globular medio, proembrión globular final, embrión elipsoide, embrión oblongo, embrión acorazonado, embrión sagitado y embrión maduro.

El embrión maduro es de forma cónica y está constituido por tres tejidos epidérmis, parénquima y procámbium. Presenta un cotiledón y un eje hipocótilo-radícula, que consiste en un ápice de brote y un meristemo radicular indiferenciado.

INTRODUCCIÓN

I. INTRODUCCIÓN

La familia *Arecaceae* (*Palmae*) es una de las más antiguas sobre la Tierra, Carlos Linneo nombró a este grupo de plantas como "Los Príncipes del Reino Vegetal", título que portan con merecimiento ya que, exceptuando a la familia de las gramíneas, ningún otro grupo de vegetales es tan útil para el hombre por los recursos que proporciona (Moscoso, 1945; Romero, 1990).

Las palmas se encuentran entre las primeras familias de angiospermas que han sido reconocidas en el registro fósil. Muller (1981), describe polen encontrado en los sedimentos del periodo Maestrichtiano, muy similar al polen del género actual *Areca*, por lo que se estima que las palmas se originaron hace 69 millones de años durante el período Cretácico Superior, aunque otros autores indican la presencia de macrofósiles (hojas y tallos) en rocas del Santoniano y posiblemente del Conaciano, lo cual indicaría la presencia de palmas desde el pre-cretácico (Christopher, 1979; Dalghian, 1981; Aguilar, 1986; Barba y Romero 1993).

De acuerdo con la clasificación de Dransfield y Uhl (1986), tres de las seis subfamilias, seis de las 14 tribus, siete de las 36 subtribus y 22 de los 200 géneros (Quero, 1992) de palmas que se distribuyen en el mundo se encuentran en México.

En lo que respecta a las especies, no es posible dar una estimación del número total, ya que existen problemas taxonómicos y algunos géneros se han revisado poco. Quero (1992), indica que en México existen alrededor de 100 especies.

Tomlinson (1990), menciona que dentro de la familia *Arecaceae* se encuentra el género *Chamaedorea*, perteneciente a la tribu *Hyophorbeae* de la subfamilia *Ceroxylidae* y cuenta con aproximadamente 114 especies.

Para México, el género de palmas con más especies reportadas (40 especies aproximadamente) es el género *Chamaedorea* (Quero, 1992).

En México las especies pertenecientes al género *Chamaedorea* (como lo son *Chamaedorea elegans*, *Chamaedorea lepejilote*, *Chamaedorea metallica*, *Chamaedorea oblongata*, *Chamaedorea concolor*, *Chamaedorea ernesti-augusti* y *Chamaedorea arembergiana*, entre otras), son de gran interés biológico y económico, este último debido a su gran uso como especies ornamentales (Barba y Romero, 1993).

Son pocos los conocimientos acerca de la biología básica de las palmas, por lo que se requiere llevar a cabo estudios de fisiología, anatomía, genética, etc., y generar conocimientos para su aprovechamiento, así como proponer un manejo sustentable de las diferentes especies de esta familia de gran importancia económica como son, por citar algunas, *Chamaedorea elegans*, *Phoenix dactylifera*, *Cocos nucifera*, y *Elaeis guinnensis* (Oyama, 1987; Tomlinson, 1990; González, 1993).

De la misma manera se conoce poco acerca de la biología floral de las palmas (Tomlinson, 1990) y en general su embriología no se ha estudiado (González, 1993), por lo que en algunos géneros como *Chamaedorea* son muy pocos los estudios existentes.

Los estudios científicos de la familia *Arecaceae* y particularmente del género *Chamaedorea* en sus diferentes aspectos ya sea básicos o aplicados, se hacen cada día más significativos, debido a la acelerada tasa de destrucción de sus hábitats y la gran utilización comercial a la que están sujetas (Oyama, 1987).

La especie *Chamaedorea elegans* se encuentra en el primer lugar mundial en el comercio de palmas de ornato, debido a esto sus comunidades naturales han sufrido sobreexplotación, debido a la extracción masiva, por lo que está catalogada por la UICN (Unión Internacional para la Conservación de la Naturaleza) como una especie vulnerable (IUCN, 1988).

ANTECEDENTES

II. ANTECEDENTES

2.1. FAMILIA ARECACEAE

2.1.1. Descripción y distribución

La familia Arecaceae incluye a todas las palmas, pertenece a la clase de las monocotiledóneas (Liliopsida), debido a que sus semillas sólo presentan una hoja embrionaria, la cual es gruesa y dura. Existen cuatro formas (hábitos) básicas de crecimiento de la palmas: arborecente, arbustiva, acaulecente y trepadora. Pueden ser simpodiales (cespitosas o coloniales) o monopodiales (tallos solitarios). Sus tallos presentan varios aspectos y tipos de crecimiento, varían ampliamente en altura, diámetro y dureza. Tienen un aspecto maderable aunque no comparable con el de las dicotiledóneas, debido a que no presentan xilema secundario o cámbium funcional, en su lugar las palmas tienen abundancia de fibras y esclerénquima y la dureza de su tallo se debe a la presencia de sílice (Aguilar 1986).

La hoja es el órgano más sobresaliente y distintivo de las palmas, se caracteriza por una cubierta que envuelve el tallo. Generalmente presenta un peciolo o lámina formada por un eje central (costa o raquis), el cual es corto en las hojas palmadas, más desarrollado en las hojas costapalmadas y prominente en las hojas pinnadas. La lámina de las hojas maduras puede ser completa, bifida en el ápice o dividida en unidades que se denominan segmentos, en las hojas palmadas y costapalmadas y folíolos o pinnas en las hojas pinnadas (Moore y Uhl, 1982)

El patrón floral básico en las palmas es trimero, con tres pétalos imbricados, tres sépalos imbricados, seis estambres y tres carpelos uniovulados. La reducción de la flor perfecta a la flor unisexual se debe a la pérdida o absorción del gineceo o del androceo (Moore y Uhl 1982; González 1993; Hernández, 1997).

La familia Arecaceae cuenta con 15 grupos, 200 géneros y aproximadamente 2700 especies, reconocidas en la versión moderna de la obra "Genera Palmarum" (Tomlinson, 1990). Las palmas se encuentran distribuidas mundialmente, en las regiones tropicales y subtropicales, extendiéndose en ocasiones a zonas más calientes o frías (Moore y Uhl, 1982).

2.1.2. Género *Chamaedorea* Willd.

2.1.2.1. Descripción y distribución

El género *Chamaedorea* presenta raíces fulcrantes, con crecimiento arbustivo o herbáceo principalmente, según la altura que alcance; las hojas son perennes, erectas y en ocasiones subtrepadoras. Son plantas no ramificadas (excepto *Chamaedorea cataractarum* Mart.), con diferentes tipos de tallos como trepador, múltiple, simple, corto o incluso puede estar ausente.

Las hojas son simples o con ápice bifido (hendido en dos partes), raramente redondeadas, pinnatisectas, peciolo delgados y cilíndricos, largos o cortos y en algunos casos como en *Chamaedorea metallica* Cook. el ápice es entero. Sus peciolo son delgados y cilíndricos, las hojas presentan una vaina en la base del peciolo que rodea al tallo, esta puede ser corta o elongada y encontrarse muy cerrada o abierta casi en su totalidad. Las hojas simples pueden tener forma cuneado-obovada, hasta ligeramente elípticas. En las hojas compuestas las pinnas o folíolos son alternos u opuestos, anchos o angostos, oblicuos o sigmoideos, sin peciolo, con margen entero, acuminados, nervoplegados con nervación paralela. En este género las hojas pueden tener forma linear, lanceolada, oblonga, trapezoidal o rómbica. El número de folíolos puede ser constante para determinada especie, el tamaño de las hojas va desde 17.5 cm de largo hasta 1.80 metros de largo, el color varía desde el verde lustroso hasta el verde opaco.

Las inflorescencias nacen entre o debajo de las hojas, pueden ser simples o ramificadas, con un eje o raquis que se subdivide en raquillas con un pedúnculo corto o alargado, algunas especies pueden presentar los dos tipos de inflorescencia (*Chamaedorea metallica* Cook.). Las raquillas son densamente floridas, de color amarillento, tomando un color anaranjado cuando el fruto está maduro. Presentan tres o más brácteas, elongadas, envolventes, hendidas en el ápice y coriáceas (Barba y Romero, 1993).

Poseen flores pequeñas, dioicas, sésiles o casi embebidas en la raquilla, trimeras (tres sépalos, tres pétalos, tres carpelos sincárpicos uniovulados o seis estambres). Las flores estaminadas tienen cáliz cupuliforme (en forma de cúpula) o anular, entero, trilobado o tripartido; la corola algunas veces es estipitada, con pétalos libres o variablemente fusionados. Los estambres están generalmente incluidos, son epipétalos de filamentos cortos, separados o connados, anchos o subulados, las anteras son dorsifijas (antera unida en el lado dorsal al filamento), incluidas, diateca, con dehiscencia lateral y

longitudinal, generalmente tienen pistilodio, con ápice expandido, truncado, atenuado o lobulado. Las flores pistiladas tienen cáliz semejante al de las flores estaminadas, la corola posee pétalos usualmente connados (fusionados), valvados (separados) o imbricados; el gineceo es sincárpico, de tres carpelos; el estilo está ausente, posee ovario súpero, trilocular, con óvulos axilares, basales, anátropos u ortótropos. Los estigmas son sésiles y recurvados. Los estaminodios pueden estar presentes o ausentes (Aguilar, 1986; Johri, et al., 1992b; Barba y Romero, 1993).

El fruto es pequeño, globoso, oblongo, a veces falcado o elipsoide, por lo general madura un carpelo. La semilla es erecta, globosa o elipsoide, hilo pequeño y basal, rafe poco notorio, posee un embrión rudimentario de lateral a poco basal, el endospermo es albuminoso, sólido, de cartilaginoso a óseo, uniforme no ruminado (Aguilar, 1986; Hodel, 1992; Barba y Romero, 1993).

El género *Chamaedorea* es endémico de América y se extiende desde México hasta Brasil y Bolivia, ocupa principalmente regiones tropicales y templadas, la mayoría de las especies se encuentran en Centroamérica, para México se reportan 40 especies (Quero, 1992), para Guatemala 35, Costa Rica 29 y Panamá 30 (Barba y Romero, 1993).

2.1.3. *Chamaedorea elegans* Mart.

2.1.3.1. Descripción y distribución

Nombres comunes: Para México: "palma camedor", "palmita camedor", "pasmilla", "palmilla de hojas angostas", "tepejilote", "palma fina" y "tutchast". Para Guatemala: "pacaya", "pacayito", "xate", "kiik". Otros nombres: "palma salón", "palma buena suerte" y "collinia".

Hábito: Solitario, delgado, erecto o algunas veces decumbente, de dos metros de altura o más, las flores son pequeñas y la inflorescencia tiene menos de 30 cm de largo.

Tallo: De 0.8 a 1.5 cm de diámetro, verde, densamente anillado con prominentes nudos, los entrenudos se separan de 0.5 a 3 cm de largo.

Hojas: De 5 a 8, extendidas, pinnadas.

Vaina: De 8 a 20 cm de largo, bastante oblicua, abierta cerca de la base, tubular a 1/3 de la parte baja, con lígula apical pequeña en ambos lados del peciolo, márgenes oscuros, pardos y desiguales, márgenes inferiores de color verde claro, longitudinalmente verde-estriada-nervada.

Peciolo: De 10 a 40 cm de largo, delgado, estriado y de color verde.

Raquis: De 15 a 60 cm de largo, muy delgado, con cuatro lados, angulado, de color verde, redondeado en la parte inferior, con una banda amarilla estrecha extendiéndose sobre el peciolo.

Pinna: De 11 a 21 pinnas a cada lado del raquis, de 15 a 30 cm de largo por 1 a 3 cm de ancho, lineales o estrechamente lanceoladas, acuminadas, basalmente contraídas, delgadas, de color verde oscuro, nervadura principal prominente y pálida, elevada o caída en la parte superior, con una o dos nervaciones primarias prominentes a cada lado de la nervadura principal, tenues.

Inflorescencia: Interfoliar, erecta, más pequeña o del mismo tamaño que las hojas.

Pedúnculo: De 15 a 90 cm de largo, de 5 a 9 mm de ancho en la base, más o menos plano, de 4 a 6 mm de ancho en el ápice, redondeado, de color verde cuando están expuestas las flores y de color rojo-naranja cuando están maduros los frutos.

Inflorescencia estaminada: Con 4 a 7 brácteas, pedúnculo prominente, la inflorescencia más larga alcanza 35 cm de largo, acuminada y bifida apicalmente, fibrosa, longitudinalmente estriado-nervada, café en flor; raquis de 1.5 a 20 cm de largo, longitudinalmente marcado o angulado, de color verde; raquilla de 5 a 35 cm, las de la parte baja son más largas, de 15 cm de largo, acortándose conforme se acercan al ápice del raquis, de dos mm de diámetro, simples o ramificadas, agudas y de color verde.

Inflorescencia pistilada: Similar a la inflorescencia estaminada pero con seis a 10 brácteas; raquis corto, flexible, de color anaranjado cuando los frutos están maduros; raquilla pocas en número y más cortas que las raquillas estaminadas, de color verde en flor y de color rojo-anaranjado en fruto.

Flores estaminadas: Separadas a colocadas moderadamente en espiral, su tamaño es de 3 X 4 mm, globosas deprimidas, de color amarillo, aromáticas, nervadas cuando están secas, sésiles o ligeramente hundidas; el cáliz tiene un tamaño de 0.75 a 1 mm X 2 a 2.25 mm, moderadamente lobado, de color verde, sépalos connados hasta la mitad de su parte basal, redondeados en la parte apical; pétalos de 2.5 X 2 mm, connados,

corola con apertura triangular, carnosos; estambres de 1.5 a 2 mm de largo, filamentos connados, anteras de 0.75 a 1 mm de largo, de color amarillo; pistilodio al mismo nivel o ligeramente arriba de la corola, brillosas en el ápice, con seis ángulos, de color amarillo verdoso.

Flores pistiladas: Colocadas en forma espiral apartada, de 3 X 2.75 mm, globosas, amarillas, nervadas cuando están secas, ligeramente hundidas en depresiones elípticas de 1 a 1.5 mm de largo; cáliz de 1 X 2 mm, profundamente lobado, color verde, sépalos connados hasta 1/3 de su parte basal, de redondeado a agudo en la parte apical; pétalos de 2 a 2.5 X 1.5 a 2 mm, connados, corola con apertura triangular, gruesos y carnosos; estaminodios ausentes; pistilo de 2 X 1 a 1.5 mm, globoso deprimido, color verde; estigma con lóbulos separados, sésiles, obtusos de color claro.

Frutos: de cuatro a siete mm de diámetro, globosos, de color negro; semillas de tres a seis mm de diámetro, globosas (Hodel, 1992).

Esta especie se distribuye en México en los estados de Chiapas, Hidalgo, Oaxaca, Puebla, San Luis Potosí, Tabasco, y Veracruz (Hodel, 1992).

2.1.3.2. Clasificación taxonómica

La clasificación de *Chamaedorea elegans* es la siguiente:

Clase: Monocotiledóneas

Superorden: Areciflorae

Orden: Arecales

Familia: Arecaceae o Palmae

Subfamilia: Ceroxylidae

Grupo: Chamaedoreoide

Género: *Chamaedorea*

Especie: *Chamaedorea elegans*

(Tomlinson, 1990; Barba y Romero 1993).

2.1.4. Usos y problemática de la palma camedor

Las camedoras comprenden un grupo de palmas de muchos tamaños y formas. Las hojas varían desde simples, del tamaño de una mano o menos (*Chamaedorea metallica* y *Chamaedorea tenella*), hasta muy grandes con muchas pinnas (*Chamaedorea elegans*).

Las palmas del género *Chamaedorea* se consideran un recurso forestal no maderable, cuyo follaje se utiliza ampliamente en adornos florales, mientras que las plantas completas son usadas para la decoración de interiores y jardines.

El género *Chamaedorea* contiene especies que son útiles y bellas, algunas especies se usan como alimento (*Chamaedorea tepeljote*), sin embargo, el uso que les ha proporcionado un prestigio internacional y las ha establecido como plantas de gran importancia económica, es el ornamental. En todo el mundo han sido utilizadas como plantas de interior por muchos años, siendo común encontrarlas en hogares, hoteles, oficinas, etc. (Barba y Romero, 1993).

Su gran importancia ornamental reside en que poseen las siguientes características:

- Belleza. La variedad de formas y estructuras, que se caracterizan por ser pequeñas y delicadas, les hace tener una escala arquitectónica agradable. Cuando son jóvenes poseen el atractivo de una miniatura y cuando entran en su ciclo reproductivo, el atractivo se incrementa por la presencia de flores y frutos coloridos que contrastan con el follaje verde.

- Tolerancia a la sombra. Una de las virtudes principales de las especies del género *Chamaedorea* es su capacidad para crecer exitosamente en sitios donde la cantidad de luz es poca, como el interior de hogares, patios, etc. Esta característica está dada naturalmente ya que son especies que viven en el piso de la selva.

- Resistencia al frío. Numerosas especies del género *Chamaedorea* sobreviven a temperaturas un poco menores de 0 ° C, lo que les permite crecer en áreas semitropicales y templadas, mientras que palmas de otros géneros nativas del mismo tipo de vegetación son afectadas o mueren a esta temperatura, e incluso, algunos grados arriba de ella.

- Resistencia a la sequía. Muchas especies provienen de regiones donde son escasas las lluvias en ciertas estaciones, lo que las hace resistentes a la sequía y en consecuencia, resistentes al abandono, es decir, no requieren de riegos continuos (Barba y Romero, 1993).

La explotación de la que es objeto la palma *Chamaedorea* se destina principalmente al comercio de plantas, semillas y follaje, este último utilizado para hacer arreglos florales, adornos para iglesias, mercados, elaboración de coronas, canastas para ornato y para formar arcos en calles y caminos (Standley y Steyermark, 1958).

