



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA
DE MEXICO**

FACULTAD DE CIENCIAS

**ESTUDIO EMBRIOLOGICO DE *Pterostemon bravoanus*
(JIMENEZ RAMIREZ Y MARTINEZ GORDILLO)
ESPECIE ENDEMICA DE MEXICO**

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:

B I Ó L O G A

P R E S E N T A :

MONICA KARINA PEREZ PACHECO



**FACULTAD DE CIENCIAS
UNAM**

DIRECTORA DE TESIS: DRA. GUADALUPE JUDITH MARQUEZ GUZMAN

2004



**FACULTAD DE CIENCIAS
SECCION ESCOLAR**



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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



UNIVERSIDAD NACIONAL
AVENIDA 14
MEXICO

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

Comunicamos a usted que hemos revisado el trabajo escrito: Estudio embriológico de Pterostemon bravoanus (Jiménez Ramírez y Martínez Gordillo) especie endémica de México

realizado por Mónica Karina Pérez Pacheco

con número de cuenta 9403807-9 , quien cubrió los créditos de la carrera de: Biología

Dicho trabajo cuenta con nuestro voto aprobatorio.

Atentamente

Director de Tesis
Propietario

Dra. Guadalupe Judith Márquez Guzmán

Propietario

M. en C. Jaime Jiménez Ramírez

Propietario

Dra. Sonia Vázquez Santana

Suplente

M. en C. María de Lourdes López Curto

Ma. de Lourdes López C.

Suplente

M. en C. Rosenda Margarita Ponce Salazar

R. Margarita Ponce Salazar

Consejo Departamental de Biología

FACULTAD DE CIENCIAS

M. en C. Juan Manuel Rodríguez Chávez



UNIDAD DE ENSEÑANZA
DE BIOLOGIA



DEDICATORIA

Esta tesis está dedicada a mi papá Noel y mi mamá Zita, que son las personas a quien más admiro. Gracias por haberme apoyado siempre, ser buenos padres, ser buenos amigos, no tengo como agradecerles todo el amor y cariño que me han brindado. También está dedicado a mis hermanas Ana, Nelly y al pequeño Mauro quien ha sido la más grande ilusión que me pudieron brindar mis padres. A el bebé Yahir y a mi cuñado Adolfo. A mis adoradas primas Diana y Fabiola y a toda mi familia. A quien amo demasiado. Por supuesto a mi novio Gustavo, quien ha compartido conmigo mis pesares y mis alegrías a lo largo de mi carrera. Y el sueño de ser siempre mejor y de prever un futuro en donde los dos alcancemos todas las metas que nos proponemos.

A mi asesora y amiga Dra. Judith Márquez Guzmán por apoyarme siempre, por dedicarme tiempo, por creer en mí, por brindarme la oportunidad que yo esperaba y que necesitaba. Muchas gracias Judith por ayudarme a forjar una carrera académica, que quiero y deseo sea muy exitosa.

También esta dedicada a mis sinodales: Sonia Vázquez, Margarita Ponce, María de Lourdes y Jaime Jiménez. Por el apoyo y la dedicación que pusieron al revisar mi trabajo, les agradezco el esfuerzo y los consejos que me brindaron en su momento.

Y a las personas que me apoyaron para desarrollar este trabajo. Ricardo Wong (Microscopía y Técnicas), al maestro Alejandro Martínez (Microcine), a la maestra Silvia Espinosa (Microscopía Electrónica de Barrido), a Ramiro Cruz (Colectas), Odeth (Técnicas) y por supuesto que a Karina Durán, quien siempre me apoyo y fue quien me instruyo en las técnicas y manejo de instrumentos del laboratorio.

Con mucho Cariño a las maestras del Laboratorio de Desarrollo en Plantas: Magui, Patricia, Clarita, Reina y Alicia.

A mis amigos: Karla, Karina, Edgar, Leonardo, Lubmila, Izkra, Encida, Nancy, Ricardo, Kari, Fabiola, Oyuki, Normita, Alejandra, Alejandro, Yosclina, Eddy, Alma, Odeth, Dulce, Florencia y Pati Z.