Con respecto a la utilización del follaje de las palmas para adornos florales, se estima que aproximadamente se recolectan un millón de hojas diarias en diez estados de la República Mexicana, Voster (1975), reporta que sólo en los Estados Unidos en 1974 se vendieron 370 millones de manojos, con 25 hojas individuales cada uno; así como más de 200 kilogramos diarios de semillas (en la época reproductiva que dura 4 meses al año). Se piensa que esto se viene realizando hace más de 40 años, siendo México el principal proveedor mundial de palmas del género *Chamaedorea* (Oyama 1987).

Las especies del género *Chamaedorea* que son ampliamente utilizadas para la obtención de su hojas son: *Chamaedorea elegans*, *Chamaedorea seifrizii*, *Chamaedorea neurochlamys*, *Chamaedorea ernesti-augusti*, *Chamaedorea radicalis*, *Chamaedorea oblongata* y *Chamaedorea tepejilote*.

La fuente principal de semillas de esta especie es México, donde se extrajeron sólo en un año (1975) 35,000 kilogramos, las cuales fueron distribuidas a todo el mundo (Reinert y Neel, 1977).

Esta explotación ha sido tan intensa que muchos individuos se han visto debilitados y no producen suficientes semillas para asegurar la regeneración de las poblaciones naturales (Quero, 1992).

La palma del género que siempre ha estado a la cabeza de la lista de las palmas de ornato es *Chamaedorea elegans*. Vosters (1975), menciona que esta palma es considerada por los floricultores comerciales como una planta de lento crecimiento, por lo que generalmente, las plantas comercializadas no pasan de 1.5 metros de altura en macetas con diámetro máximo de 30 cm.

En 1988 la Unión Internacional para Conservación de la Naturaleza, reporta a *Chamedorea elegans* como una de las especies mexicanas de palmas dentro de la categoría de "vulnerable", lo cual indica que es un taxón amenazado de extinción, cuya sobrevivencia es improbable si los factores causales siguen operando (IUCN, 1988).

Hodel (1992), menciona que *Chamaedorea elegans* es una de las palmas más cultivadas en el mundo. Actualmente México sigue siendo el principal proveedor de semillas, ya que cerca de 400 millones de semillas, son distribuidas anualmente a todo el mundo, aunque se obtiene también una pequeña cantidad de Guatemala (Barba y Romero, 1993).

2.2. PROCESOS DE LA REPRODUCCIÓN SEXUAL

2.2.1. Embriología

La historia de la embriología (estudio del desarrollo del gametofito, endospermo y embrión) data de muchos años atrás. Por tradición los Arabes y los Asirios, llevaban a cabo una ceremonia religiosa en la cual realizaban una polinización artificial de la palma datilera sacudiendo la inflorescencia masculina en la inflorescencia femenina, para de esta forma propiciar la fecundación, con el fin de obtener buen suministro de dátiles (Johri, *et al.*, 1992a).

Actualmente existen dos tendencias de investigación en la embriología moderna. La primera es el establecimiento de los procesos evolutivos y con ésto dar respuesta a interrogantes en el área de filogenia y sistemática. La segunda, consiste en establecer las etapas de desarrollo que se suceden durante el proceso de reproducción sexual de las plantas, por medio de métodos de investigación descriptivos-comparativos y experimentales, con la finalidad de proponer aplicaciones prácticas, como sería la posibilidad de controlar por separado las diferentes etapas de la ontogenia de las plantas, para que de esta manera se puedan llevar a cabo investigaciones aplicadas en el campo de la reproducción vegetal (Batygina, 1985).

El estudio de la embriogénesis en plantas es uno de los temas embriológicos de mayor interés, ya que muchos de los productos alimenticios utilizados por el hombre son derivados de procesos relacionados directamente con la embriogénesis y la formación de semillas en plantas superiores. La sobrevivencia del hombre y sus civilizaciones siempre han dependido de saber aprovechar los procesos naturales de la reproducción de las plantas, para de ahí obtener alimentos (Raghavan, 1976).

El origen y desarrollo del embrión es de considerable interés y constituye uno de los principales sujetos de estudio dentro del área de la biología reproductiva. El interés por conocer el proceso de la embriogénesis vegetal ha llevado a emplear técnicas citológicas, histológicas y fisiológicas, para conocer la ontogenia, la relación entre estructura y función del embrión y sus partes (Raghavan, 1976).

2.2.2. Reproducción sexual

2.2.2.1. Angiospermas

La flor es la parte especializada de las angiospermas encargada de la reproducción sexual, que permite la conservación de la especie. En la reproducción sexual la nueva generación se origina por la fusión de dos gametos haploides, formando así un individuo con dotación cromosómica $2n$, proveniente de dos padres con material genético diferente (Strasburger, *et al.*, 1988).

Las plantas vasculares, como todos los organismos vivos que se reproducen sexualmente, comienzan su existencia con la formación del cigoto. El desarrollo de esta célula origina al embrión, a partir del cual, en los estadios tempranos se comienzan a formar los órganos de la futura planta (Steeves y Sussex, 1991).

En el proceso de la fecundación, los gametos, se fusionan para dar origen al cigoto, que posteriormente formará el embrión (Sebánek, *et al.*, 1991).

En las plantas superiores, la flor es el órgano reproductor en el que se producen las semillas. En este proceso se deben considerar los siguientes pasos: 1) desarrollo del grano de polen, 2) desarrollo del óvulo, 3) polinización, 4) germinación del grano de polen, 5) fecundación, 6) formación del embrión y el endospermo y 7) desarrollo de los tejidos de la semilla (Holman y Robbins, 1982).

a) Desarrollo del grano de polen

Los granos de polen localizados en los sacos polínicos se originan a partir de la célula madre de las microesporas (diploide), las cuales mediante dos divisiones meióticas dan lugar a una tétrada de microesporas (haploide) que posteriormente se convertirán en cuatro granos de polen. En el saco polínico de las angiospermas, la meiosis se inicia poco después de la sustitución de la pared celular celulósica por una gruesa capa de calosa. En algunas monocotiledóneas se forma una membrana plasmática de separación entre los dos núcleos hijos, resultantes de la primera división meiótica de la célula madre, que inmediatamente se vuelven a dividir. En la mayoría de las monocotiledóneas y dicotiledóneas la membrana plasmática se forma hasta que se completa la segunda división meiótica, en este momento las cuatro microesporas quedan individualizadas por la membrana y una pared celular que inicialmente es de calosa, la cual posteriormente se reabsorbe y es sustituida por una pared primaria de celulosa (Paniagua, *et al.*, 1993).

Cada microespora es mononucleada, pero sufre una división y forma dos núcleos dentro del mismo citoplasma, uno es mayor y menos denso y desempeña funciones vegetativas (núcleo vegetativo), el otro núcleo es más pequeño y denso y realiza funciones germinales (núcleo generativo), una vez formados estos núcleos ya no se habla de microespora sino de grano de polen (Paniagua, *et al.*, 1993).

En algunas familias de plantas, la división del núcleo generativo es precoz y ocurre durante la maduración del grano de polen, que resulta entonces trinucleado. En otras familias el estado binucleado del grano de polen perdura hasta que éste llega al estigma para germinar y formar el tubo polínico, en donde la división del núcleo generativo se puede dar en el grano de polen o mientras el tubo polínico penetra los tejidos del pistilo. Una vez que el núcleo generativo se divide por mitosis se forman dos núcleos generativos; el núcleo vegetativo desempeña funciones tróficas, ya que cuando germina el grano de polen, este se sitúa en el extremo del tubo polínico y sirve de guía a lo largo del tejido conductor del carpelo, siendo el primero en alcanzar la ovocélula (Paniagua, *et al.*, 1993).

b) Desarrollo del óvulo

Los óvulos, se localizan en los ovarios de las flores jóvenes como protuberancias de la superficie de la placenta, al principio el óvulo está constituido por tejido de la nucela sin la presencia de tegumentos, los cuales se originan como dos collares de tejido alrededor de la base del óvulo que crecen y rodean a la nucela, todas las células en este momento son $2n$.

Una célula dentro de la nucela se convierte en la célula-madre del saco embrionario, que pronto experimenta dos divisiones sucesivas, la primera de estas divisiones es una meiosis por lo que el número de cromosomas se vuelve n . Ahora la célula basal aumenta rápidamente de tamaño, mientras que las otras tres células degeneran y desaparecen.

Posteriormente la célula sobreviviente (n) continúa aumentando de tamaño hasta que constituye la mayor parte de la nucela y su núcleo se divide nuevamente, y los dos núcleos hijos se dirigen a los polos opuestos de la célula. Cada núcleo hijo experimenta dos divisiones mitóticas, dando origen a cuatro células cada uno, de tal manera que hay cuatro células en el lado del micrópilo y otras cuatro en la parte chalazal del saco embrionario.

Un núcleo de cada grupo se mueve hacia el centro formando los núcleos polares. Los núcleos restantes del lado micropilar se separan para dar origen a tres células (dos sinérgidas y una oosfera, célula huevo u ovocélula). Los tres núcleos del extremo chalazal se separan y forman las antípodas (Holman y Robbins, 1982).

La composición celular de un saco embrionario tipo Polygonum es la siguiente:

Una ovocélula: Se localiza en el extremo micropilar del saco embrionario, la cual al fusionarse con uno de los núcleos generativos del grano de polen da origen al cigoto. La ovocélula tiene adyacentes a ella dos sinérgidas, separadas por una pared celular parcial o sólo el plasmalema. La distribución del citoplasma de la ovocélula está altamente polarizada, hacia el extremo micropilar se tiene la presencia de una vacuola alargada, la cual restringe al núcleo y al resto del citoplasma hacia la región chalazal (Reiser y Fischer, 1993).

Dos sinérgidas: Las sinérgidas se localizan una a cada lado de la ovocélula y tienen un rol muy importante en la fecundación, pues el tubo polínico descarga su contenido dentro de una de las dos, antes de que los núcleos generativos se fusionen con la ovocélula y la célula central (Reiser y Fischer, 1993).

Célula Central: Se encuentra en el centro del saco embrionario, esta célula contiene los núcleos polares, una vacuola grande y una gran cantidad de organelos. Los núcleos polares al fusionarse con el núcleo generativo, generan los núcleos del endospermo triploide, que al madurar proveerán de nutrientes al embrión durante su desarrollo y germinación (Reiser y Fischer, 1993).

Antípodas: Son tres células que se localizan opuestas a la ovocélula en la región chalazal dentro del saco embrionario. No se ha especificado una función durante la reproducción atribuida a las antípodas, se cree que pueden participar en el almacenaje de nutrimentos (Reiser y Fischer, 1993).

c) Polinización y germinación del grano de polen

Se entiende por polinización al transporte del polen de la antera al estigma.

Una vez que el grano de polen llega al estigma de la flor, éste se adhiere a su superficie debido a la presencia de pequeñas papilas o por secreciones pegajosas conocidas como fluido estigmático.

Poco después de la polinización el citoplasma del grano de polen se hidrata y se hincha. La exina del grano de polen se abre en lugares donde la membrana es delgada y el tubo polínico se origina a base de un fuerte crecimiento de la intina.

La fecundación por tubo polínico se conoce como sifonogamia, dicho tubo se encarga de conducir a los núcleos generativos a través de los tejidos del estilo hasta el gameto femenino, por lo que es necesario un alargamiento del tubo polínico. A continuación se produce la fecundación, un núcleo generativo sale del tubo polínico, penetra hasta la ovocélula y una vez rota la membrana de la misma, se produce la fusión de los protoplasmas (plasmogamia) y después la fusión de los núcleos (cariogamia), con lo que se completa la formación del cigoto. En las angiospermas el desarrollo del embrión es celular y por lo general se rodea de endospermo $3n$, formado después de la fecundación a partir de la fusión de uno de los núcleos generativos con los núcleos polares (Holman y Robbins, 1982; Strasburger, et al., 1988).

Existen grandes diferencias entre las especies vegetales en la velocidad de crecimiento del tubo polínico y la distancia que debe recorrer para llegar al óvulo, así por ejemplo, *Colchicum autumnale* requiere de seis meses o más para recorrer unos cuantos cm; por otra parte el tubo polínico del género *Crocus* puede crecer 10 cm o más en tan sólo dos o tres días (Holman y Robbins, 1982).

d) Fecundación

Cuando el tubo polínico llega al ovario, crece hacia el óvulo y entra en el saco embrionario, generalmente a través del micrópilo y nucela, en algunas especies, sin embargo, el tubo polínico llega al saco embrionario perforando los tegumentos o la base del óvulo. Después de penetrar el saco embrionario, la pared del extremo del tubo polínico se rompe y deja salir junto con el citoplasma tres núcleos, dos generativos y uno vegetativo, con número cromosómico n . Uno de los núcleos generativos se dirige hacia la ovocélula y se fusiona con el núcleo de la misma, formando un núcleo con número de cromosomas $2n$ (fecundación) y como resultante se obtiene el cigoto. El segundo núcleo generativo se fusiona con los dos núcleos polares o el núcleo secundario para formar el núcleo primario del endospermo con número cromosómico $3n$, el núcleo vegetativo se desintegra (Holman y Robbins, 1982).

e) Formación del embrión

Después de la fecundación, el cigoto se rodea de una membrana celular, produciéndose una serie de divisiones que origina al embrión de la semilla, todas las divisiones después de la fecundación son mitóticas, pues el cigoto tiene cromosomas $2n$ (Holman y Robbins, 1982).

f) Formación del endospermo

El endospermo es el producto de la doble fecundación, se desarrolla únicamente en angiospermas al fusionarse uno de los núcleos generativos con los núcleos polares o el núcleo secundario, para formar el núcleo primario del endospermo. La división del núcleo primario del endospermo, además de las divisiones de los núcleos hijos dan origen al tejido del endospermo. El endospermo tiene un rol nutritivo, proporcionando al proembrión y al embrión las sustancias necesarias para su desarrollo. Dependiendo del tipo de desarrollo el endospermo se puede clasificar en nuclear, helobial o celular (Johri, *et al.*, 1992a).

El embrión entra a una etapa de intenso desarrollo, hasta que el endospermo ha terminado su proliferación. Esto demuestra una gran relación dinámica entre el embrión y el endospermo durante el desarrollo de éste en angiospermas. Es así como se han establecido tres tipos de embrión en correlación con el desarrollo del endospermo:

Tipo I. El endospermo presenta un gran desarrollo en las primeras etapas de la embriogénesis, en este período el número de células del endospermo va de aproximadamente diez células a varios miles, por sólo una célula embrionaria (cigoto). El tipo I usualmente involucra endospermo celular o nuclear donde la celularización ocurre en las primeras etapas de desarrollo, dando como resultado semillas de tipo albuminoso (endospermicas). Al tiempo que el endospermo alcanza su número final de células se tiene un embrión globular el cual entra a una etapa de diferenciación, al mismo tiempo se pasa de nutrición vía suspensor a nutrición vía endospermo.

Tipo II. El desarrollo del embrión y el endospermo es paralelo, en las especies con este tipo de correlación tienen endospermo de tipo nuclear, aquí el embrión entra en fase de proliferación al mismo tiempo que lo hace el endospermo, en este tipo de correlación los materiales de reserva necesarios para la germinación del embrión se almacenan en los cotiledones.

Tipo III. Se da sólo en semillas exalbuminosas (no endospermicas). Después de un corto período de proliferación de núcleos endospermicos, el embrión empieza a dominar el desarrollo y todas las sustancias de reserva se almacenan en el o los cotiledones (Sebanek, *et al.*, 1991).

2.2.2.2. Familia Arecaceae

La reproducción sexual en palmas sigue en general el modelo establecido para las plantas superiores, hay que tomar en cuenta que la mayoría de las especies de palmas son organismos dioicos, que presentan diversos tipos de polinización y para algunos casos no se conoce todavía el síndrome de polinización.

Los granos de polen maduros presentan dos núcleos, el vegetativo y generativo (*Chamaedorea elegans*, *Livistona chinensis*) y una vez depositados en el estigma de la flor se hinchan después de unas horas y el poro germinal se hace presente en el área (hilo). El tubo polínico emerge a través del poro germinal y comienza a crecer, después de haber alcanzado su máximo tamaño, la punta del tubo se hincha y libera su contenido. El núcleo vegetativo no pasa nunca al tubo polínico, ya que este degenera en el mismo grano de polen. El núcleo generativo se divide dentro del tubo polínico y forma dos pequeños núcleos de forma oval (núcleos generativos), (Kulkarni y Mahabalé, 1974; González, 1993).

El tubo polínico de algunas palmas como *Livistona chinensis*, *Phoenix pusilla*, *Phoenix acaulis* y *Phoenix reclinata* crece a través de células ricas en protoplasma que se encuentran en el estilo de la flor y una vez que llega al óvulo el tubo entra por el micrópilo (porogamia), afectando de esta forma a las sinérgidas al entrar el tubo dentro del saco embrionario. Después de que el tubo polínico ha entrado dentro del saco embrionario, uno de los dos gametos masculinos se fusiona con la ovocélula y el otro se fusiona con los núcleos polares (Biradar, 1968; Kulkarni y Mahabalé, 1974).

La ovocélula fecundada de *Livistona chinensis* crece rápidamente, primero en longitud y después en diámetro. Las células de la región chalazal y de los tegumentos acumulan taninos. Al lado opuesto de la localización del embrión, la semilla presenta una protuberancia o cresta originada a partir del crecimiento de la región chalazal, dentro de la cual se expande el saco embrionario. Los haces vasculares del funículo se extienden dentro de esta protuberancia. Durante el desarrollo del embrión, el micrópilo se desplaza desde una posición terminal hasta una posición lateral (Kulkarni y Mahabalé, 1974).

2.2.3. Embriogénesis

2.2.3.1. Tipos de embriogénesis

El sistema más reconocido es el propuesto por Schnarf en 1929 y Johansen en 1950 (Johni, *et al.*, 1992a), donde reconocen seis tipos principales de embriogénesis, que se basan en los siguientes características:

I. La célula terminal perteneciente a las dos células del proembrión se divide longitudinalmente por una pared:

i) La célula basal tiene un rol limitado o no influye en el futuro desarrollo del embrión.

Tipo Crucífero u Onogrado.

ii) La célula basal y la célula terminal participan en el desarrollo del embrión.

Tipo Asterado.

II. La célula terminal perteneciente a las dos células del proembrión se divide transversalmente por una pared:

1. La célula basal participa mínimamente o no participa en el subsecuente desarrollo del embrión:

i) La célula basal usualmente forma un suspensor de dos o más células.

Tipo Solanado.

ii) La célula basal no se divide y el suspensor se hace presente sólo si éste se deriva a partir de la célula terminal.

Tipo Cariofilado.

2. La célula basal y la célula terminal participan en el desarrollo del embrión.

Tipo Chenopodiado.

III. El cigoto se divide por una pared vertical

Tipo Piperado.

(Diagrama 1).

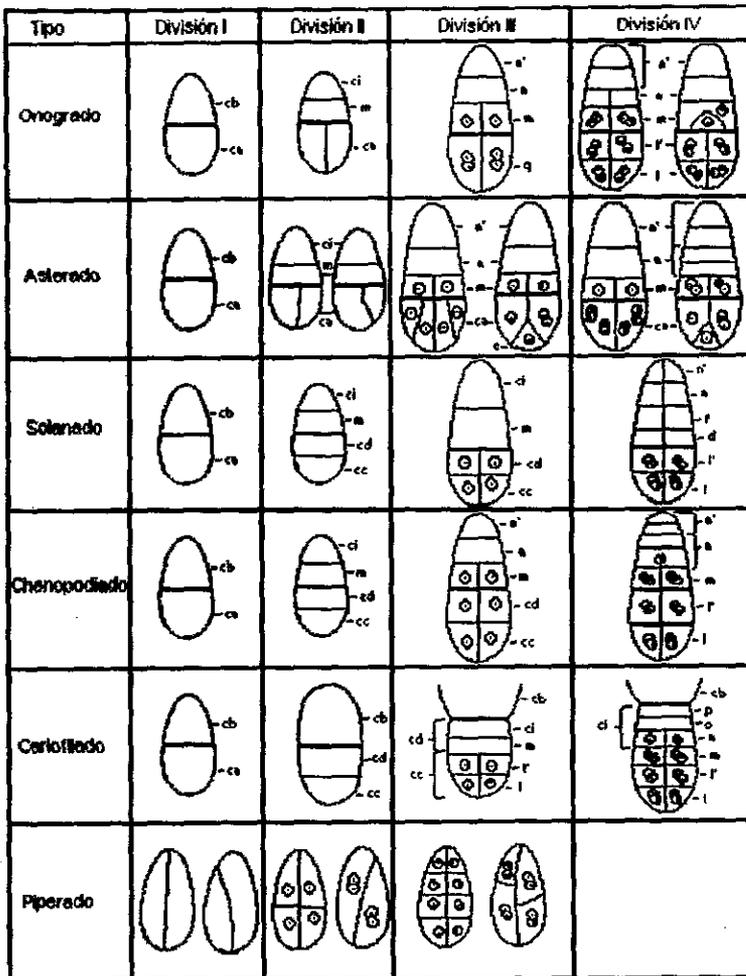


Diagrama 1. Tipos de embriogénesis en angiospermas, basado en el sistema de clasificación de Schnarf (1929) y Johansen (1950) (Tomado de Johri, *et al.*, 1992a).

2.2.3.2. Angiospermas

El ciclo de vida de las plantas se caracteriza por la alternancia de generaciones entre el esporofito diploide y el gametofito haploide (Reiser y Fischer, 1993).

La generación esporofítica de las plantas superiores se inicia con la doble fecundación, evento que da como resultado la formación de una célula sencilla (zigoto) y la célula progenitora del endospermo. La embriogénesis consiste en un período de desarrollo y cambios morfológicos y celulares complejos en serie que sufre el cigoto, los cuales resultan en la formación de un embrión maduro compuesto por un ápice de brote, meristemo radicular y cotiledón o cotiledones, los cuales almacenan grandes cantidades de macromoléculas como proteínas y lípidos. Todos estos eventos ocurren durante el desarrollo embrionario, es aquí donde se establece la organización del cuerpo de la nueva planta y también se prepara al embrión para la dormancia y su posterior germinación (West y Harada, 1993).

Al principio de la embriogénesis, se pueden distinguir dos regiones, que posteriormente al crecer y desarrollarse, darán origen al meristemo apical del ápice de brote o plúmula, el cual formará el sistema de brote y el tallo; la otra región, conocida como meristemo radicular, dará origen a la raíz primaria (Steeves y Sussex, 1991).

La embriogénesis en las plantas superiores puede ser dividida conceptualmente en tres fases. La primera consiste en la morfogénesis, durante la cual los polos axiales del cuerpo de la planta se definen, es decir se forman el meristemo apical y el meristemo radicular, además de formarse el tejido embrionario y el sistema de órganos. En la segunda fase el embrión madura y se caracteriza por la acumulación de sustancias de reserva. Durante la fase final, el embrión se prepara para la desecación y el período de letargo (West y Harada, 1993).

El cigoto y subsecuentemente el embrión son protegidos durante su desarrollo en la planta madre por tejidos nutritivos y las cubiertas del óvulo y el fruto. Después de la fecundación, el cigoto entra en una fase de preparación para la primera división. En muchas especies este período puede durar horas, días e incluso meses y durante este tiempo el cigoto puede tener cambios en su estructura, forma y volumen.

La estructura futura del embrión es determinada por la distribución de los organelos celulares, la parte apical del cigoto es rica en organelos y la parte basal es vacuolada y se adhiere directamente con la pared del saco embrionario o en algunas especies a las sinérgidas. La parte apical del cigoto se sumerge en el tejido endospermico (Sebánek, *et al.*, 1991).

La primera división del cigoto produce el proembrión formado por dos células y la pared formada entre estas dos es generalmente transversal, pudiendo ser longitudinal u oblicua dependiendo del tipo de embriogénesis. La célula basal dará origen al suspensor que cumple funciones nutricionales en las primeras etapas de la embriogénesis y la célula apical formará el embrión, las futuras divisiones de esta célula formarán el cuadrante, luego el octante y por último la estructura en forma globular o esférica conectada con el suspensor por la parte basal. Un paso notable en el desarrollo del proembrión globular es el origen del protodermo vía división periclinal de las células superficiales del proembrión (Sebánek, *et al.*, 1991).

La manifestación morfológica que marca el paso de proembrión a embrión es la diferenciación y establecimiento del primordio de uno o dos cotiledones. En el centro de la parte apical del embrión, entre el primordio de plantas monocotiledóneas y dicotiledóneas se diferencia el primordio del meristemo apical. Una vez establecidos los primordios del cotiledón en la etapa de corazón (dicotiledóneas) pasan a la etapa de torpedo y es en este momento cuando la formación de los órganos básicos está concluida (Sebánek, *et al.*, 1991).

El suspensor es un órgano que absorbe sustancias nutritivas y reguladoras de la nucela y tegumentos durante las primeras etapas post-fecundación para proporcionarlas al embrión. Además algunas veces toma parte en la síntesis de sustancias nutritivas y reguladoras. En las primeras etapas de la embriogénesis la actividad sintética del suspensor es mayor que la de mismo embrión (Sebánek, *et al.*, 1991).

En general no existen diferencias notables en las primeras etapas entre las embriogénesis de monocotiledóneas y dicotiledóneas. La primera división del cigoto es transversal, dando como resultado una célula terminal y una célula basal que tendrán una división longitudinal y transversal respectivamente. La parte embrionaria será formada por la célula apical o terminal y por las células superiores formadas a partir de la división de la célula basal.

Posteriormente el embrión tomará una forma esférica debido a las divisiones sucesivas de las células del cuadrante y se dividirá en dos secciones, la primera es la parte terminal que dará origen a la parte baja del cotiledón y la segunda es la parte basal que contribuye con su parte superior a formar el resto del cotiledón además de formar el hipocótilo. Aquí el meristemo apical inicia su desarrollo al mismo tiempo que lo hace el cotiledón y el hipocótilo y ésto da como resultado la supresión del crecimiento lateral. El destino de las células derivadas de la mitad de la porción basal de las células es formar el meristemo de raíz (meristemo radicular) en el embrión maduro. La otra mitad de las células basales forman parte también del meristemo radicular y el suspensor (Raghavan, 1976).

En embriones maduros de dicotiledóneas, el meristemo apical se encuentra basal, en medio de los dos cotiledones, mientras que en monocotiledóneas el meristemo apical del embrión está en posición lateral o en el cotiledón (Fanh, 1990).

2.2.3.3. Familia Arecaceae

En el desarrollo embrional de *Areca catechu* la primera división del cigoto es transversal lo que resulta en dos células; una apical (ca) y otra basal (cb), esta última célula contribuirá a la formación del suspensor, mientras que "ca" se dividirá por una pared verticalmente oblicua formando dos células de diferente tamaño y la mayor de éstas se dividirá por la formación de una pared inclinada, originando una célula epifisial en la parte apical del proembrión. Esta célula epifisial dará origen al ápice de brote, mientras que las células sub-epifisiales contribuirán a la formación del cotiledón y del resto del embrión. Durante el desarrollo del embrión el crecimiento marcado del cotiledón en uno de los lados provoca que las células que darán origen al ápice de brote pasen de una posición apical a una lateral; en esta especie el embrión se forma a partir de la célula apical (ca), conforme a la embriogénesis de tipo Onogrado (Rao, 1955).

Mahabalé y Biradar (1968), reportan que en la embriogénesis de *Phoenix sylvestris*, la primera división del cigoto es transversal, formando dos células del proembrión, la célula basal (cb) que es de mayor tamaño que la célula apical (ca). Por una división vertical de "ca" se forma un proembrión de 3 células, el cual al formarse una pared vertical en la parte apical dan origen las células "h" y "d". Por otra división vertical pero ahora en "cb" se formó un proembrión de cuatro células, el cual en la parte basal se forman las células "f" y "g". A partir de la célula "h" de la parte apical aparece una célula de tipo epifisis formada por una división vertical con pared oblicua.

Posteriores divisiones verticales en ángulos rectos llevadas a cabo en las células apicales dan origen a un embrión de ocho células. De acuerdo al tipo de división del cigoto y las subsecuentes etapas de desarrollo marcan que esta especie presenta dos posibles tipos de embriogénesis, la primera es tipo Asterado variación Geum (Mahabalé y Biradar, 1968; Kulkarni y Mahabalé, 1974) y la segunda es tipo Onogrado, variación *Trifolium* (Mahabalé y Biradar, 1968).

Posteriormente el embrión de ocho células tiene divisiones periclinales y anticlinales, lo que da como resultado la formación de un embrión globular masivo, en el cual para este momento se diferencian en su superficie externa las células del dermatógeno o protodermis. En la porción ancha del embrión (parte apical) se diferencian dos lóbulos cotiledonares, en medio de los cuales se forma el meristemo apical que posteriormente formará el ápice de brote (Mahabalé y Biradar, 1968; Kulkarni y Mahabalé, 1974), ésto da

origen a un embrión en forma acorazonada, en el cual el hipocótilo se desarrolla a partir de las células basales del embrión globular, como sucede en dicotiledóneas y algunas monocotiledóneas como *Gommelina karwinskyi* y *Tinantia erecta*, lo cual indica una tendencia al desarrollo de dos cotiledones laterales y un ápice de brote terminal. Por otro lado se ha reportado que la posición del ápice de brote puede ser lateral, como lo es en *Areca catechu*. En etapas posteriores del desarrollo del embrión uno de los dos cotiledones se desarrolla de manera más marcada lo que provoca que crezca en forma de arco, envolviendo al cotiledón y al ápice de brote el cual pierde su posición terminal, pasando a ocupar una posición lateral en el embrión, ésto ocasiona que se junten los márgenes de los dos cotiledones (Mahabalé y Biradar, 1968).

El desarrollo vigoroso y pronunciado de uno de los dos cotiledones provoca que el embrión se elongue y ocasiona que en la madurez se aprecie un cotiledón sencillo, con el otro cotiledón presente en forma de vestigio al lado del ápice de brote, con la radícula situada en posición opuesta al ápice de brote.

Biradar y Mahabalé (1968), reportan para *Phoenix robusta*, dos tipos de desarrollo embriogénico, tipo Asterado variación Polygonum y tipo Asterado variación Geum. La primera división del cigoto es transversal lo que origina un proembrión de dos células "cb" y "ca", diferenciándose la célula apical por ser de menor tamaño con respecto a la célula basal. En la variación Polygonum la célula basal (cb), se divide transversalmente formando las células "m" y "n", mientras que la célula apical (ca) que por lo común presenta un citoplasma altamente denso se divide de manera vertical dando origen a las células "h" y "d". Estos planos de división dan como resultado la formación de un proembrión de cuatro células en forma de "T" invertida.

Por otro lado *Phoenix robusta*, *Phoenix pusilla*, *Phoenix acaulis* y *Phoenix reclinata* presentan la variación Geum, en la cual tanto "cb" como "ca" se dividen verticalmente formando un proembrión de cuatro células (f, g, h, y d), la célula "h" tiene la característica de ser más grande y por una división oblicua forma la célula "e" (célula de tipo epífisis) que dará origen al ápice de brote y al tejido meristemático (Diagrama 2), (Biradar, 1968; Biradar y Mahabalé, 1968).

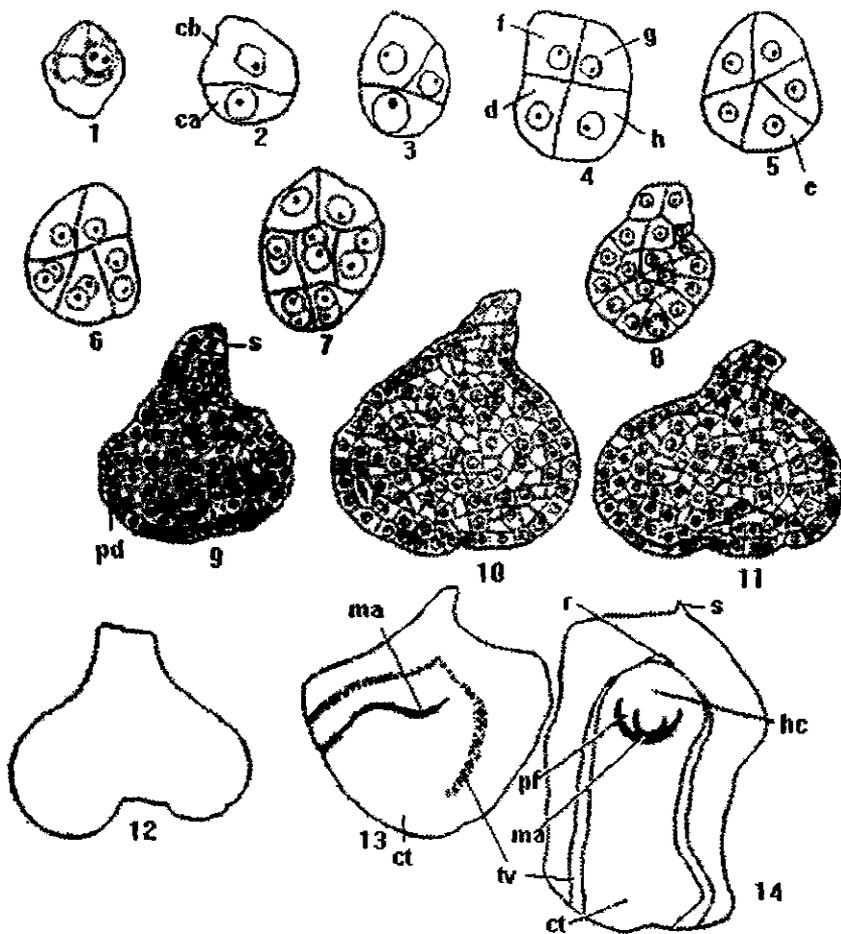


Diagrama 2. Embriogénesis de *Phoenix pusilla*.

1, cigoto; 2-9, proembrión; 10-13, embrión; 14, embrión maduro. ca, célula apical; cb, célula basal; e, célula epifisis; pd, protodermis; ma, meristemo apical; ct, cotiledón; s, suspensor; pf, primordio foliar; tv, tejido vascular; hc, hipocótilo; r, radícula. (Tomado de Biradar, 1968).

El desarrollo posterior del embrión de *Phoenix robusta* sigue los mismos patrones que los descritos para *Phoenix sylvestris* (Biradar, 1968; Biradar y Mahabalé, 1968; Mahabalé y Biradar, 1968).

En la embriogénesis de *Cocos nucifera*, la primera división del cigoto es oblicua o transversal, la cual forma las células "ca" y "cb", la célula apical se divide más o menos verticalmente, mientras que la célula basal lo hace transversalmente (algunas veces se divide en plano vertical), lo que origina una tétrada en forma de "T". Una división transversal de una de las células hemisféricas de las células hijas de "ca" da origen a una célula de tipo epífisis, la cual es rica en citoplasma y sus divisiones repetidas dan origen al embrión. Las otras células hijas de "ca", junto con las células hijas de "cb" forman un suspensor multicelular, y las células que lo forman tienen la característica de estar altamente vacuoladas y contener gránulos de almidón. La célula de tipo epífisis dará origen a células meristemáticas en la periferia del embrión y éstas a su vez formarán el ápice de brote y el cotiledón (Johri, *et al.*, 1992b).

El embrión globular de *Cocos nucifera*, tiene perfectamente diferenciado un ápice de brote en la parte apical y un cotiledón en la parte lateral, este primordio de cotiledón se desarrolla ampliamente, creciendo de manera que envuelve al ápice de brote, formando una cubierta cotiledonar. El meristemo apical tiene forma de disco ancho, localizado en la región cotiledonar y se encuentra envolviendo al ápice de brote (Guignard, 1984; Johri, *et al.* 1992b).

Los tipos de embriogénesis reportados para la familia Arecaceae son tipo Asterado, variación Geum (*Phoenix robusta*); tipo Asterado variación Polygonum (*Phoenix robusta*), y tipo Onogrado (*Cocos coronata* y *Areca catechu*) (Rao, 1955; Biradar y Mahabalé, 1968; Johri, *et al.*, 1992b).