INDICE

RESUMEN.....	1
INTRODUCCIÓN.....	3
ANTECEDENTES.....	5
TAXONOMÍA DE LA FAMILIA SAXIFRAGACEAE.....	5
TAXONOMÍA DEL GÉNERO <i>PTEROSTEMON</i>	7
EMBRIOLOGÍA DE LA FAMILIA SAXIFRAGACEAE.....	9
EMBRIOLOGÍA DE LA FAMILIA GROSSULARIACEAE.....	10
EMBRIOLOGÍA DE LA FAMILIA ESCALLONIAACEAE.....	11
EMBRIOLOGÍA DEL GÉNERO <i>PTEROSTEMON</i>	11
DESCRIPCIÓN BOTÁNICA DE <i>PTEROSTEMON</i> y <i>Pterostemon bravoanus</i>	12
JUSTIFICACIÓN, OBJETIVOS.....	13
MATERIALES Y MÉTODOS.....	14
DESCRIPCIÓN DE FISIOGRAFÍA DE LA ZONA DE RECOLECTA.....	14
INCLUSIÓN PARAPLAST.....	16
PRUEBAS HISTOQUÍMICAS.....	17
INCLUSIÓN LR-WHITE.....	17
MICROSCOPIA ELECTRÓNICA DE BARRIDO.....	17
RESULTADOS.....	19
MORFOLOGÍA Y ANATOMÍA FLORAL.....	19
LÁMINAS.....	22
MICROSPOROGÉNESIS Y MICROGAMETOGÉNESIS.....	34
LÁMINAS.....	37
MEGASPOROGÉNESIS Y MEGAGAMETOGÉNESIS.....	47
LÁMINAS.....	50
DISCUSIONES.....	55
ANATOMÍA Y MORFOLOGÍA FLORAL.....	55
MICROSPOROGÉNESIS Y MICROGAMETOGÉNESIS.....	58
MEGASPOROGÉNESIS Y MEGAGAMETOGÉNESIS.....	59
CONCLUSIONES.....	60
ANEXOS.....	62
REFERENCIAS.....	67

RESUMEN

La posición taxonómica de *Pterostemon* es controversial. Algunos autores como Engler (1928 en Jiménez y Martínez, 1997), Shauer (1847 en Small, 1905), Schulze-Menz (1964 en Morgan y Soltis, 1993) Cronquist (1981), Tackhtajan (1997) y más recientemente Thorne (1992), han clasificado a *Pterostemon* en las familias Saxifragaceae, Grossulariaceae, Escalloniaceae y Pterostemonaceae.

Morgan y Soltis (1993) y Wilkinson (1994) mencionan la necesidad de estudiar a este grupo bajo la óptica de diferentes disciplinas biológicas que aporten un mayor número de caracteres que permitan comprender y delimitar su posición taxonómica. Por lo anterior se realizó por primera vez el estudio embriológico de una de las especies de *Pterostemon* (*P. bravoanus*) con el propósito de aportar caracteres para el grupo y de comenzar a entender la biología reproductiva de esta especie.

P. bravoanus es una especie nativa de México. Se distribuye en el estado de Guerrero, habita en el bosque tropical caducifolio y bosque de *Quercus*.

P. bravoanus posee un óvulo, anátropo, crasinucleado, bitégmico, triestratificado, micrópilo en zigzag y un saco embrionario posiblemente de tipo Polygonum. La antera es tetrasporangiada, con epidermis persistente, cuyas células contienen taninos y gruesa cutícula; endotecio fibroso, dos capas medias efímeras, tapete secretor, uninuclear y binuclear, tétradas tetraédricas. El grano de polen se libera en etapa bicelular, este es tricolporado y la ornamentación de la exina es de tipo porada. Estos datos embriológicos son semejantes a los descritos en las familias Saxifragaceae y Grossulariaceae. Los caracteres como óvulo anátropo, crasinucleado, bitégmico son los mismos descritos para *Itea* sp, sin embargo difieren con los descritos para el resto de las *Escallonias* spp (Escalloniaceae).

También se describieron algunas características anatómicas-morfológicas florales de *P. bravoanus*. Las características encontradas en esta especie son: inclusión de cristales de oxalato de calcio (drusas y cristales poligonales) en el tejido parenquimático que rodea a los lóculos, en sépalos, en pétalos y en los estilos; distribución de taninos condensados en todos los verticilos florales; presencia de tricomas unicelulares con ornamentaciones verrugosas y de tricomas glandulares distribuidos en la epidermis del receptáculo, en la parte abaxial de sépalos y pétalos, así como en sus margenes; en filamentos y estaminodios. Los tricomas unicelulares también se distribuyen en la parte basal de los estilos en la epidermis adaxial y abaxial, en los filamentos de las anteras y en estaminodios. Estomas de tipo anomocíticos presentes en la epidermis del receptáculo y en la parte abaxial de los sépalos.

Se observó degeneración de ovarios y estambres en distintas etapas de su desarrollo y ausencia de semillas en una gran cantidad de frutos. Se desconocen las causas.

Embriología de *Pterostemon bravoanus* (Jiménez Ramírez y Martínez Gordillo) especie endémica de México

INTRODUCCIÓN

Pterostemon es endémico de México (Rzedowski, 1991) y está constituido por tres especies: *P. mexicanus*, *P. rotundifolius* y *P. bravoanus*. Estos arbustos se distribuyen en el Eje Neovolcánico: *P. mexicanus* en el norte, mientras que *P. rotundifolius* y *P. bravoanus* en el sur de la cadena montañosa; a su vez las dos últimas especies están separadas por barreras climáticas. El surgimiento del eje Neovolcánico y los cambios climáticos debieron jugar un papel importante en el origen de las tres especies (Jiménez y Martínez, 1997).