2.2.4. Histogénesis

En las angiospermas se ha visto que en etapas tempranas de la embriogénesis, los planos de división del cigoto son predecibles hasta la etapa de embrión globular. Esto hace posible trazar o marcar las células progenitoras de los meristemas primarios, en *Capsella bursa-pastoris*, el primer meristemo que se diferencia es el protodermo, que se origina por divisiones periclinales en células del proembrión octante.

Las siguientes divisiones dan como resultado un proembrión globular, en el cual pueden separarse dos zonas, ocho células externas que forman el protodermo, que posteriormente adquirirá características de epidermis al desarrollar una cutícula alrededor de la superficie de la célula y un grupo de ocho células internas que forman el tejido fundamental y el procámbium. La diferenciación de las células internas del proembrión de 16 células en células progenitoras del tejido fundamental se observa por la disminución de la tinción y el aumento de la vacuolización (Thorpe, 1995).

En algunas especies, las células del procámbium se forman fuera de la zona del cortex o médula, antes de que se originen los primordios del cotiledón, mientras que para otras especies el procámbium aparece hasta después de la formación de los cotiledones o bien, las primeras células del procámbium se pueden situar en la parte más baja de la región del cortex de embriones en etapa de corazón, al mismo nivel que los cotiledones. Posteriormente las células iniciales del procámbium se agrupan para formar anillos de células de procámbium.

Después de que el procámbium se establece en el eje del hipocótulo, éste se extiende acropetamente dentro de los cotiledones y el ápice basipetamente en el meristemo de raíz, esto se lleva a cabo mientras que el embrión pasa a la etapa de torpedo, posteriormente el tejido del procámbium madura y se extiende dentro de los cotiledones. Para algunas especies el procámbium de los meristemos apical y radical aparece de manera independiente. Los primeros elementos vasculares se aprecian cuando los embriones llegan a la madurez y se pueden localizar en eje hipocótulo-radícula o en la base de los cotiledones o en el cotiledón mismo (Thorpe, 1995).

Estudios anatómicos en embriones han proporcionado la información básica de el origen de los meristemos apical y radical. Estos se forman en ciertas zonas partiendo de células meristemáticas diferenciadas en los extremos terminales del embrión globular. Estas zonas son identificadas como descendientes directos de células meristemáticas que se forman en la etapa de embrión octante. La diferenciación del meristemo apical se puede observar cuando hay un cambio en la distribución de las divisiones celulares, las cuales se concentran en la parte media superior del embrión y también se puede observar por que hay una diferenciación citohistológica en las células de la periferia y la zona central.

Las siguientes divisiones dan como resultado un proembrión globular, en el cual pueden separarse dos zonas, ocho células externas que forman el protodermo, que posteriormente adquirirá características de epidermis al desarrollar una cutícula alrededor de la superficie de la célula y un grupo de ocho células internas que forman el tejido fundamental y el procámbium. La diferenciación de las células internas del proembrión de 16 células en células progenitoras del tejido fundamental se observa por la disminución de la tinción y el aumento de la vacuolización (Thorpe, 1995).

En algunas especies, las células del procámbium se forman fuera de la zona del cortex o médula, antes de que se originen los primordios del cotiledón, mientras que para otras especies el procámbium aparece hasta después de la formación de los cotiledones o bien, las primeras células del procámbium se pueden situar en la parte más baja de la región del cortex de embriones en etapa de corazón, al mismo nivel que los cotiledones. Posteriormente las células iniciales del procámbium se agrupan para formar anillos de células de procámbium.

Después de que el procámbium se establece en el eje del hipocótilo, éste se extiende acropetamente dentro de los cotiledones y el ápice basipetamente en el meristemo de raíz, esto se lleva a cabo mientras que el embrión pasa a la etapa de torpedo, posteriormente el tejido del procámbium madura y se extiende dentro de los cotiledones. Para algunas especies el procámbium de los meristemos apical y radical aparece de manera independiente. Los primeros elementos vasculares se aprecian cuando los embriones llegan a la madurez y se pueden localizar en eje hipocótilo-radícula o en la base de los cotiledones o en el cotiledón mismo (Thorpe, 1995).

Estudios anatómicos en embriones han proporcionado la información básica de el origen de los meristemos apical y radical. Estos se forman en ciertas zonas partiendo de células meristemáticas diferenciadas en los extremos terminales del embrión globular. Estas zonas son identificadas como descendientes directos de células meristemáticas que se forman en la etapa de embrión octante. La diferenciación del meristemo apical se puede observar cuando hay un cambio en la distribución de las divisiones celulares, las cuales se concentran en la parte media superior del embrión y también se puede observar por que hay una diferenciación citohistológica en las células de la periferia y la zona central.

Estos cambios ocurren antes de que se formen o aparezcan los cotiledones, lo que hace suponer que estos órganos se forman a partir de células del meristemo apical. La aparición del meristemo con una estructura en forma de domo coincide con el paso de embrión globular a embrión en forma de corazón para el caso de las dicotiledóneas y esto se debe a la actividad meristemática de células del protodermo y células de las capas interiores de la parte apical del embrión. La formación de una zona central en el meristemo apical del embrión se puede observar por la diferenciación citológica de tres o cuatro capas de células situadas por debajo del protodermo. La diferenciación del ápice de brote se completa cuando éste toma una forma de domo redondeado y entra a un estado de quiescencia o dormancia de la semilla (Thorpe, 1995).

El ápice radicular consiste en un meristemo y una capa radical, el ápice generalmente se establece en la etapa de embrión globular. Dependiendo del tipo de ontogenia del embrión, el ápice radicular se puede originar a partir de la célula apical o de la célula basal del proembrión de dos células. El primer indicio de formación del ápice radicular es la división oblicua de dos células de la parte más basal que darán origen a la capa radical. Las células del protodermo más cercanas a esta zona, contribuirán a formar por divisiones periclinales el meristemo radicular. Para otras especies la raíz embrionaria se forma a partir de la hipótesis, esta célula se divide transversalmente para formar dos células. Por posteriores divisiones longitudinales y transversales de las células hijas más cercanas al suspensor se formará la capa radical y la epidermis de la raíz, mientras que a partir de las células más cercanas a la parte organogenética del embrión se formará el resto de ápice radicular, incluyendo al meristemo radical (Thorpe, 1995).

2.2.5. Embrión

2.2.5.1. Angiospermas

El embrión se define como el esporofito joven, en las angiospermas está constituido por un eje embrional (eje hipocótilo-radícula) y uno o dos cotiledones; el eje embrional a su vez está constituido por un ápice de brote formado por los primordios foliares (plúmula) y por el meristemo radical. Las partes que constituyen al embrión de dicotiledóneas son fáciles de distinguir, caso contrario es el de los embriones de las monocotiledóneas, ya que sus partes pueden estar reducidas o modificadas, como es el caso del escutelo de las gramíneas (Esau, 1985; Bewley y Black, 1994).

Los embriones de dicotiledóneas y monocotiledóneas presentan una forma similar hasta la fase de embrión globular, después de ésta el embrión de dicotiledóneas adquiere una forma bilobada (corazón), debido al crecimiento de dos protuberancias meristemáticas (cotiledones) en la parte apical del embrión, mientras que en las monocotiledóneas, el embrión adquiere una estructura cilíndrica por el crecimiento de un sólo cotiledón (Esau, 1985; Bewley y Black, 1994).

En las dicotiledóneas el ápice de brote se localiza entre los dos cotiledones, mientras que en las monocotiledóneas el ápice de brote se ubica a un lado del cotiledón, ya que se ve desplazado por el crecimiento lateral de éste, que termina envolviendo al ápice de brote (Esau, 1985).

En dicotiledóneas, los cotiledones surgen como una extensión lateral que se inicia a partir de las células derivadas del área apical de las células del proembrión octante. Los cotiledones, al igual que las hojas se originan de un meristemo vegetativo, en la parte superior del proembrión, siguiendo un crecimiento horizontal, antes de presentarse como órganos laterales.

El cotiledón de monocotiledóneas no se presenta como un órgano lateral, pero si se origina a partir de la parte superior del eje del proembrión y no sigue un proceso de agrandamiento horizontal como en dicotiledóneas, el cual indica el paso a simetría bilateral.

En monocotiledóneas el paso de simetría axial del proembrión a simetría aparentemente bilateral del embrión se da por medio de la diferenciación lateral del ápice vegetativo. Este ápice produce directamente hojas, por lo cual no se da la formación del cotiledón, este aparece como un meristemo adventicio que algunas veces se origina del eje del hipocótilo. Al parecer en monocotiledóneas, el eje primitivo, en lugar de continuar su incremento por medio del meristemo apical, sólo limita su extensión en ausencia de dicho meristemo produciendo un órgano simple llamado "cotiledón" por una analogía errónea con los cotiledones de dicotiledóneas, este órgano es un falso cotiledón que pudo ser un eje abortivo. Por lo tanto el tallo de la planta es de origen adventicio. La raíz principal se deriva de la radícula (Buvat, 1989).

2.2.5.2. Familia Arecaceae

El embrión de las palmas puede estar en posición basal, lateral o apical en relación al eje axial del fruto y se encuentra embebido dentro del endospermo. En general el embrión de las palmas tiene forma cilíndrica, con el eje hipocótilo-radícula curvado con respecto al eje cotiledonar (Tomlinson, 1990).

Los embriones maduros de *Phoenix sylvestris* y *Livingstonia chinensis* tienen forma cilíndrica, con un cotiledón masivo, un ápice de brote diferenciado en primordio foliar, primordio de tallo y radícula. Los embriones maduros de estas dos especies presentan una gran cantidad de haces vasculares a todo lo largo del cotiledón (Mahabálé y Biradar, 1968; Kulkarni y Mahabálé, 1974).

DeMason (1988), reporta que el embrión de *Washingtonia filifera* consiste en un polo radicular, un cotiledón sencillo y un epicótilo. El polo radicular, es romo y aplanado, excepto en un punto densamente teñido, que se localiza en el centro del meristemo radicular. El cotiledón es circular en la base y disminuye gradualmente hacia la punta y presenta una pequeña ranura bajo la cual se encuentra el epicótilo. El epicótilo consiste en un ápice de brote y dos o tres primordios foliares, el cual se orienta en ángulo recto con respecto al eje del cotiledón. El embrión de esta especie presenta en el cotiledón tres tipos de tejidos, parénquima, procámbium y protodermis.

En la familia Arecaceae el cotiledón se origina como un meristemo apical lateral, que en muchos casos es difícil de reconocer, siendo una característica de esta zona la presencia de células con núcleos alargados y nucleolos pequeños. En *Cocos nucifera* se desarrollan durante la etapa temprana de la embriogénesis dos zonas meristemáticas, una en la parte apical la cual formará el ápice de brote y otra en la parte lateral que es la zona donde se encuentran las células quiescentes de las cuales se desarrollará el cotiledón (Guignard, 1984).

**JUSTIFICACIÓN
Y
OBJETIVOS**

III. JUSTIFICACIÓN Y OBJETIVOS

JUSTIFICACIÓN

Con base en la información anterior, es claro que son pocos los conocimientos acerca de la reproducción sexual de las palmas del género *Chamaedorea* y en particular se desconocen los procesos para *Chamaedorea elegans*, por lo que se hace necesario generar conocimientos acerca de su biología reproductiva.

Estos conocimientos pueden ser utilizados para proponer aplicaciones prácticas o ser la base de otras investigaciones que ayudarán a hacer propuestas encaminadas hacia el buen manejo y conservación de esta especie.

OBJETIVOS

Objetivo general

1. Conocer los eventos morfológicos que se suceden en la ontogenia del embrión de *Chamaedorea elegans* Mart. durante el proceso de reproducción sexual.

Objetivos particulares

1. Establecer la morfología del embrión sexual.
2. Describir la histología del embrión durante su ontogenia.

MATERIALES

Y

MÉTODOS

IV. MATERIALES Y MÉTODOS

La metodología consistió en la obtención de polen, la evaluación de su calidad, la polinización artificial de flores femeninas, la fertilización y la obtención de embriones, los cuales se colectaron en diferentes edades y se procesaron histológicamente para llevar a cabo la descripción de la embriogénesis de *Chamaedorea elegans*.

4.1. OBTENCIÓN DEL POLEN Y PRUEBA DE VIABILIDAD

Obtención del polen

El polen de *Chamaedorea elegans* se colectó de flores masculinas en anthesis, en el momento justo en que el pistilodio presentaba una gota de néctar, ya que este evento marcó de manera natural el momento en que los granos de polen se encontraban maduros.

Se colectaron las flores (antes del medio día para evitar la deshidratación) y se obtuvieron las anteras por disección. Por cada 10 anteras se ocuparon dos ml de solución extractora para la maceración (ver anexo), de esta manera se obtuvo una suspensión que se filtró, para separar el polen de los demás tejidos. Posteriormente el polen en suspensión se lavó (con solución extractora) y se filtró dos veces más, hecho esto, el polen obtenido se centrifugó para eliminar el exceso de solución extractora a 30 gravedades durante dos minutos con lo que se obtuvo un botón de polen, el cual se resuspendió en solución extractora y se colectó con pipeta Pasteur, a continuación el polen se guardó en recipientes de vidrio hasta ser utilizados para las pruebas de viabilidad y la polinización artificial.

Prueba de viabilidad

La evaluación de la viabilidad se efectuó con el polen recién colectado mediante la germinación *in vitro*. La germinación se obtuvo mediante el cultivo de polen en un medio hecho a base de sacarosa, agar y agua (ver anexo), ajustado a pH 6 (Romero, *et al.*, 1995).

El medio de cultivo se preparó disolviendo 10 g de sacarosa en 100 ml de agua destilada, después se ajustó la solución a pH 6. Esta solución se calentó a 80 °C y se

le agregó un gramo de agar (bacteriológico) y se agitó hasta que el agar se disolvió. Posteriormente se vertió 15 ml de medio de cultivo en tubos de ensayo, se taparon y al enfriarse se almacenaron en refrigeración. El medio gelificado se extrajo de los tubos y se cortó en cilindros de aproximadamente cinco mm de grosor, los cuales se colocaron sobre portaobjetos.

Se dispersó el polen homogéneamente en toda la superficie disponible de los cilindros de medio, los cuales se colocaron en cajas de Petri (con papel húmedo para evitar que se deshidrataran) y se incubaron por 48 horas.

Para facilitar la evaluación de la viabilidad del polen se aplicó azul de anilina, (ver anexo) preparado según Roth (1964) a los cilindros y con ayuda de un microscopio estereoscópico, se contaron los tubos polínicos teñidos de azul (Mulcahy, et al. 1986), se observaron 100 granos de polen, con dos repeticiones. Esta prueba se realizó para conocer la calidad del polen con el que se polinizaron artificialmente las flores femeninas.

4.2. POLINIZACIÓN ARTIFICIAL

Una vez obtenido el polen y conociendo su viabilidad, se procedió a polinizar manualmente con pincel las flores femeninas de *Chamaedorea elegans*, introduciendo la punta de éste en la suspensión para impregnarlo de polen, de manera que los estigmas de la flor quedaran totalmente cubiertos de granos polen, para ésto se utilizaron flores femeninas en antesis, polinizando todas las flores de una misma inflorescencia al mismo tiempo.

4.3. COLECTA Y FIJACIÓN DE MATERIAL BIOLÓGICO

La colecta y fijación de las flores polinizadas y los frutos en desarrollo se realizó con el fin de conservar material biológico para su posterior procesamiento histológico, ésta se llevó a cabo colectando cinco frutos por cada día de desarrollo, los tiempos que se muestrearon fueron de uno hasta 256 días.

Los días que se procesaron para poder realizar una descripción general de la embriogénesis de *Chamaedorea elegans* fueron 1, 2, 4, 8, 16, 32, 64, 128 y 256 (Mulcahy, et al., 1986). En caso de encontrar saltos grandes en el desarrollo del embrión se proceso histológicamente una colecta intermedia hasta completar el proceso de desarrollo.

Para la fijación se utilizó FAA (formol, alcohol y ácido acético) al 50% (ver anexo), colocando el material (flores polinizadas y frutos en desarrollo) en frascos de vidrio perfectamente cerrados para conservar el material hasta el momento de su procesamiento histológico, los frascos se etiquetaron con la fecha de colecta y el tiempo transcurrido desde el momento de la polinización hasta la fijación.

4.4. PROCESAMIENTO HISTOLÓGICO

Se utilizaron las flores y frutos de *Chamaedorea elegans* previamente fijados. El procesamiento histológico se hizo mediante la infiltración e inclusionen en parafina, cortes longitudinales en microtomo de rotación y tinción de contraste con safranina y azul de anilina (ver anexo) previamente estandarizada para *Chamaedorea elegans*, con ésto se observaron los procesos de germinación, crecimiento del tubo polínico, fecundación del óvulo y el desarrollo embrionario en *Chamaedorea elegans*. El procedimiento histológico fue el siguiente:

a) Deshidratación

Previo a la deshidratación, el material biológico se lavó en agua corriente por tres horas para eliminar totalmente el fijador. La deshidratación se efectuó con cambios sucesivos de una hora en etanol al 30, 50, 70, 80, 95 y 100% (Becerril, 1995).

b) Infiltración e inclusión en parafina

Para la infiltración se sumergieron los tejidos dos horas en cada uno de las siguientes soluciones:

1. Xilol al 100%.
2. 9.0 ml de xilol en 1.0 ml de parafina.
3. 7.5 ml de xilol en 2.5 ml de parafina.
4. 6.6 ml de xilol en 3.4 ml de parafina.
5. 5.8 ml de xilol en 4.2 ml de parafina.
6. 5.0 ml de xilol en 5.0 ml de parafina.
7. 4.2 ml de xilol en 5.8 ml de parafina.
8. 3.4 ml de xilol en 6.6 ml de parafina.
9. 2.5 ml de xilol en 7.5 ml de parafina.
10. 1.0 ml de xilol en 9.0 ml de parafina.
11. Parafina al 100 %.

(Romero, 1990).

Después de la infiltración las estructuras se colocaron para su inclusión en moldes con parafina pura, de tal manera que quedaran en la posición adecuada para obtener un corte longitudinal. Los moldes de parafina con las muestras se etiquetaron con el número de días de desarrollo.

c) Cortes al microtomo

Para esto se colocó el bloque de parafina con el tejido en la platina del microtomo de rotación y se cortó longitudinalmente ajustando a 12 micras de grosor. Los cortes se pusieron en agua entre 38 ° y 45 °C, a la cual previamente se le espolvoreo grenetina, para después colocar los cortes en los portaobjetos y dejarlos secar a temperatura ambiente por 24 horas.

d) Desparafinado

Se lavaron dos veces los cortes en xilol al 100 % por 25 minutos, después se sumergieron en una mezcla 1:1 v/v de xilol-etanol por cinco minutos, y finalmente con etanol absoluto por otros cinco minutos. Así el corte quedó exento de parafina y pegado al portaobjetos (Becerra, 1995).

e) Tinción

1. Se rehidrataron los cortes en cambios de etanol al 95, 70, 50 y 30 % por cinco minutos en cada cambio.
2. Se lavó el tejido con agua destilada por cinco minutos.
3. Para la tinción se utilizó una solución de safranina al 1 % en etanol absoluto por 10 minutos (ver anexo).
4. Se lavaron los cortes con agua destilada.
5. Se deshidrataron en cambios de etanol 30, 50, 70, 95, 100 % durante un minuto cada uno en dos ocasiones.
6. Se tiñó 15 minutos utilizando una solución saturada de azul de anilina en etanol al 100 % y metilcelosolve, diluido al 50 % con aceite de clavo (ver anexo).
7. Se lavó el exceso de colorante con etanol absoluto.
8. Se colocó el corte para aclararlo en aceite de clavo por 10 minutos.
9. Se llevaron los cortes a tres cambios de xilol al 100 % por un minuto en cada uno.
10. Se montaron los cortes en resina sintética.

(Jensen, 1962).

4.5. ANÁLISIS DE DATOS

El análisis se realizó describiendo y comparando los cambios estructurales que se llevaron a cabo durante el proceso de formación del embrión de *Chamaedorea elegans*.

Para el análisis de resultados se establecieron las diferencias morfológicas que se presentaron durante el desarrollo, dividiendo el estudio en:

- 1) Estructura anatómica de la flor.
- 2) Germinación del grano de polen.
- 3) Embriogénesis.

4.5.1. Análisis histológico

Se llevó a cabo, con el fin de describir histológicamente cada estadio de desarrollo del embrión, tomando en consideración las características de los tejidos involucrados, para analizar los cambios histológicos que se sucedieron en el tiempo, desde el momento de la polinización, hasta la formación del embrión completo.

4.5.2. Análisis citológico

Se realizó observando las características de las células y estructuras celulares directamente relacionadas con los procesos reproductivos como lo son el tubo polínico, las células del aparato de huevo y el embrión durante cada intervalo de tiempo.

Los resultados de estos análisis se integraron para describir los procesos morfológicos de la reproducción sexual de *Chamaedorea elegans*.

RESULTADOS

V. RESULTADOS

5.1. ESTRUCTURA ANATÓMICA DE LA FLOR

La flor femenina de *Chamaedorea elegans* está conformada por tres sépalos, tres pétalos, tres carpelos uniovulares con óvulos en posición anátropa (Figura 1). Los estigmas de la flor madura en antésis presentan tricomas glandulares unicelulares, en los cuales se adhieren los granos de polen binucleados (núcleo generativo y núcleo vegetativo), siendo éstos núcleos diferentes en su forma y tamaño (Figura 4).

El núcleo generativo presenta una forma alargada y el núcleo vegetativo una forma esférica, siendo este último el de mayor tamaño (Figura 2).

El óvulo maduro de *Chamaedorea elegans*, está constituido por dos tegumentos, uno de ellos, el tegumento externo rodea totalmente al tegumento interno, excepto en la región micropilar (Figura 1).

Este tegumento externo se forma por tejido epidérmico, el cual rodea toda su periferia, por debajo de esta epidermis se encuentra tejido parenquimático y solo en la región chalazal se observó tejido vascular (Figura 1). El tegumento interno está formado únicamente por dos capas celulares, de las cuales la capa interna presenta células con una gran densidad citoplasmática notoria por la alta tinción roja que presenta, conformando al tapete tegumentario (Figura 1).

Esta capa interna se encuentra cubriendo totalmente al saco embrionario, excepto en la región del micrópilo. La capa externa del tegumento interno está compuesta por una sola capa de tejido epidérmico y ambas capas del tegumento no están vascularizadas (Figura 1).

Dentro del saco embrionario no se observó el núcleo o núcleos polares, ni las células antípodas, pero fueron muy evidentes las células del aparato de huevo localizadas en la región micropilar del saco embrionario (Figura 3).

El aparato de huevo está conformado por tres células, de las cuales dos son similares (sinérgidas) y la otra (ovocélula) es diferente citológica y morfológicamente (densidad de citoplasma, tamaño y forma). Las sinérgidas ubicadas en la región del micrópilo están en contacto, junto a estas células se encuentra la ovocélula de forma esférica, que en comparación con las sinérgidas es de menor tamaño y menor densidad citoplasmática. Las sinérgidas tienen una alta densidad citoplasmática (Figura 3).

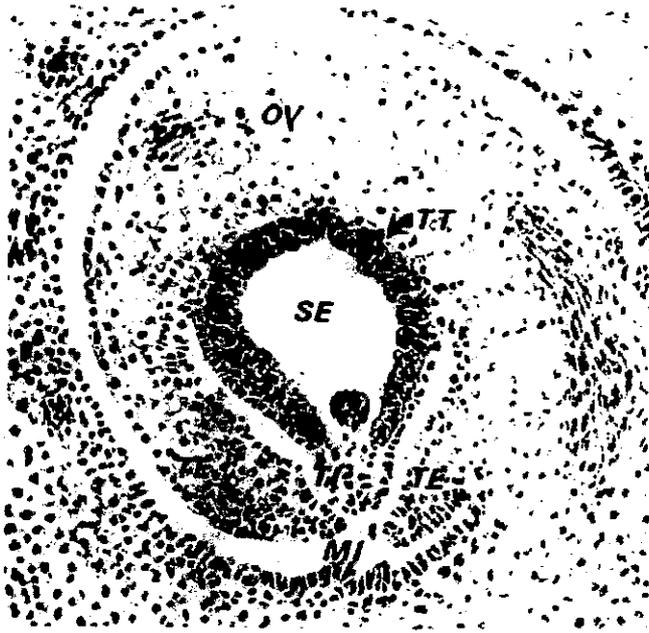


Figura 1. Corte longitudinal del óvulo maduro de *Chamaedorea elegans* 40X. Óvulo (OV), tegumento externo (TE), tegumento interno (TI), tapete tegumentario (TT), micrópilo (MI) y saco embrionario (SE).

Figura 2. Grano de polen maduro de *Chamaedorea elegans* 100X. Grano de polen (GP), núcleo generativo (NG) y núcleo vegetativo (NV).



Las sinérgidas no presentan aparato filiforme, sus núcleos se encuentran orientados hacia el micrópilo, encontrándose en la parte superior grandes vacuolas con orientación chalazal, presentando con esto una polarización del contenido celular. Sus núcleos presentan forma esférica y son de menor tamaño con respecto al núcleo de la ovocélula (Figura 3).

La ovocélula también presenta polarización con respecto al eje micropilar chalazal, ya que su núcleo de forma esférica se encuentra orientado hacia la chalaza y presenta una vacuola en la parte basal, esta célula en comparación con las sinérgidas es de menor tamaño y menor densidad citoplasmática (Figura 3).

5.2. GERMINACION DEL GRANO DE POLEN

Al germinar el grano de polen rompe su capa externa (exina) y comienza a crecer la capa interna (intina) para formar el tubo polínico, mientras en el grano de polen el núcleo más alargado se divide para dar origen a dos núcleos generativos de forma oval y esto da como resultado un grano de polen germinado trinucleado ya que el núcleo vegetativo de forma esférica no presenta división (Figura 4).

Una vez germinado el grano de polen, su tubo polínico crece siguiendo el canal locular hasta llegar al micrópilo por el cual penetra para descargar su contenido al interior del saco embrionario. No se observó penetración del tubo polínico al interior del saco embrionario por alguna otra región del óvulo.

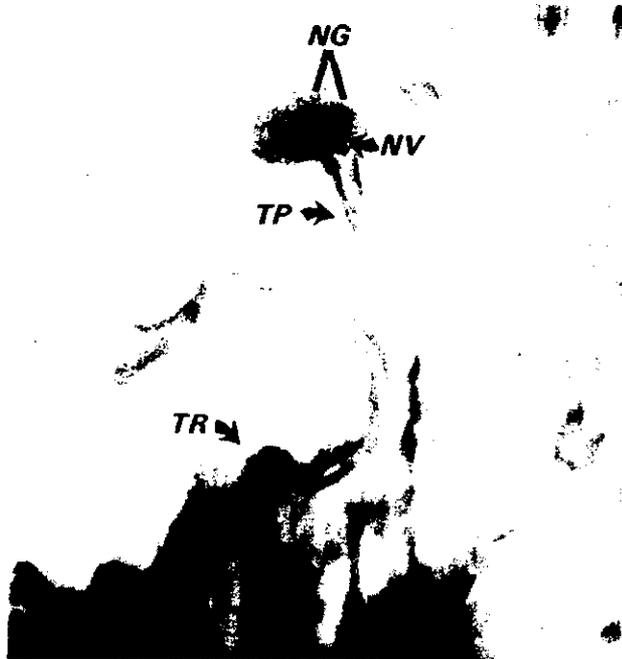
Para que los núcleos generativos del tubo polínico se pusieran en contacto con la ovocélula y los núcleos polares, el tubo polínico penetró la sinérgida ubicada del lado del carpelo, la cual cambió de forma esférica a forma alargada y disminuyó su densidad citoplasmática con respecto a la otra sinérgida, para posteriormente degenerar y dejar su lugar al ápice terminal del tubo polínico, el cual presentó una coloración azul en sus paredes y en su citoplasma de aspecto granuloso.

Posterior a la penetración del tubo polínico, se llevó a cabo la singamia que originó al cigoto. Para este momento la sinérgida que no fue penetrada comenzó a reabsorberse y sólo quedaron vestigios de ella a un lado del cigoto (Figura 5).



Figura 3. Aparato de huevo de *Chamaedorea elegans* (corte longitudinal) 100X. Ovocélula (OC), núcleo de la ovocélula (N) y sinérgida (S).

Figura 4. Grano de polen germinado 100X. Núcleo generativo (NG), núcleo vegetativo (NV), tubo polínico (TP) y tricoma glandular unicelular (TR).



5.3. EMBRIOGÉNESIS

El cigoto siempre se encontró ubicado en la zona del micrópilo del saco embrionario, en su inicio presentó menor tamaño y menor densidad citoplasmática en comparación con la ovocélula, la polarización permaneció y se observó la presencia de una vacuola orientada hacia el micrópilo. El núcleo mantuvo una forma esférica y se ubicó orientado hacia el extremo chalazal del eje con un nucleolo prominente teñido en rojo (Figura 5).

El cigoto entra a una etapa en el cual no tiene divisiones, que duró de 50 a 70 días, tiempo durante el cual cambia de forma, pasando de esférico a una más alargada en sentido transversal respecto al eje y también aumenta su volumen. Durante este período sin división los núcleos primarios del endospermo se dividen activamente y se ubican principalmente en la periferia del saco. Para esta etapa las dos sinérgidas han degenerado totalmente (Figura 6) y el tubo polínico, de una coloración azul intensa, permanece al lado del cigoto. Algunos núcleos libres del endospermo se ubican cerca o pegados al cigoto el cual cambia nuevamente de forma y aumenta su volumen, adquiriendo una apariencia piriforme (pera invertida) alargada en su eje micropilar chalazal, ubicándose la parte más angosta del lado del micrópilo y la más ancha orientada hacia la región chalazal, presenta un citoplasma denso, polarizado hacia el extremo micropilar y el núcleo que presenta un nucleolo prominente se orienta hacia la región chalazal (Figura 6).

Después del periodo sin división, el cigoto de *Chamaedorea elegans* presenta la primera división, la cual es en plano transversal, lo que da origen a un proembrión compuesto de dos células hijas, la célula apical (ca), orientada hacia la región chalazal y la célula basal (cb), orientada hacia la región micropilar. El proembrión se localizó anclado en la región micropilar (Figura 7).

El núcleo de la célula apical es de mayor tamaño y densidad citoplasmática que el núcleo de la célula basal y ambos presentan una forma esférica. El núcleo de la célula apical se localizan en la parte apical y esto marca la persistencia de la polarización con respecto al eje micropilar-chalazal (Figura 7).

En cuanto al tamaño las células apical y basal son similares, pero presentan diferencias en la densidad del citoplasma, siendo más denso el de la célula apical. La célula basal tiene una gran vacuola que ocupa la mitad del volumen la cual está orientada hacia el extremo micropilar de la célula, el citoplasma por el contrario se ubica en la parte apical de la célula, encontrándose el núcleo en el centro de la misma (Figura 7).



Figura 5. Zigoto de *Chamaedorea elegans*, tubo polínico y sinérgida 100X. Zigoto (Z), núcleo del zigoto (N), sinérgida (S) y tubo polínico (TP).

Figura 6. Zigoto de *Chamaedorea elegans* 100X. Zigoto (Z), núcleo del zigoto (N) y núcleo libre del endospermo (NE).



Se observaron a los lados del proembrión núcleos del endospermo unidos por redes citoplasmáticas en forma de rosario. Las células del tapete tegumentario disminuyeron su densidad citoplasmática y comienza a perder su alta tinción roja (Figura 7).

Posteriormente la célula apical del proembrión se dividió en un plano longitudinal y en un estadio más avanzado del proembrión, se originó el estadio octante (Figura 8).

En la parte apical central del proembrión octante se observó la formación de una célula triangular de tipo epifisis, esta célula presenta una alta densidad citoplasmática (Figura 8).

La célula basal del proembrión que dará origen al suspensor se divide en plano longitudinal, posteriormente tendrá divisiones en diferentes planos y cuando el proembrión se encuentra en estadio de octante, el suspensor está conformado por seis células e iguala en tamaño al proembrión. La densidad citoplasmática de las células del proembrión es mayor que la del suspensor (Figura 8). En este momento las células del tapete tegumentario que envuelve a el saco embrionario, excepto las ubicadas en la zona del micropilo, pierden totalmente su alta densidad citoplasmática y coloración rojiza.

El proembrión octante presenta una forma cónica con la parte más angosta hacia el extremo micropilar del eje (Figura 8). Se mantiene la presencia de tubo polínico con su citoplasma denso y azul.

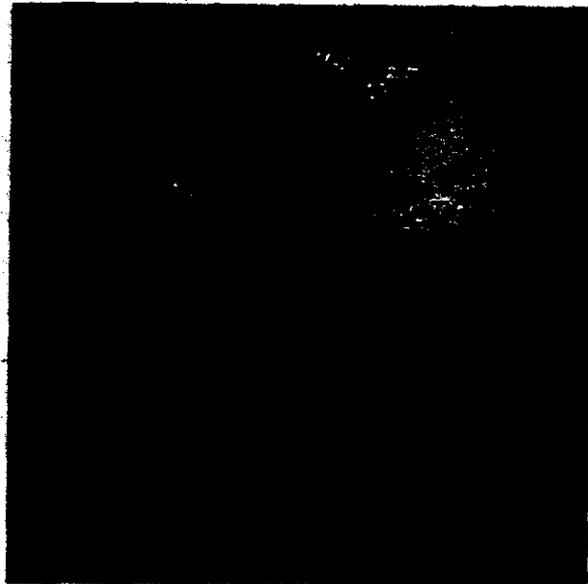
Posteriormente, las células del proembrión octante se dividen en un plano oblicuo y forman un proembrión globular temprano. Las células de este proembrión presentan una densidad citoplasmática mayor que las células del suspensor, el cual no tiene planos regulares de división, lo que da origen a un suspensor de tipo masivo, que es de aproximadamente el doble de tamaño que el proembrión, en el cual aún no es posible identificar diferenciación de tejidos (Figura 9).

Siguiendo su desarrollo, el proembrión pasa a una etapa globular media, siendo esta etapa una de las más importantes ya que en ésta se presenta el inicio de la diferenciación del primer tejido; la protodermis, que se ubica en la periferia del proembrión (Figura 10).



Figura 7. Corte longitudinal del proembrión de una célula de *Chamaedorea elegans* 100X. Célula apical (CA), célula basal (CB), núcleo libre del endospermo (NE) y red citoplasmática (RC).

Figura 8. Corte longitudinal del proembrión octante de *Chamaedorea elegans* 100X. Proembrión octante (PO), célula epífisis (EP), suspensor (SU) y tubo polínico (TP).



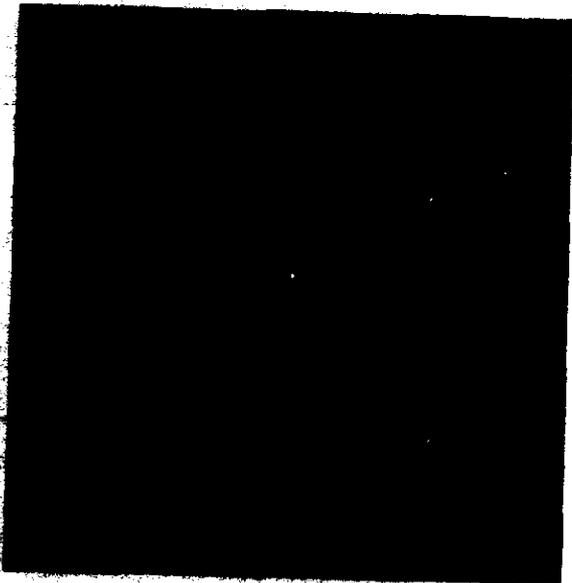


Figura 9. Corte longitudinal del proembrión globular temprano de *Chamaedorea elegans* 40X. Proembrión globular temprano (PGT) y suspensor (SU).