Pterostemon mexicanus fue descrita por Shauer (1847 en Small, 1905). Se localiza en el estado de Guanajuato, Querétaro, Hidalgo y norte de Puebla y en esta última localidad crece en salientes abruptas, calcáreas. La vegetación se caracteriza por presentar elementos espinosos, algunas leguminosas y cactáceas (Rzedowsky, 1978 en Wilkinson, 1994). *Pterostemon rotundifolius* descrita por Ramírez (1893) se encuentra distribuida en los matorrales xerófilos compuesto por *Rhus*, *Psedomodinium* (Anacardiaceae), *Quercus* (Fagaceae) y *Vauquelinia* (Rosaceae) en el sur de Puebla, en áreas contiguas a Oaxaca y Guerrero. Ambas especies habitan entre los 1520 y 2650 m de altitud. La inflorescencia y partes florales son descritas por Hutchinson (1967).

Pterostemon bravoanus descrita por Jiménez y Martínez (1997) Se distingue de las otras especies por presentar hojas más grandes, flores pequeñas y una cima con más de 50 flores. Crece en los bosques tropicales caducifolios y bosques de *Quercus* en Guerrero, en zonas sombreadas y húmedas y con suelos calizos, entre los 1000 y 1600 m de altitud. La floración es de julio a noviembre. Estos autores mencionan que se han encontrado poblaciones poco abundantes, por lo que consideran que podría encontrarse amenazada.

La posición taxonómica de *Pterostemon* se encuentra en discusión debido a que muchos investigadores han modificado consecutivamente las relaciones taxonómicas y ubicación del grupo en diferentes familias, por lo que la posición varía de autor en autor. El género ha sido ubicado en la subfamilia Pterostemnoideae de la familia Saxifragaceae (Engler, 1928 en Jiménez y Ramírez, 1997; Benthán y Hooker, 1862-1867; Erdtman, 1952 en Wilkinson, 1994 y Schulze-Menz, 1964 en Morgan y Soltis, 1993). Cronquist (1981) reclasifica a Pterostemnoideae en la familia Grossulariaceae. Thome (1992) reubica a Pterostemnoideae dentro de la familia Escalloniaceae. Otros autores como Small (1905), Hutchinson (1967) y Takhtajan (1997) consideran que el género es suficientemente diferente para constituir una familia distinta la Pterostemonaceae.

Esta problemática taxonómica es consecuencia de la falta de conocimiento biológico de *Pterostemon*. Wilkinson (1994) menciona que se tienen pocos datos proporcionados por disciplinas como la anatomía y la morfología. Además, los pocos trabajos que existen sólo abarcan a las dos primeras especies *P. mexicanus* y *P. rotundifolius*. Estudios donde se aporten caracteres de la madera, anatómicos, morfológicos, palinológicos, de estructura de semillas, embriológicos, citológicos, bioquímicos, serológicos y moleculares son necesarios para entender a este grupo de plantas así como sus relaciones filogenéticas.

Por las razones anteriormente expuestas, se decidió abordar por primera vez el estudio embriológico de *Pterostemon bravoanus*. Este estudio forma parte de un proyecto multidisciplinario en el que se pretende entender las relaciones de las especies de *Pterostemon* entre y con las familias que se han considerado cercanas, permitiendo reconstruir una hipótesis de filogenia y una posible clasificación.

ANTECEDENTES

Taxonomía de la familia Saxifragaceae

Pocas familias de angiospermas presentan problemas sistemáticos de gran magnitud como es el caso de la familia Saxifragaceae *sensu lato*. Muchos sistematas consideran que las Saxifragaceae ocupan una posición pivotal en la evolución de un amplio número de linajes de angiospermas (Morgan y Soltis, 1993). Desde un punto de vista morfológico ha sido imposible caracterizarla de manera unívoca.

Engler (1930 en Bense y Palser, 1975a) interpreta a la familia Saxifragaceae con una amplia diversidad morfológica que incluye hierbas, arbustos, árboles anuales, bianuales y perennes, comprendidas en 15 subfamilias. Sin embargo el número de subfamilias se ha incrementado a 17, con 31 a 80 géneros y 580 especies, esto dependiendo del esquema de clasificación que se siga (Cronquist, 1981).

La diversidad morfológica encontrada en la familia Saxifragaceae es tan grande que muchos investigadores han modificado consecutivamente las relaciones entre las subfamilias (Cronquist, 1968, 1981; Thorne 1968, 1967, 1983, 1992; Takhtajan, 1969, 1980, 1997; Dahlgren, 1975, 1980, 1983; en Soltis *et al.*, 1993). E inclusive ha sido difícil definir las relaciones entre los miembros de la subfamilia central Saxifragoideae.

En parte esta confusión se debe al alto grado de similitud morfológica, particularmente en las características vegetativas. Los géneros se distinguen por una o pocas características morfológicas florales y/o en morfología del fruto (Soltis *et al.*, 1993).

La familia ha estado sujeta a estudios en diversas áreas de la biología como son: anatómico-morfológicos (Ferguson *et al.*, 1970; Bense y Palser, 1975a, 1975b, 1975c y 1975d; Kulbaeva, 1992a, 1992b y 1992c; Al-Shammary y Gornall, 1994; Soltis y Hufford, 2002), bioquímicos, citológicos, embriológicos (Abe, 1982; Beamish, 1963, 1965, 1967) y moleculares (Soltis *et al.*, 1993; Morgan y Soltis, 1993; Douglast *et al.*, 1993; Soltis *et al.*, 1996). De estos últimos estudios se obtuvieron datos que nos indican que el grupo es polifilético.

A pesar de todo esto, muchas de las relaciones taxonómicas entre especies, géneros y subfamilias aún quedan por resolverse.

Estos datos han sido utilizados por algunos taxónomos para definir a la familia Saxifragaceae *sensu lato*; sin embargo, esta definición varía de autor en autor. De esta manera, algunos de los taxones han sido ubicados en la familia Saxifragaceae o bien, eliminados de ésta; por mencionar algunos: *Ribes*, *Itea* y *Pterostemon*.

Coincidentemente estos tres géneros han sido reclasificados en la familia Grossulariaceae. Esta familia primeramente había sido considerada dentro de la familia Saxifragaceae, que anteriormente agrupaba tanto taxa leñosos como herbáceos con hojas opuestas o alternas (Duran, 2001).

La familia Grossulariaceae está constituida por 25 géneros y 350 especies; principalmente arbustos y árboles de distribución cosmopolita. Grossulariaceae se distingue por presentar hojas pinnadas a palmadamente nervadas, flores con un hipantio conspicuo que se extiende bien por debajo del ovario ínfero, por una placentación parietal y bayas (Judd *et al.*, 1999 en Duran, 2001).

Grossulariaceae, con géneros como *Ribes* y *Grossularia*, han sido relacionados con taxa herbáceos considerados actualmente como Saxifragaceae *sensu stricto* (ej. *Saxifraga* y *Astilbe*). No existe acuerdo en la composición de esta familia (Duran, 2001).

La ubicación taxonómica del género *Ribes* es controversial. Shulze-Menz (1964 en Morgan y Soltis, 1993) clasifican a *Ribes* como una subfamilia de la familia Saxifragaceae; (Hutchinson, 1973, Dahlgren, 1983, Takhtajan, 1987 en Morgan y Soltis 1993), Cronquist (1981) y Thome (1992) posicionan a Ribesioideae como una subfamilia dentro de la familia Grossulariaceae.

Los resultados de los estudios realizados por secuenciación de análisis de *rbcL* (gen que codifica para la subunidad de la ribulosa 1,5-difosfato carboxilasa-oxigenasa) indican que la subfamilia Ribesoideae es monogénica. Esta subfamilia presenta una relación estrecha con Saxifragoideae que con otros grupos leñosos como Hydrangeoideae, Escallonoideae y Montinioideae. Algunos datos anatómico-morfológicos florales (Bensel y Palsler, 1975b), embriológicos (Dahlgren, 1975; Philipson, 1974, 1977 en Morgan y Soltis, 1993), bioquímicos (Jay, 1970; Plouvier, 1965 en Morgan y Soltis, 1993) y serológicos (Grund y Jensen, 1981 en Morgan y Soltis, 1993) corroboran esta relación. Los resultados moleculares también sugieren que existe una relación con los grupos Iteoideae y Pterostemnoideae.

Itea ha sido considerada como una subfamilia de Saxifragaceae (Shulze-Menz, 1964 en Morgan y Soltis, 1993); de Grossulariaceae (Cronquist, 1981) y de Escalloniaceae. (Hutchinson, y Thorne, 1992). Otros autores la consideran como una familia perteneciente del orden Saxifragales (Dahlgren, 1983 y Takhtajan 1987 en Morgan y Soltis, 1993).

Los resultados de la secuenciación de *rbcL* sugieren que *Itea*, esta estrechamente relacionada con Saxifragoideae. Algunas características anatómico-morfológicas florales y embriológicas confirman esta relación. Bensel y Palsler (1975b). mencionan que las flores de *Itea* spp son virtualmente idénticas a las flores de Saxifragoideae. Embriológicamente *Itea* presenta óvulos crasinucelados y bitégmicos que son idénticos a los de Saxifragoideae y a los de Ribesoideae, pero son distintos a los de Escallonoideae, Montinioideae y Hydrangeoideae que son óvulos unitégmicos y tenuinucelados (Morgan y Soltis, 1993).

Taxonomía del género *Pterostemon*

La misma problemática taxonómica ocurre en *Pterostemon* que ha sido tradicionalmente clasificado en subfamilias leñosas de la familia Saxifragaceae como: Escallonoideae, Hydrangeoideae y Montinioideae (Morgan y Soltis, 1993).