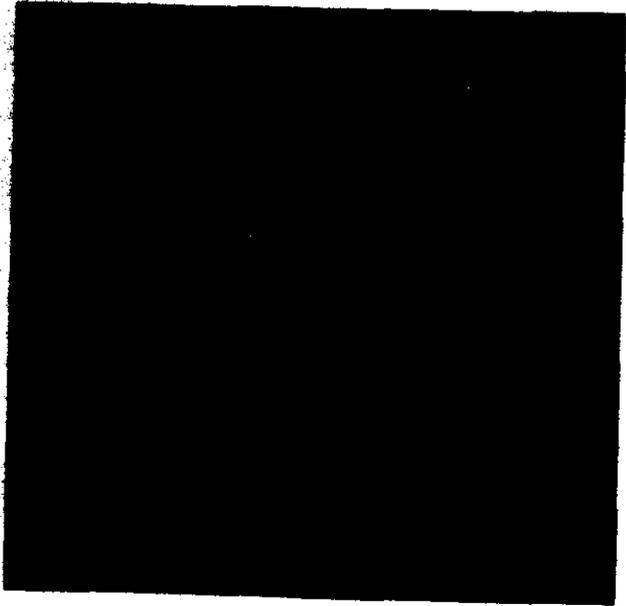


Figura 10. Corte longitudinal del proembrión globular medio de *Chamaedorea elegans* 100X. Proembrión globular medio (PGM), protodermis (PT) y suspensor (SU).

Las células del interior del proembrión presentan planos de división con diferentes orientaciones. El suspensor mantiene su característica masiva y una densidad citoplasmática menor que la del proembrión, el cual en este momento sigue siendo de menor tamaño que el suspensor (Figura 10).

El proembrión presenta una zonación evidenciada por la diferencia de densidad citoplasmática, de esta forma, se pueden delimitar dos zonas, una apical (aproximadamente de dos tercios del proembrión) que presentan una mayor densidad; la otra (aproximadamente un tercio del proembrión) es menos densa y se ubica en la parte basal del proembrión (Figura 10).

En este nivel de desarrollo embrionario, los núcleos del endospermo no presentan indicios de inicio de celularización (Figura 10).

A continuación el proembrión pasa a una etapa globular final, durante la cual las células de la protodermis (ubicadas en la periferia del proembrión) continúan dividiéndose en planos anticlinales. Por debajo de este tejido ya es posible distinguir células grandes con una alta densidad citoplasmática pertenecientes al tejido fundamental. Se mantiene la zonación por diferencias de densidad del citoplasma (Figura 11).

Para este momento el suspensor está conformado por dos capas longitudinales de células, mantiene la densidad citoplasmática que presentó en la etapa globular media, así como su característica masiva y el proembrión lo triplica en longitud (Figura 11).

Con este nivel de desarrollo embrional las células del tapete tegumentario han reducido notablemente su densidad citoplasmática y su tinción rojiza característica. El endospermo presenta el inicio de la celularización (Figura 11).

Posteriormente, el proembrión pasa de la forma globular a una forma elipsoide, en la cual se distingue la protodermis en la periferia y tejido fundamental por abajo de ésta, sin observarse en este momento ningún otro tipo de tejido (Figura 12). La protodermis se encuentra perfectamente diferenciada y citológicamente homogénea alrededor del proembrión y no hay diferencias que permitan delimitar zonas.

El cambio de proembrión globular a una forma elipsoide deprimida en los polos, es indicativo de la pérdida del eje de simetría axial y el inicio de simetría aparentemente bilateral lo que indica el paso morfológico de proembrión a embrión (Figura 12).

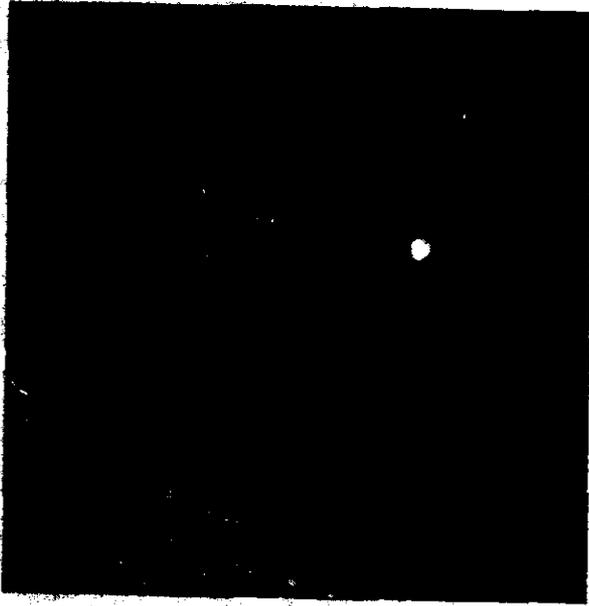


Figura 11. Corte longitudinal del proembrión globular final de *Chamaedorea elegans* 40X. Proembrión globular final (PGF), protodermis (PT), tejido fundamental (TF), suspensor (SU) y célula del endospermo (CE).

Figura 12. Corte longitudinal del embrión elipsoide de *Chamaedorea elegans* 40X. Protodermis (PT), tejido fundamental (TF), suspensor (SU) y tubo polínico (TP).



El suspensor se alarga en sentido del eje, pero permanece con dos hileras de células de grosor, su densidad citoplasmática se modifica en las células más basales ya que ésta aumenta, mientras que las células de la parte apical mantienen la densidad y la afinidad a la tinción presentada durante el proceso de desarrollo. Aún se observa la presencia del tubo polínico, con la misma apariencia del inicio, el cual está en contacto con la parte basal del suspensor (Figura 12).

En este momento el endospermo continúa su proceso de celularización.

El embrión de forma elipsoide aumenta su volumen principalmente en la parte ecuatorial y cambia de forma, presentando en su parte central apical una zona con una pequeña protuberancia. Para este momento, se observa perfectamente definido el tejido de la protodermis con un arreglo tabular y no se observan aún células del tejido del procambium en ninguna zona del tejido fundamental (Figura 13).

En este estadio de desarrollo se hace más evidente el crecimiento lateral del embrión, que le da una forma oblonga, con su parte más ancha en la región ecuatorial del mismo (Figura 13).

El suspensor no ha modificado su estructura ni la coloración más intensa característica de la parte basal (Figura 13).

En un nivel de desarrollo más avanzado el embrión de *Chamaedorea elegans* adquiere una forma acorazonada, esta forma se debe al crecimiento de dos protuberancias apicales laterales que están situadas a los lados de un grupo de células pequeñas (isodiamétricas y con pocos espacios intercelulares), provenientes de la protuberancia apical central antes mencionada (Figura 14); estas protuberancias ubicadas lateralmente en la parte apical tienen una inclinación de menos de 10° con respecto al eje, esta inclinación es provocada por el crecimiento de las dos protuberancias, lo que da una apariencia de simetría bilateral (Figura 14).

Las células situadas en la parte apical del embrión, presentan una mayor densidad citoplasmática con respecto a las células del resto del embrión. Además se encuentra un grupo de células de forma alargada y con una mayor tinción ubicadas en la parte central del eje embrional que marca el inicio de formación del tejido del procambium (Figura 14), estas células contrastan con las células del tejido fundamental, que son de gran tamaño, con núcleos grandes y están ubicadas en la región central del eje.

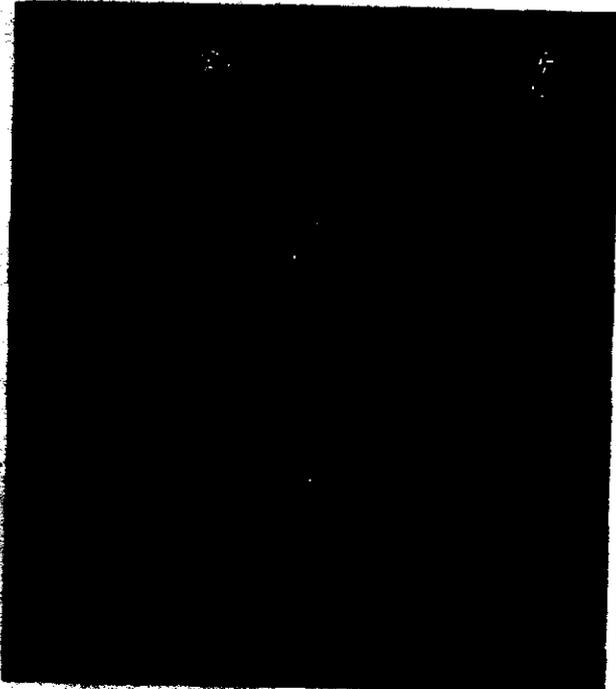
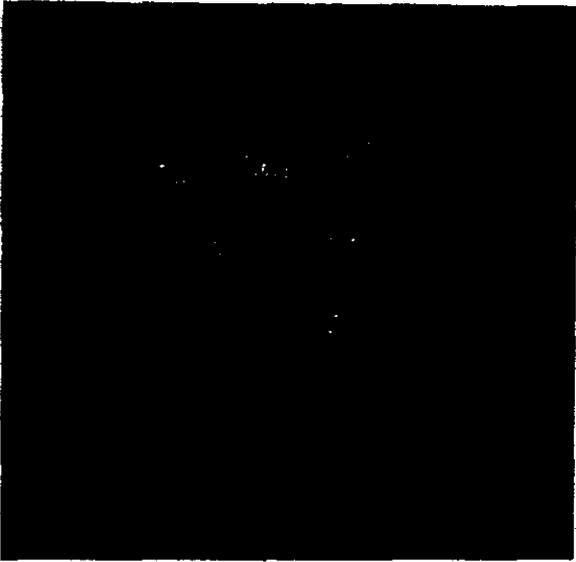


Figura 13. Corte longitudinal del embrión oblongo de *Chamaedorea elegans* 40X. Protodermis (PT), tejido fundamental (TF), protuberancia apical (PA) y suspensor (SU).

Figura 14. Corte longitudinal del embrión acorazonado de *Chamaedorea elegans* 10X. Meristemo apical (MA), protuberancia lateral (PL), parénquima (PQ), procámbium (PR) y suspensor (SU).



Las protuberancias situadas a los lados del grupo de células apicales centrales, están delimitadas en su periferia por tejido protodérmico y por debajo de éste se observa por primera vez tejido parenquimático (Figura 14), que a diferencia del tejido fundamental presenta células isodiamétricas con menor densidad citoplasmática, el cual se extiende hasta la región del eje del embrión.

La gran afinidad a la tinción que había presentado en su parte basal el suspensor en etapas anteriores desaparece y en este nivel de desarrollo, el embrión es aproximadamente cinco veces mayor que la longitud del suspensor (Figura 14).

A partir de las células apicales formadas en la etapa acorazonada, se forma un meristemo apical, que se ve desplazado hacia una posición lateral con respecto al eje del embrión por el mayor crecimiento de las protuberancias, adquiriendo una inclinación de aproximadamente 15°, lo que origina el cambio de la simetría aparentemente bilateral, a una simetría dorsiventral (Figura 14).

Al avanzar el desarrollo, el embrión adquiere una forma sagitada, con la parte más angosta ubicada en la parte apical del eje del embrión y la parte más ancha con orientación micropilar (Figura 15).

El meristemo apical en un nivel más avanzado de desarrollo originó al ápice de brote, que presenta la formación del primer primordio foliar (Figura 15), en el cual sólo se observa tejido protodérmico, proveniente de la extensión de la protodermis del cotiledón.

Las células del meristemo apical presentan una alta densidad citoplasmática y tinción azul, lo cual indica una gran actividad celular. Por debajo de este meristemo se observa tejido parenquimático y del procámbium, y siguiendo basalmente el eje del embrión, se observan células pequeñas, con gran densidad citoplasmática y grandes espacios intercelulares, ubicadas en la región de inicio del meristemo radicular (Figura 15).

Para este momento la protuberancia que conforma al cotiledón cubre totalmente al ápice de brote y a su alrededor está constituido por tejido de la protodermis, en su interior prevalece el tejido parenquimático, junto con tejido del procámbium localizado a los lados del eje del embrión (Figura 15).

Las células del suspensor toman una forma más alargada con respecto a estadios anteriores y para este momento las paredes de las células del endospermo celularizado comienzan a engrosarse (Figura 15). El embrión tiene un incremento generalizado de tamaño, con una mayor diferenciación de los tejidos del cotiledón.

Posteriormente, el ápice de brote aumentó de tamaño, el primordio siguió desarrollándose y además de presentar tejido protodérmico, estaba constituido por células de tipo parenquimático, no distinguiéndose aún formación de procámbium. El cotiledón presentaba perfectamente diferenciados tres tejidos, epidermis en toda la periferia, procámbium principalmente ubicado en la parte apical del eje del embrión y parénquima, predominando éste último (Figura 16).

El ápice de brote presentó una posición lateral con una inclinación de entre 30 y 40 °, con respecto al eje del embrión. El embrión maduro tenía una forma de cono truncado, con la parte más angosta en su parte apical (Figura 16).

El ápice de brote se conformó por un meristemo apical y dos primordios foliares. El primordio foliar más externo presentó protodermis, parénquima y procámbium (Figura 16), este tejido se extiende por debajo del meristemo apical hasta llegar a la zona del meristemo radicular que presentó células rectangulares, con poco citoplasma y grandes espacios intercelulares, no se observó la presencia de meristemo radicular diferenciado sino sólo una zona de iniciación radicular (Figura 16).

El cotiledón está rodeado por células epidérmicas que presentan una cutícula delgada. Además en el interior predominan las células del tejido del parénquima. También presenta agrupaciones de tejido del procámbium (Figura 16). En la superficie lateral del cotiledón se constituye una pequeña apertura por debajo de la cual se localiza el ápice de brote.



Figura 15. Corte longitudinal del embrión sagitado de *Chamaedorea elegans* 10X. Ápice de brote (AB), meristemo apical (MA), primer primordio foliar (PF₁), cotiledón (C), meristemo radicular (MR) y suspensor (SU).

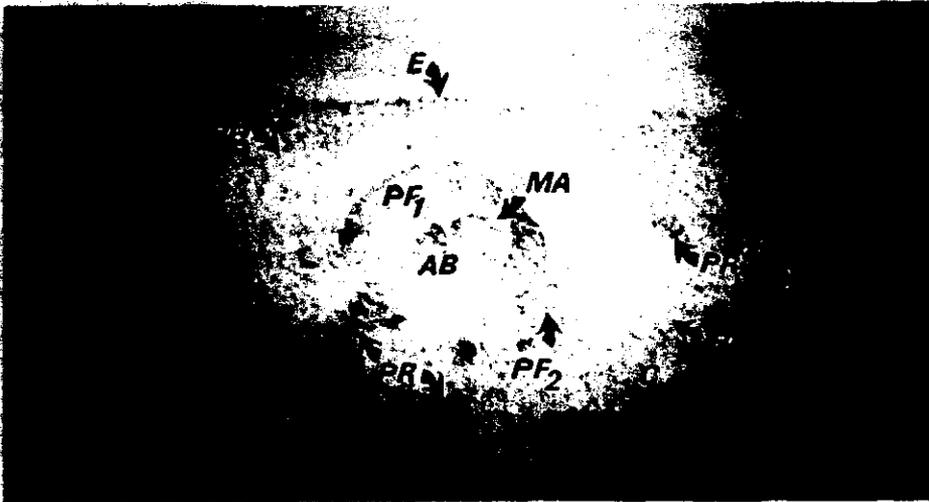


Figura 16. Corte longitudinal del embrión maduro de *Chamaedorea elegans* 10X. Ápice de brote (AB), meristemo apical (MA), primer primordio foliar (PF₁), segundo primordio foliar (PF₂), cotiledón (C), meristemo radicular (MR), epidermis (E), parénquima (PQ) y procámbium (PR).

**DISCUSIÓN
DE
RESULTADOS**

VI. DISCUSIÓN DE RESULTADOS

La flor pistilada de *Chamaedorea elegans* presenta un ovario con tres carpelos cada uno con un lóculo uniovulado, lo que concuerda con la descripción de la flor para la familia Aracaceae realizada por Tomlinson (1990). Esto a su vez corresponde con el patrón general trímero de las flores de las familias de monocotiledóneas (Esau, 1985).

Los estigmas de la flor presentan tricomas glandulares unicelulares, que concuerda con lo reportado por Becerril (1995).

Mahabalé y Biradar (1968) reportan para las palmas *Phoenix silvestris* óvulos en posición anátropa, patrón observado para *Chamaedorea elegans*, este mismo patrón lo reporta Johri *et al.*, (1992a), para otros géneros pertenecientes a la familia Arecaceae como son *Caryota* y *Cocos*. Mientras que géneros de palmas como *Areca* presentan óvulos en posición hemianátropa o *Actinophloeus*, *Bractis* y *Howea*, que presentan la posición ortótropa (Johri, *et al.*, 1992a).

Los granos de polen maduros son binucleados (núcleo vegetativo y núcleo generativo), éstos núcleos difieren entre si, por su forma, siendo uno de ellos esférico (núcleo vegetativo) y otro alargado (núcleo generativo), concordando con la descripción general de los granos de polen de angiospermas realizada por Paniagua *et al.* (1993), lo establecido para la familia Arecaceae (Johri, *et al.* 1992a) y lo descrito para la especie *Chamaedorea elegans* por González (1993).

El óvulo de *Chamaedorea elegans* es bitégmico, el tegumento externo está rodeado por tejido epidérmico, por debajo de este tejido hay células parenquimáticas y en la región chalazal hay tejido vascular, este tegumento rodea al tegumento interno excepto en la región micropilar, lo cual sigue el mismo patrón reportado por Becerril (1995).

Becerril (1995) menciona que el tegumento interno de *Chamaedorea elegans* está formado por tres capas de células, de las cuales, la capa epidérmica interna se especializa para formar una capa nutritiva denominada tapete tegumentario que se localiza alrededor del saco embrionario. En este estudio se encontró que el tegumento interno está formado sólo por dos capas, ambas epidérmicas, de las cuales la interna se especializa como lo descrito para *Chamaedorea elegans* por Becerril (1995) y lo reportado para la palma *Raphis excelsa* por Uhl, *et al.*, (1969).