Wilkinson (1994) indica que Small, 1905 considera al grupo como una familia nombrándola Pterostemonaceae. Menciona que Engler (1930) incluye a *Pterostemon* en la familia Saxifragaceae como una subfamilia Pterostemonoideae. Éste reconoce que *Pterostemon* no está directamente relacionado con otras Saxifragaceae, pero *Pterostemon* comparte algunas características con las Hydrangeoideae y Escallonioidae. Engler apunta que los tricomas peltados se han encontrado también en las Ribesieae.

Erdtman (1952 en Wilkinson, 1994) describe los granos de polen de *Pterostemon* y posiciona a éste en la familia Saxifragaceae, pero sin ningún comentario acerca de la conveniencia de la posición del género.

Shulze-Menz (1964 en Morgan y Soltis, 1993) incluyen a Pterostemonoideae como una subfamilia entre las 17 subfamilias incluidas en la familia Saxifragaceae. Hideux y Ferguson (1976 en Morgan y Soltis, 1993) describen el polen de *Pterostemon* y mencionan que sus características palinológicas son similares con ciertas *Escallonias* spp. Cronquist (1981) reubica a *Pterostemon* como una subfamilia de la familia Grossulariaceae.

Takhtajan (1987) posiciona a *Pterostemon* en la familia Saxifragaceae. Sin embargo años más tarde considera que el género presenta características distintas y la clasifica como la familia Pterostemonaceae. Thome (1992) tiene a Pterostemonoideae como una subfamilia de Escalloniaceae.

Morgan y Soltis (1993) realizan un estudio filogenético entre algunos miembros de la familia Saxifragaceae *sensu lato*, basados en la secuenciación molecular del gen *rbcl*. Obteniendo mediante el análisis filogenético que *Pterostemon*, *Ribes* e *Itea* presentan una alianza más cercana a Saxifragoideae que a Hydrangeoideae y a Escallonioidae. Mencionan que las características embriológicas: óvulo crasinucelado y bitégmico están presentes tanto en *Pterostemon* como en *Ribes* e *Itea* y en Saxifragoideae, empero las características embriológicas descritas en las Escallonioidae, Hydrangeoideae y Montinioideae, corresponden a óvulos tenuinucelados y unitégmicos por lo que no se relacionan con las de *Pterostemon*.

Por otro lado hacen referencia que las características morfológicas y palinológicas no soportan la alianza entre *Pterostemon*, *Itea* y Saxifragoideae. Debido a que *Pterostemon* presenta cinco estambres fértiles, cinco estaminodios y además tienen cinco carpelos y un endospermo escaso mientras que *Itea* y Saxifragoideae usualmente tienen dos carpelos, abundante endospermo y no tienen estaminodios.

Hideux y Ferguson (1976 en Morgan y Soltis; 1993) describen el polen de *Pterostemon* y mencionan que presentan un tectum completo, una ectoapertura larga y una compleja endoapertura, características que son muy similares a algunos géneros de Escallonioides. La superficie del tectum de *Pterostemon* es muy semejante a *Itea* sp aunque, difieren en que esta presenta una corta ectoapertura. Sin embargo Morgan y Soltis (1993) consideran que el grupo *Pterostemon* debe ser estudiado en gran detalle pues muy poco se conoce de su palinología, anatomía de la madera y embriología. Ellos consideran que se deben realizar otros estudios multidisciplinarios que ayuden a resolver las relaciones taxonómicas del género.

Es debido a esto último, que se emprende el estudio filogenético del género *Pterostemon* y que esta investigación es una contribución al mismo.

EMBRIOLOGÍA

Embriología de la familia Saxifragaceae

Davis (1966) y Johri *et al.*, (1992) describen la embriología de la familia Saxifragaceae mencionando que la antera es tetrasporangiada con epidermis persistente; con presencia de taninos o cutinizada. El endotecio de tipo fibroso; una o dos capas medias, células del tapete uninucleadas, binucleadas o tetranucleadas. La célula madre de las microsporas presenta citocinesis simultánea y las tétradas de microsporas son tetraédricas o decusadas. Los granos de polen se liberan en etapa bicelular o tricelular y son tri-colporados.

El óvulo es anátropo, unitégmico o bitégmico, crasinucelar o tenuinucelar. Cuando el óvulo es bitégmico, ambos tegumentos (interno y externo) son de origen epidérmico; triestratificados, excepto en la

porción apical donde forman el micrópilo y los dos conforman el micrópilo de tipo zigzag (Bensel y Palser, 1975a; Abe, 1982). Las células del tegumento interno comienzan a llenarse de taninos que conforme el óvulo madura incrementa su presencia y se extienden al tegumento externo en *Saxifraga fortunei* var. *partita* (Abe, 1982).