En el saco embrionario maduro de *Chamaedorea elegans* se presentan dos sinérgidas y la ovocélula, las cuales en conjunto forman el aparato de huevo, que se ubicó siempre en la región micropilar del saco, siguiendo la anatomía celular establecida para sacos embrionarios maduros de angiospermas por Reiser y Fischer (1993).

Kulkami y Mahabalé (1974), mencionan que en el saco embrionario de *Chamaedorea concolor* pueden existir tres antípodas, las cuales pueden ser insignificantes o efímeras, mientras que para *Areca catechu* reportan que las antípodas persisten. Para el caso de este estudio, no se observaron antípodas ya que éstas pueden haber degenerado durante el desarrollo temprano del saco embrionario, puesto que no se presentaron en ningún corte de las secuencias observadas.

Reiser y Fisher (1993), citan que en las células del aparato de huevo, la ovocélula puede estar localizada adyacente a las sinérgidas o entre ambas, por lo cual no se puede establecer una localización típica de la ovocélula de las angiospermas, Haskell y Postlethwait (1971), mencionan que en una misma especie pueden existir diferentes configuraciones del aparato de huevo, pudiéndose encontrar la ovocélula atrás de las sinérgidas, entre ambas sinérgidas o por arriba de éstas, ésto lo describieron para *Acer saccharinum*. En este estudio la ovocélula de *Chamaedorea elegans* se localizó adyacente a las dos sinérgidas.

Paniagua, et al. (1993), mencionan que la mayoría de las sinérgidas de las angiospermas presentan en su parte basal (región micropilar) un aparato filiforme. En este estudio no se detectó la presencia de aparato filiforme en las sinérgidas de *Chamaedorea elegans*.

Russell (1993), menciona que las sinérgidas de las angiospermas presentan en su parte basal un núcleo pequeño orientado hacia el micrópilo, mientras que en su parte apical orientado hacia la chalaza existen pequeñas vacuolas, lo cual da origen a una gran polarización del contenido celular, que es característico de las células del aparato de huevo, lo que también fue descrito por Haskell y Postlethwait (1971), para el caso de *Acer saccharinum*. Este mismo patrón se observó en las sinérgidas de *Chamaedorea elegans* que a su vez concuerda con lo descrito para las palmas *Livingstonia chinensis*, *Phoenix pusilla*, *Phoenix acaulis* y *Phoenix reclinata* reportado por Biradar (1968) y Kulkami y Mahabalé (1974).

Russell (1993), menciona que la ovocélula de las angiospermas también presentan el núcleo orientado hacia el extremo chalazal, con una vacuola orientada hacia el extremo micropilar, lo cual origina como es el caso de las sinérgidas una polarización, modelo que se observó en la ovocélula de *Chamaedorea elegans* y también lo observó Biradar (1968), en *Phoenix pusilla*, *Phoenix acaulis* y *Phoenix reclinata*, Mahabalé y Biradar (1968), en *Phoenix sylvestris*, Biradar y Mahabalé (1968), en *Phoenix robusta* y Kulkarni y Mahabalé (1974) en *Livistona chinensis*.

El grano de polen de *Chamaedorea elegans* germina en los estigmas de la flor, de acuerdo al modelo descrito para las angiospermas por Holman y Robins (1982), el cual establece que la capa de exina se rompe por el crecimiento de la intina para formar en tubo polínico.

Simultáneamente a la germinación del grano de polen de *Chamaedorea elegans*, se da la división del núcleo generativo dentro del grano de polen, lo que no concuerda con Kulkarni y Mahabalé (1974) los cuales mencionan, que para la palma *Livistona chinensis*, el núcleo generativo se divide en el tubo polínico.

En la especie estudiada, el crecimiento del tubo polínico sigue el canal locular para llegar a la zona del micrópilo y entrar a través de este al saco embrionario, lo que indica que la penetración del tubo polínico al saco embrionario en *Chamaedorea elegans* es porogámica, ya que no se observó aporogamia. Este patrón coincide con lo establecido por Holman y Robbins (1982) y Paniagua, et al. (1993), para las angiospermas y con el patrón de palmas como es el caso de *Livistona chinensis* (Kulkarni y Mahabalé 1974).

Haskell y Postlethwait (1971) y Palser, et al. (1989), mencionan que una vez llevada a cabo la porogamia, el tubo polínico puede penetrar una de las dos sinérgidas o pasar entre ambas, antes de que se forme el cigoto. Para el caso de *Chamaedorea elegans* se observó que el tubo polínico penetra una de las sinérgidas antes de efectuarse la formación del cigoto.

Haskell y Postlethwait (1971), encontraron para *Acer saccharinum* que después de llevarse a cabo la porogamia, las sinérgidas quedan como remanentes con una forma alargada, este patrón se observó en las sinérgidas de *Chamaedorea elegans*.

Palser, et al. (1989), Huang, et al. (1990) y Goldberg, et al. (1994), mencionan para *Arabidopsis thaliana*, *Plumbago zeylanica* y *Rhododendron nuttalli* respectivamente, que el cigoto comparándolo con la ovocélula, puede disminuir su densidad

citoplasmática, también puede aumentar o disminuir de tamaño, pero conservar la polarización del núcleo en la parte apical orientado hacia la chalaza y el cigoto puede estar acompañado por núcleos libres del endospermo ubicados en la periferia del saco embrionario. El cigoto recién formado de *Chamaedorea elegans* disminuye su densidad citoplasmática heredada de la ovocélula, así como su tamaño, mantiene la polarización del material nuclear y presenta núcleos libres del endospermo junto a él.

El cigoto pasa por un período en el que no se divide, mientras que los núcleos del endospermo tienen divisiones múltiples, presentando una correlación embrión-endospermo tipo I, de acuerdo a lo propuesto por Sebánek, *et al.*, (1991).

Mansfield y Briarty (1991), citan que la polarización que presenta el cigoto marca el primer plano de división del mismo. Esto concuerda con lo que sucede en el cigoto de *Chamaedorea elegans*, que se divide en un plano transversal, coincidiendo con el plano de polarización del cigoto y con el modelo general establecido para la primera división del cigoto de angiospermas, descrito por Fanh (1990), Sebánek, *et al.* (1991) y West y Harada (1993). Así mismo concuerda también con el plano establecido para la primera división del cigoto en palmas como en *Phoenix silvestris*, *Phoenix robusta*, *Phoenix pusilla*, *Phoenix acaulis*, *Phoenix rostrata*, *Livistona chinensis* y *Areca catechu*, descritos por Rao (1955), Biradar (1968), Biradar y Mahabalé (1968), Mahabalé y Biradar (1968), Kulkarni y Mahabalé (1974) y Jorhi, *et al.*, (1992b).

La división transversal del cigoto de *Chamaedorea elegans* origina un proembrión de una célula apical (ca) que dará origen a el embrión y una célula basal (cb) orientada hacia el extremo micropilar y que formará el suspensor, lo que coincide con lo descrito por West y Harada (1993) para las angiospermas en general, lo citado por Raghavan (1976) para las monocotiledoneas y con lo descrito para las palmas *Areca catechu* (Rao, 1955) y *Cocos nucifera* (Jorhi, *et al.* 1992b).

Goeldber (1994), menciona que las dos células que se forman a partir de la división del cigoto presentan diferencias citológicas, principalmente en tamaño, siendo más grande la célula basal en comparación con la célula apical. Para el caso de *Chamaedorea elegans* se observó que el tamaño entre la célula apical y la célula basal es el mismo.

El endospermo inicia su celularización en la etapa de desarrollo embrionario globular tardío y ésta se da de la periferia del saco hacia el centro.

La primera división observada en la célula apical del proembrión de *Chamaedorea elegans* es longitudinal, lo que indica que el desarrollo del embrión puede ser de tipo Onogrado o de tipo Asterado (Johri, *et al.*, 1992a).

Posteriormente el proembrión de *Chamaedorea elegans* presenta la división longitudinal de la célula apical del proembrión y la formación en el estadio octante de una célula de tipo epífisis, esto correspondería a la embriogénesis de tipo Asterado, según lo reportado por Johri *et al.* (1992) para las angiospermas, pero se necesitan hacer más estudios para confirmar esta aseveración.

Yeung y Meinke (1993), mencionan que en las angiospermas existen diferentes tipos y formas de suspensores; unicelulares, multicelulares, cortos, largos, de forma filamentosa, columnar, esférica o irregular (masivo). *Chamaedorea elegans* presenta un suspensor de tipo multicelular masivo, que se origina a partir de la célula basal del proembrión, y que coincide con lo descrito por Mahabálé y Biradar (1968), para la palma *Phoenix silvestris*.

Bhandari y Mukerji (1993), citan que los haustorios de angiospermas pueden dividirse en dos tipos: gametofíticos, que tiene participación en el desarrollo y organización del saco embrionario (sinérgidas y antípodas) y haustorios esporofíticos, que participan durante el desarrollo del embrión y la germinación de la semilla (suspensor y tubo polínico) (Johri, *et al.* 1992a). Este último es el caso observado para *Chamaedorea elegans*, ya que se observó en diferentes etapas de desarrollo al tubo polínico en el interior del saco embrionario, siempre a un lado del embrión con una actividad haustorial, notoria por la gran densidad del citoplasma.

Las células del suspensor de *Chamaedorea elegans* se originan a partir de la célula basal que se divide primero en plano longitudinal para después formar un suspensor de tipo multicelular masivo, lo que concuerda con las descripciones de los suspensores de especies de palmas como *Phoenix pusilla*, *Phoenix robusta*, *Phoenix acaulis*, *Phoenix silvestris* y *Phoenix reclinata*, las cuales presentan embriogénesis tipo Asterado variación Geum (Biradar, 1968; Biradar y Mahabálé, 1968).

En general el desarrollo temprano del embrión de *Chamaedorea elegans* pasa por los estadios de proembrión unicelular, proembrión bicelular, proembrión cuadrante, proembrión octante, y proembrión globular, siguiendo el modelo reportado tanto para dicotiledóneas (West y Harada, 1993) y monocotiledóneas, las cuales no difieren entre si en sus primeras etapas de desarrollo embrionario, según lo descrito por Raghavan (1976).

El primer tejido que se diferencia durante el desarrollo embrionario de *Chamaedorea elegans* es la protodérmis, concordando con lo planteado por Thorpe (1995), el cual menciona que en general para el desarrollo embrionario de las angiospermas el primer tejido que se diferencia es la protodermis. Este tejido aparece en *Chamaedorea elegans* hasta la etapa de proembrión globular medio, mientras que para otras especies como *Capsella bursa-pastoris* aparece en la etapa de proembrión octante; por otro lado las descripciones de Mahabalé y Bradar (1968) y Kulkarni y Mahabalé (1974) para palmas como *Phoenix silvestris* y *Livistona chinensis* respectivamente, concuerdan con lo observado en este estudio para *Chamaedorea elegans*.

Posterior a la diferenciación del tejido de la protodermis, por debajo de éste, se forma en *Chamaedorea elegans* el tejido fundamental, concordando con lo descrito por Thorpe (1995).

El último tipo de tejido en diferenciarse en el embrión de *Chamaedorea elegans* es el procámbium, el cual se hace evidente en el estadio de embrión acorazonado, este tejido se forma a partir de células del tejido fundamental ubicadas en la parte central del eje del embrión, éste coincide con lo citado por Thorpe (1995), quién menciona que el tejido del procámbium se origina a partir del tejido fundamental.

El proembrión globular final de *Chamaedorea elegans* presenta una zonación determinada por la diferencias citológicas, ya que existe una desigualdad citoplasmática entre la zona apical y la zona basal con respecto al eje del proembrión. De la zona apical del proembrión se origina el meristemo apical y el cotiledón, concordando con lo planteado por Mahabalé y Bradar (1968) y Kulkarni y Mahabalé (1974) para las palmas *Phoenix silvestris* y *Livistona chinensis* respectivamente.

Debido al crecimiento y desarrollo del meristemo y el cotiledón en el proembrión globular final, éste se convierte en un embrión elipsoide, marcando con éste la diferenciación morfológica de proembrión a embrión coincidiendo con lo descrito para las angiospermas por Sebánek, *et al.*, (1991), esta forma elipsoide también es reportada para la palma *Livistona chinensis* (Kulkarni y Mahabalé, 1974).

Posteriormente el embrión de *Chamaedorea elegans* adquiere una forma acorazonada debido al crecimiento del cotiledón, el cual tiene un origen apical lateral, este cotiledón comienza a envolver y desplazar al meristemo (conforme se desarrolla el embrión), que en un inicio es de origen apical, hasta su posición lateral final. Este desplazamiento del meristemo fue descrito por Buvat (1989) y por Guignard (1984) para *Cocos nucifera*.

El embrión acorazonado al desarrollarse, se modifica morfológicamente, formando un embrión de forma sagitada invertida, el cual tiene dos polos axiales formados por el ápice de brote y el meristemo radicular. El embrión de *Chamaedorea elegans* presenta un sistema de estructuras que son el eje hipocótilo-radícula y el cotiledón, con lo cual el embrión está morfogénicamente completo. Posteriormente, el embrión entra en la fase de maduración donde crece en volumen y longitud por incremento del tejido parenquimático del cotiledón. Esto concuerda con lo planteado por West y Harada, (1993) los cuales mencionan que los embriones de angiospermas se encuentran completos morfológicamente cuando presentan ya el eje hipocótilo-radícula y el cotiledón.

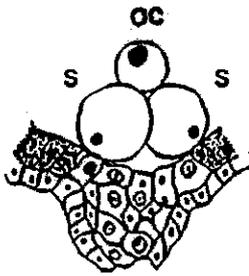
En el embrión sagitado de *Chamaedorea elegans* se observa el ápice de brote con el primer primordio foliar perfectamente diferenciado, ubicado a uno de los lados del meristemo apical y en la parte opuesta de éste se observa una zona de crecimiento que pertenece a la parte complementaria del primer primordio foliar, esto concuerda con la descripción del origen de las hojas de *Chamaedorea elegans* realizada por Beceril (1995). Por otro lado Guignard (1984) menciona que el embrión maduro de *Cocos nucifera* presenta dos primordios foliares, los cuales están ubicados a los lados del meristemo, proponiendo que cada zona de crecimiento al lado del meristemo es un primordio foliar separado, lo que no concuerda con la descripción realizada para *Chamaedorea elegans* por Beceril (1995) y apoyada en este estudio.

La protodermis del primordio foliar del ápice de brote del embrión sagitado es una extensión de la protodermis del cotiledón. Es hasta esta etapa que la protodermis presenta una cutícula, lo que la transforma en una epidermis.

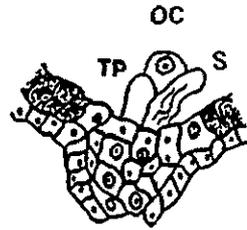
Finalmente el embrión de *Chamaedorea elegans* presentó una estructura cónica. Este embrión está rodeado por tejido epidérmico y en su interior se pudo observar otros dos tejidos, parénquima y procámbium.

El embrión de *Chamaedorea elegans* presentó un cotiledón, un eje hipocótilo-radícula, compuesto por un ápice de brote que tiene dos primordios foliares y un meristemo apical, además de presentar un meristemo radicular indiferenciado. El cotiledón por su crecimiento desplaza al ápice de brote hasta una posición lateral con respecto al eje del embrión y en su mayoría se encuentra constituido por tejido parenquimático, encontrándose en su parte basal y a lo largo del eje embrional, tejido de procámbium.

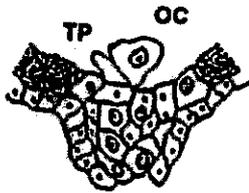
Esta descripción es similar a la del embrión de la palma *Washingtonia filifera* planteada por DeMason (1988), el cual tiene tres tejidos: epidermis, parénquima y procámbium. Presenta un cotiledón y un eje hipocótilo radicular, compuesto de un ápice de brote y un meristemo radicular indiferenciado. Además de concordar con la forma cilíndrica propuesta para los embriones de palmas, por Tomlinson (1990).



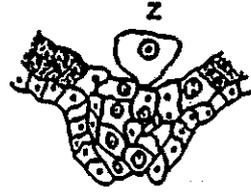
1. Aparato de huevo.



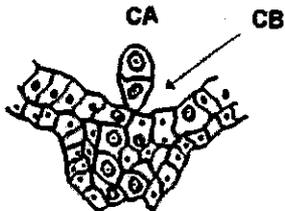
2. Zigoto, tubo polínico y restos de sinérgida.



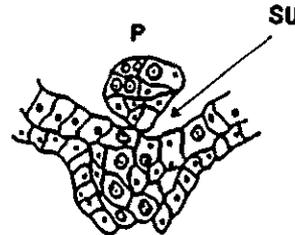
3. Zigoto y tubo polínico.



4. Zigoto piriforme.



5. Proembrión de una célula.



6. Proembrión octante.

Diagrama 3. Representación esquemática del proceso de desarrollo del embrión de *Chamaedorea elegans*.

Ovocélula (OC), sinérgidas (S), cigoto (Z), tubo polínico (TP), célula apical (CA), célula basal (CB), proembrión (P) y suspensor (SU).

Continua.....

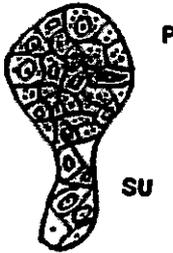
.....continuación



7. Proembrión globular temprano.



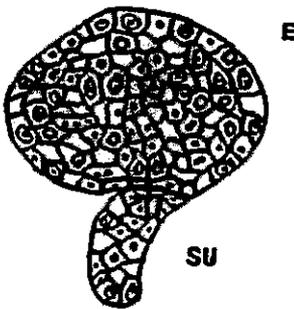
8. Proembrión globular medio.