La célula madre de la megaspora (CMMe) lleva a cabo una citocinesis simultánea, la meiosis origina una tétrada lineal o en forma de T en *Saxifraga virginensis* (Chapman, 1933) y la megaspora calazal forma un saco embrionario tipo Polygonum (Beamish, 1963; Beamish, 1967; Abe, 1982). Las sinérgidas tienen forma de gancho y usualmente exhiben el aparato filiforme, los núcleos polares se fusionan antes o en el momento de la fecundación y frecuentemente las tres células antipodales persisten en las etapas tempranas postfecundación. La formación del endospermo es celular, helobial, o nuclear.

Embriología de la familia Grossulariaceae

Davis (1966) describe la embriología de la familia Grossulariaceae mencionando que la antera es tetrasporangiada; endotecio fibroso, dos capas medias y tapete glandular con células multinucleadas. Las células madres de las microsporas presenta citocinesis simultánea. Las tétradas de microsporas son tetraédricas o decusadas. Los granos de polen son bicelulares cuando son liberados. Granos de polen 2,3 (5) colorado o hasta 11-porado en *Ribes* (Cronquist, 1981).

El óvulo es anátropo, bitégmico (*Ribes*) o unitégmico, crasinucelar o tenuinucelar. La célula arqueosporial se divide formando una célula parietal primaria la cual da lugar a varias capas parietales sin embargo, en *Ribes* spp se reporta que el arqueosporio está constituido por una a dos células, éstas se dividen formando una capa parietal primaria y la célula esporógena funciona como la célula madre de la megaspora (CMMe) (Johri *et al.*, 1992); que lleva a cabo una citocinesis simultánea. La meiosis origina una tétrada lineal y ocasionalmente en forma de T. La megaspora calazal desarrolla un saco embrionario tipo Polygonum. Las sinérgidas tienen forma de gancho. Los núcleos polares se fusionan antes de la fecundación y 2 o las 3 células antipodales degeneran. Un arilo funicular se ha descrito en *Ribes aureum*.

La formación del endospermo es celular en *R. orientale*, *R. rubrum* y *R. silvestre*, el tipo helobial ocurre en *R. bureiense*, *R. divaricatum*, *R. grosularia*, *R. missouriens* y *R. oxyacanthoides*.

Embriología de la familia Escalloniaceae

Los óvulos de *Itea* (Escalloniaceae) son crasinucelados y bitégmicos. *Escallonia* presenta óvulos tenuinucelados y unitégmicos. El endospermo es nuclear.

Los granos de polen de *Itea* son bilaterales y bipoarados, con un tectum completo y una reducida ectoapertura (Morgan y Soltis, 1993).

Embriología del género *Pterostemon*

Hutchinson (1967) describe a la familia Pterostemonaceae y el único carácter embriológico que menciona está relacionado con las semillas que son: solitarias, erectas y sin endospermo. Los óvulos de *Pterostemon* son crasinucelados y bitégmicos.

Hideux y Ferguson (1976, Morgan y Soltis, 1993). Describen los granos de polen de *Pterostemon* y mencionan que presenta un tectum completo, una larga ectoapertura y una compleja endoapertura.

Las escasas características embriológicas antes descritas sólo abarcan a la primera especie determinada *P. mexicanus*. No se conoce ningún carácter embriológico de *P. rotundifolius* y de *P. bravoanus*.

Descripción botánica de *Pterostemon* (Hutchinson, 1967)

El género *Pterostemon* incluye especies arbóreas o arbustivas, leñosas, suculentas y con hojas alternadas, estípulas pequeñas; pocas flores en las cimas terminales, bisexuales; tubo del cáliz turbinado, unido con el ovario; 5 lóbulos, tubulares-triangules, valvados; 5 pétalos libres, reflexos, con filamentos anchos y con dientes en el ápice, 5 sépalos erectos; ovario ínfero, 5 lóculos; estilo erecto, estigmas radiados; óvulos 4-6 en cada lóculo, placentación axial; cápsula septicidal, leñosos; semillas solitarias, sin endospermo.

Descripción botánica de *Pterostemon bravoanus* (Jiménez-Ramírez y Martínez-Gordillo, 1997)

Arbustos 1-4 m de alto. Hojas 3.5-9 (13) x (2.5) 4-7(9) cm, ampliamente elípticas, a veces ligeramente triangulares o romboides, ápice redondeado, margen irregularmente crenado dentado, base redondeada, obtusa o raramente cuneada, en algunas ocasiones oblicua; haz glabro, ocasionalmente con gotitas de resina, envés piloso, 5-6 (9) pares de venas laterales; peciolo (0.7)1.4-2.7(4) cm de largo; estípulas 1.5-2 mm, lineares, pubescentes. Cimas subterminales con muchas flores (50 o más), pedúnculos pubescentes; bracteolas lineares, similares a las estípulas. Flores perfectas, pediceladas, pedicelo 4-6.1(7) mm; sépalos 5, 2.3-3 x 1.4-1.8 mm, triangulares, unidos en la base, haz glabro, envés pubescente; pétalos 5, 4-6.5 x (1.5)2-2.5(3) mm, elípticos, blancos, erectos, resolutos en el ápice, pubescentes por fuera; estambres 10, 5 fértiles, 5 estaminodios, más grandes que el cáliz; finalmente planos, anchos y alados, con dos dientes en el ápice, glabros del lado adaxial, pubescentes abaxialmente; anteras elípticas, apiculadas; ovario 5-locular, piloso; estilo pubescente; estigma con 5 lóbulos esféricos. Fruto y semillas desconocidos.

JUSTIFICACIÓN

La ubicación taxonómica del género *Pterostemon* es incierta. Esto se debe en parte al poco conocimiento biológico que se tiene de las tres especies que lo forman. Es necesario realizar estudios multidisciplinarios para entender las relaciones filogenéticas del género *Pterostemon*.

Los estudios embriológicos aportan múltiples caracteres de valor taxonómico, además de que nos proporcionan información del estado reproductivo de las plantas.

Dado que no existen estudios embriológicos para *Pterostemon* y estos representan una fuente muy importante de caracteres para los estudios taxonómicos, se decidió abordar, por primera vez, el estudio embriológico de *Pterostemon bravoanus*.

OBJETIVOS

OBJETIVO GENERAL:

- Estudiar la estructura floral y el desarrollo de los verticilos sexuales de *P. bravoanus*.

OBJETIVOS PARTICULARES:

- Estudiar la morfología floral con especial énfasis en tricomas, estomas, taninos y cristales de oxalato de calcio.
- Estudiar el desarrollo de la antera y granos de polen
- Estudiar la micromorfología del grano de polen.
- Estudiar el desarrollo del gineceo, del óvulo y del saco embrionario.

MATERIALES Y MÉTODOS

❖ Descripción fisiográfica de la zona de recolecta

La recolecta se realizó en el municipio de Petatlán. Localizado a una altitud de 40 m, al oeste de Chilpancingo en el estado de Guerrero (Figura 1). Forma parte de la región Costa Grande, ubicado en las coordenadas 17°32' de latitud norte y entre los 101° 16' de longitud oeste, respecto al meridiano de Greenwich. Petatlán colinda al norte con Coyuca de Catalán, al sur con el océano pacífico; al este con Tecpan de Galeana y al oeste con Teniente José Azueta.

El municipio está compuesto por 288 localidades. Cuenta con una extensión territorial de 2,071 kilómetros cuadrados y representa el 3.25% del total de la superficie del estado de Guerrero (<http://gro.inegi.gob.mx/territorio/espanol/menu.html>).

El relieve se encuentra conformado por tres tipos: 70 por ciento se compone de zonas montañosas, accidentadas, localizadas al norte y hacia el centro, formadas por la sierra Madre del Sur, alcanzando una altura de 2,500 msnm, las zonas semiplanas ocupan un 20% del territorio, se encuentran al norte de la carretera federal Acapulco-Zihuatanejo, formadas por lomas y pequeñas planicies; las zonas planas abarcan el 10% de la superficie y se localizan en la parte oeste, sureste y el litoral.

Este municipio cuenta con los ríos Coyuquilla, Petatlán y San Jeronimito, además de diversos arroyos como el Camotal, la Morena, el Comalate y Coyuca; existen también lagunas entre las que se encuentran, Santiago y Estero Valentín, Salina el Cuajo y la del Tular.

Los tipos de clima existentes en este municipio son subhúmedo, semicálido y subcálido; el primero se localiza hacia el norte con los límites de Coyuca de Catalán, el segundo se encuentra en el centro y el tercero en el centro y la costa.

La temporada de lluvia comprende de junio hasta mediados de octubre, con precipitación promedio de 1,100 milímetros; hay lluvias además en el mes de noviembre y diciembre con una precipitación de 900 milímetros.

La vegetación del municipio está compuesta por selva baja y mediana caducifolia, cuya característica principal es que sus árboles tiran sus hojas en otoño