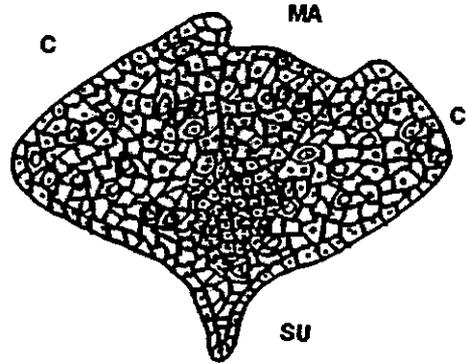
9. Proembrión globular final.



10. Embrión elipsoide.



11. Embrión oblongo.



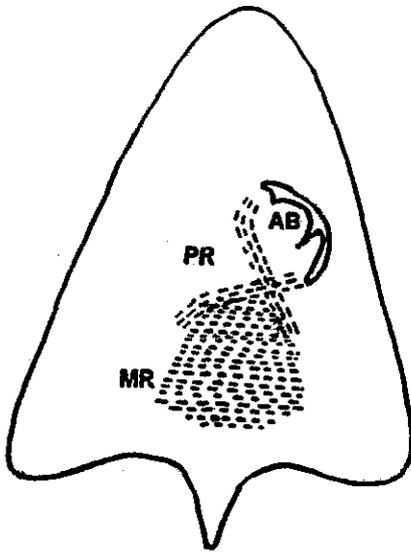
12. Embrión acorazonado.

Diagrama 3. Representación esquemática del proceso de desarrollo del embrión de *Chamaedorea elegans*.

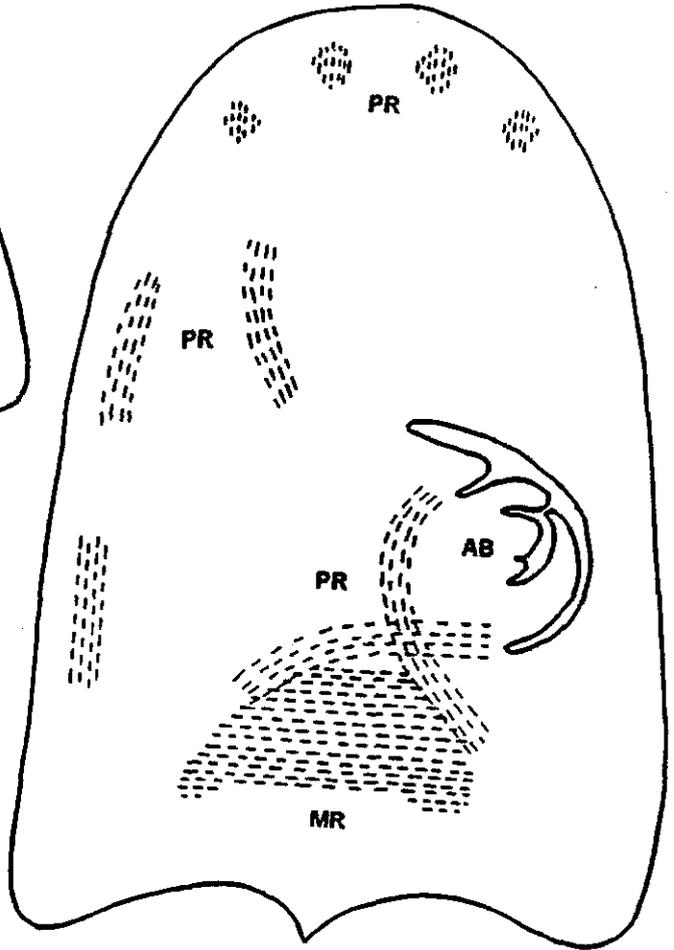
Proembrión (P), suspensor (SU), embrión (E), cotiledón (C) y meristemo apical (MA).

Continúa.....

.....continuación



13. Embrión sagitado



14. Embrión maduro

Diagrama 3. Representación esquemática del proceso de desarrollo del embrión de *Chamaedorea elegans*.

Apice de brote (AB), procámbium (PR) y meristemo radicular (MR).

CONCLUSIONES

VII. CONCLUSIONES

- El óvulo de *Chamaedorea elegans* se encuentra en posición anátropa y es bitégmico.
- Las células de la pared interna del tegumento interno se especializan para formar el tapete tegumentario que se encuentra rodeando al saco embrionario.
- El aparato de huevo está formado por dos sinérgidas y la ovocélula, su ubicación es micropilar y la ovocélula se encuentra adyacente a las sinérgidas que son efímeras.
- Los granos de polen maduros son binucleados.
- El núcleo generativo se divide dentro del grano de polen antes de la germinación.
- La penetración del tubo polínico al saco embrionario es de tipo porogámica.
- Antes de la fertilización el tubo polínico penetra una de las sinérgidas destruyéndola.
- El cigoto de *Chamaedorea elegans* inicia sus divisiones celulares hasta que el endospermo tiene un grado avanzado de desarrollo, por lo que presentan desarrollos asincrónicos.
- Según los resultados observados, la embriogénesis de *Chamaedorea elegans* es de tipo Asterado, pero será necesario hacer más estudios para confirmarlo.
- El suspensor de *Chamaedorea elegans* se desarrolla siguiendo la variación Geum.
- El primer tejido en diferenciarse en el proembrión de *Chamaedorea elegans* es la protodermis, que se origina a partir del tejido fundamental.

- El tubo polínico una vez cumplida su función reproductora, pasa a desarrollar funciones haustoriales.
- El meristemo apical del embrión tiene un origen apical que posteriormente pasa a una posición lateral debido al crecimiento del cotiledón, que se origina como una protuberancia apical lateral.
- El embrión maduro presenta tres tejidos: epidermis, parénquima y procámbium.
- El embrión maduro de *Chamaedorea elegans* presenta una forma cónica, está compuesto por un cotiledón y un eje hipocótilo-radícula que está conformado por un ápice de brote y un meristemo radicular indiferenciado. El ápice de brote está constituido por un meristemo apical y dos primordios foliares.
- Durante el proceso de desarrollo el embrión de *Chamaedorea elegans* presenta las etapas de: proembrión de una célula, proembrión cuadrante, proembrión octante, proembrión globular temprano, proembrión globular medio, proembrión globular final, embrión elipsoide, embrión oblongo, embrión acorazonado, embrión sagitado y embrión maduro.
- La semilla madura de *Chamaedorea elegans* es monoembrionica.

**LITERATURA
CITADA**

VIII. LITERATURA CITADA

- † Aguilar, A. R. 1986. El género *Chamaedorea* Willd. en el Estado de Veracruz. Tesis Profesional. Facultad de Ciencias Biológicas. Universidad Veracruzana. México. 138 pp.
- † Barba, A. A. y J. Romero. 1993. La palma camedor historia natural y cultivo. Facultad de Estudios Superiores Zaragoza. UNAM. México. 146 pp.
- † Batygina, T. B. 1985. Sexual reproduction in seeds plants, ferns and mosses. Applied aspect of embryology. Proceedings of the 8th international symposium on sexual reproduction in seed plants, ferns and mosses. Pudoc Wageningen. Netherlands. 206 pp.
- † Becerril, O. J. 1995. Ontogenia de la flor pistilada de *Chamaedorea elegans* Mart. (Palmae). Tesis Profesional. FES Zaragoza, UNAM. México. 77 pp.
- † Bewley, J. D. and M. Black. 1994. Seeds physiology of development and germination. Second edition. Plenum Press. USA. 445 pp.
- † Bhandari, N. W. and K. G. Mukerji. 1993. The haustorium. Research Studies Press. LTD. John Wiley and Sons Inc. Great Britain. 308 pp.
- † Biradar, N. V. 1968. Studies on palms: Embryology of *Phoenix pusilla* Gaertn., *P. acaulis* Buch. and *P. reclinata* Jacq. Proceedings of the Indian Academy of Sciences. 67 B:165-173.
- † Biradar, N. V. and T. S. Mahabale. 1968. Studies on palms: Embryology of *Phoenix robusta* Hook. Proceedings of the Indian Academy of Sciences. 67 B: 1-8.
- † Buvat, R. 1989. Ontogeny, cell differentiation, and structure of vascular plants. Springer-Verlag. Germany. 581 pp.
- † Christopher, R. A. 1979. Normal pollen and triporate pollen assemblages from the Raritan and Magothy formations (Upper Cretaceous) of New Jersey. Palynology. 3:73-122.

- † Daughlian, C. P. 1981. A review of the fossil record of monocotyledons. *The Botanical Review*. **47(4):517-555.**
- † DeMason, D. 1988. Embryo structure and storage reserve histochemistry in the palm *Washingtonia filifera*. *American Journal of Botany*. **75(3): 330-337.**
- † Dransfield, J and N.W. Uhl. (1986). An outline of classification of palms. *Principes*. **30(1):3-11.**
- † Esau, K. 1985. *Anatomía vegetal*. Tercera edición. OMEGA. España. 779 pp.
- † Fahn, A. 1990. *Plant anatomy*. Four edition. Pergamon Press. Great Britain. 588 pp.
- † Gaviño, G., C. Juárez y H. H. Figueroa T. 1984. *Técnicas biológicas selectas de laboratorio y de campo*. Séptima reimpresión. Editorial Limusa. México. 251 pp.
- † Goldberg, R. B., G. de Pavia and R. Yadegari. 1994. Plant embryogenesis: zygote to seed. *Science*. **266: 605-614.**
- † González, C. E. 1993. *Desarrollo e histoquímica de las estructuras reproductivas de las flores masculinas de Chamaedorea elegans (Arecaceae)*. Tesis Profesional. Facultad de Ciencias. UNAM. México. 63 pp.
- † Guignard, J. L. 1984. The development of cotyledon and shoot apex in monocotyledons. *Canadian Journal of Botany*. **62: 1316-1318.**
- † Haskell, D. A. and S. N. Postlethwait. 1971. Structure and histogenesis of the embryo of *Acer saccharinum*. I. Embryo sac and proembryo. *American Journal of Botany*. **58(7): 595-603.**

- † Hernández, O. S. L. 1997. Estudio de la respuesta morfogénica de diferentes inoculos y rescate de embriones *in vitro* de *Chamaedorea elegans* Mart. (Palmae). Tesis profesional. FES Zaragoza. UNAM. México. 77 pp.
- † Hodel, D. R. 1992. *Chamaedorea* palms the species and their cultivation. The International Palm Society. Allen Press, Lawrence. Kansas. USA. 338 pp.
- † Holman, R. M. y W. W. Robbins. 1982. Botánica general. Unión Tipográfica Editorial Hispano-Americana. México. 632 pp.
- † Huang, B. Q., S. D. Russell, G. W. Strout and L. J. Mao. 1990. Organization of isolated embryo sacs and eggs of *Plumbago zeylenica* (Plumbaginaceae) before and after fertilization. *American Journal of Botany*. 77(11):1401-1410.
- † IUCN. 1988. Botanic gardens and germoplasm conservation. *Botanic Gardens Conservation News*. 1(3):56-59.
- † Jensen, W. A. 1962. *Botanical histochemistry principles and practice*. W. H. Freeman and Co. San Francisco. USA. 401 pp.
- † Johni, B.M., K.B. Ambegaokar and P.S. Srivastava. 1992a. Comparative embryology of angiosperms. Vol. 1. Springer-Verlag. Germany. 614 pp.
- † Johni, B.M., K.B. Ambegaokar and P.S. Srivastava. 1992b. Comparative embryology of angiosperms. Vol. 2. Springer-Verlag. Germany. 1221 pp.
- † Kulkarni, M. K. and T. S. Mahabale. 1974. Studies on palms: Embryology of *Livistona chinensis* R. BR. *Proceedings of the Indian Academy of Sciences*. Sect B1 80: 1-17.
- † Mahabale, K. M. and N. V. Biradar. 1968. Studies on palms: Embryology of *Phoenix sylvestris* Roxb., *Proceedings of the Indian Academy of Sciences*. 67 B: 77-96.

- † Mansfield, S. G. and L. G. Briarty. 1991. Early embryogenesis in *Arabidopsis thaliana*. II. The developing embryo. *Canadian Journal of Botany*. 69: 461-476.
- † Moore, H. E. 1973. The major groups of palms and their distribution. *Gentes Herbarum*. 11(2):27-141.
- † Moore, H. E. and N. W. Uhl. 1982. Major trends of evolution in palms. *The Botanical Review*. 48(1):1-89.
- † Moscoso, R. M. 1945. **Palmas dominicanas**. Editorial Montalvo. Cd. Trujillo, República Dominicana. 82 pp.
- † Mulcahy, D.L., G. Bergamini and E. Ottaviano. 1986. **Biotechnology and ecology of pollen**. Springer-Verlag. USA. 528 pp.
- † Muller, J. 1981. Fossil pollen records of extant angiosperms. *The Botanical Review*. 47:1-142.
- † Oyama, N. A. K. 1987. **Demografía y dinámica poblacional de *Chamaedorea tepejilote* Liebm. (Palmae) en la selva de los Tuxtlas, Veracruz (México)**. Tesis de Maestría. Facultad de Ciencias. UNAM. México. 222 pp.
- † Palser, B. F., J. L. Rouse and E. G. Williams. 1989. Coordinated timetables for megagametophyte development and pollen tube growth in *Hododendron nuttallii* from anthesis to early postfertilization. *American Journal of Botany*. 76(8): 1167-1202.
- † Paniagua, R., M. Nistal, P. Sesma, M. Alvarez-Uría y B. Fraile. 1993. **Citología e histología vegetal y animal. Biología de las células y tejidos animales y vegetales**. Interamericana-McGraw-Hill. España. 807 pp.
- † Quero, H. 1992. Current status of mexican palms. *Principes*. 36(4):203-216.

ESTAS TESIS PUEDEN
SER EN LA BIBLIOTECA

- † Raghavan, V. 1976. **Experimental embryogenesis in vascular plants**. Academic Press. Great Britain. 603 pp.
- † Rao, C. V. 1955. Embryo development in Areca-nut. *Nature*. **175:432-433**.
- † Reinert, J. A. and P. L. Neel. 1977. Tumid spider mite control on parlor palm grown in containers. *HortScience*. **12(4): 339-341**.
- † Reiser, L. and R. L. Fischer. 1993. The ovule and the embryo sac. *The Plant Cell*. **5:1291-1301**.
- † Romero, A. J. 1990. **Cultivo in vitro de tres especies de palma camedor (*Chamaedorea* spp.)**. Tesis profesional. ENEP-Zaragoza. UNAM. México. 140 pp.
- † Romero, A. J., A. Barba-Alvarez and S. Luna-Rosales. 1995. **Comparison of three methods to asses pollen viability of *Chamaedorea elegans* Mart. (Arecaceae)**. Inédito.
- † Roth, I. 1964. **Microtecnia vegetal**. Escuela de Biología. Facultad de Ciencias. Caracas. Venezuela. 88 pp.
- † Russell, S. D. 1993. The egg cell: development and role in fertilization and early embryogenesis. *The Plant Cell*. **5: 1349-1359**.
- † Sebánek, J., Z. Sladký and S. Procházka. 1991. **Experimental morphogenesis and integration of plants. Developments in crop science 18**. Elsevier Science Publishing Company. Czechoslovakia. 417 pp.
- † Standley, P. C. and J. A. Sleyemark. 1958. *Chamaedorea* Willd. *Flora de Guatemala*. *Fieldiana Botany*. **24(1): 217-253**.
- † Steeves, T. A. and I. M. Sussex. 1991. **Patterns in plant development**. Second edition. Cambridge University Press. USA. 388 pp.

- † Strasburger, E., F. Noll, H. Schenck y A. F. W. Schimper. 1988. **Tratado de botánica**. Séptima edición. OMEGA. España. 1098 pp.
- † Thorpe, A. T. 1995. **In vitro plant embryogenesis. Current plant science and biotechnology in agriculture vol. 20**. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht. Netherlands. 558 pp.
- † Tomlinson, P. B. 1990. **The structural biology of palms**. Oxford University Press. New York. USA. 477 pp.
- † Uhl, N. W., L. O. Morrow and H. E. Moore Jr. 1969. **Anatomy of the palm *Raphys excelsa*, VII. Flowers**. J. Arnold. Arbor. **50:138-152**.
- † Vosters, J. 1975. **Comercial use of *Chamaedorea elegans*. Principes**. **19: 149-150**.
- † West, M. A. L. and J. J. Harada. 1993. **Embryogenesis in higher plants: an overview**. **The Plant Cell**. **5: 1361-1369**.
- † Yeung, E. C. and D. W. Meinke. 1993. **Embryogenesis in angiosperms: Development of the suspensor**. **The Plant Cell**. **5: 1371-1381**.

ANEXO

IX. ANEXO

MEDIO DE CULTIVO PARA EVALUACIÓN DE VIABILIDAD DEL POLEN

- 10 g de sacarosa.
- 100 ml de agua destilada.
- 1 g de agar bacteriológico.
- Ajustar a pH 6.

(Romero, *et al.*, 1995).

SOLUCIÓN EXTRACTORA DE GRANOS DE POLEN

- 100 g de sacarosa.
- 1000 ml de agua destilada.

FIJADOR FAA AL 100%

- 50 ml de etanol al 96%.
- 5 ml de ácido acético glacial.
- 10 ml de formaldehído (37-40%).
- 35 ml de agua destilada.

(Gaviño, *et al.*, 1984).

AZUL DE ANILINA

- 25 ml de etanol absoluto.
- 25 ml de metilcelosolve.
- Azul de anilina.
- 50 ml de aceite de clavo.

Se mezcló el etanol absoluto y el metilcelosolve y después se saturó con azul de anilina y finalmente se agregó el aceite de clavo (Roth, 1964).

SAFRANINA "O"

- 250 ml de metilcelosolve.
- 5 g de safranina.
- 125 ml de etanol al 96%.
- 125 ml de agua destilada.
- 5 g de acetato de sodio.
- 10 ml de formol (37-40%).

Se disolvió la safranina en el metilcelosolve, se agregó el etanol absoluto y se mezcló, posteriormente se agregó agua destilada y se mezcló. A continuación se agregó el acetato de sodio y se agitó, se adicionó formol, por último se agitó la solución (Romero, 1990).