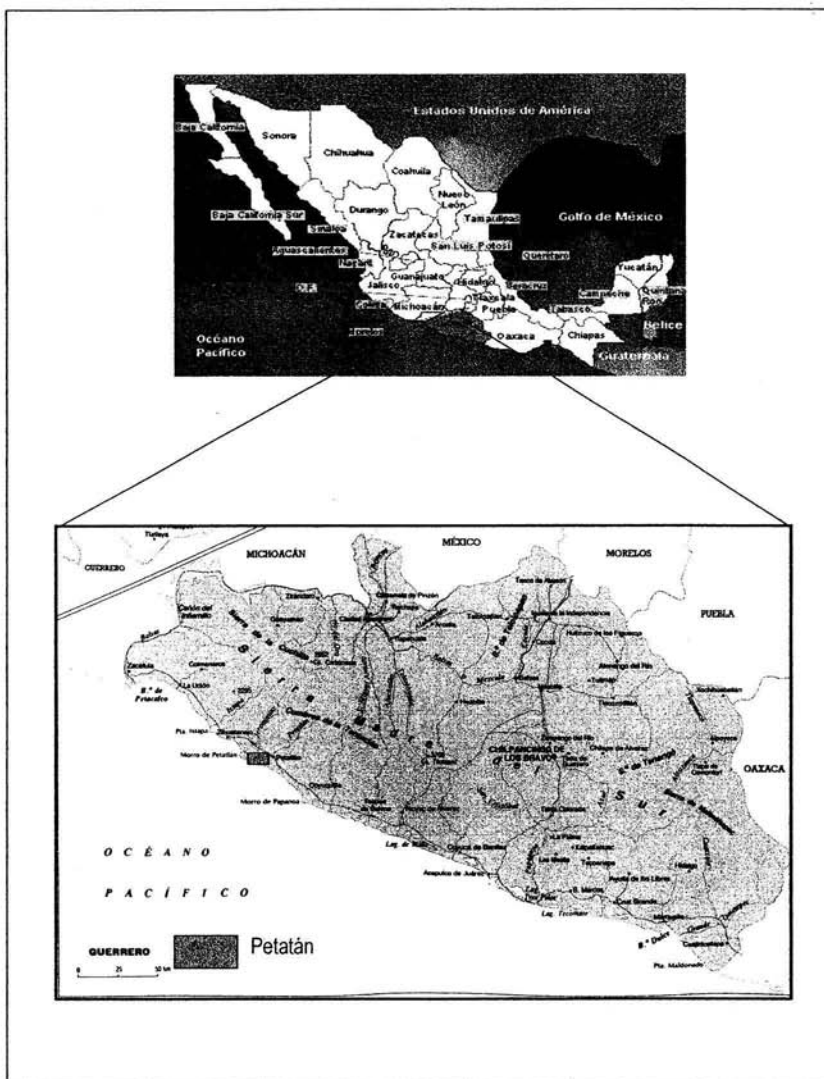


Figura 1. Localización del municipio de Petatlán en Guerrero, México.

❖ **Recolecta del material biológico**

Como primera fase del proyecto, se hizo la recolecta de botones florales y flores en antesis de la especie *Pterostemon bravoanus* (Lámina 1A y 2C) en el municipio de Petatlán en Guerrero, en los meses de julio y noviembre de 2003 y febrero de 2004. El M. en C. Jaime Jiménez Ramírez proporcionó botones para la realización de esta investigación.

En la siguiente fase, se procesó los botones florales separándolos por tamaños, con la finalidad de facilitar la manipulación del material (Lámina 1B). A las flores en preantesis y antesis se les desprendieron los sépalos y los pétalos para su mejor fijación e inclusión (Lámina 2A y 2B)

Para realizar el estudio embriológico se utilizaron dos diferentes materiales de inclusión: Paraplast y LR-white, las observaciones se realizaron por medio de microscopio fotónico.

❖ **INCLUSIÓN EN PARAPLAST (López *et al.*, 1998)**

Botones florales en distintas etapas de desarrollo y flores en antesis de *Pterostemon bravoanus* se fijaron en FAA (formaldehído 10 ml, ácido acético glacial 5 ml, alcohol etílico 96% 50 ml y agua destilada 35 ml).

La deshidratación del material biológico se realizó en una serie etanólica 50%, 70%, 85%, 96% y 100%, una hora en cada uno; el paso de alcohol absoluto-xilol (1:1) una hora, xilol puro 15 minutos, xilol-paraplast (1:1) durante 24 horas y paraplast puro máximo 24 horas, se mantuvieron en la estufa a una temperatura de 56° C. Los cortes se realizaron en un micrótopo de rotación a 5µm-12 µm de grosor. Se tiñeron con una tinción doble safranina- verde fijo en metilcelosolve (Figura, 2).

También se tiñeron con fucsina ácida y azul de toluidina (Curtis, 1986). Las muestras se desparafinaron por 30 minutos en la estufa a 56 °C, se hicieron tres cambios de xilol de tres minutos cada uno; xilol-alcohol absoluto (1: 1), tres minutos y se hidrataron en una serie etanólica, 100%, 96%, 85%, 70%, 50%, tres minutos en cada uno. Se pasaron las preparaciones en fucsina ácida, 15 minutos, estas se enjuagaron, se tiñeron con azul de toluidina, 30 minutos y se lavó el exceso de colorante. Se realizó una deshidratación gradual con alcohol etílico 50%, 70%, 85%, 96%, 100%, seguido de una mezcla OH-xilol (1:1), 3 segundos en cada uno y por último xilol puro 6 minutos y se procedió a montar con resina sintética

❖ PRUEBAS HISTOQUÍMICAS

TANINOS CONDENSADOS (VAINILLINA) (Johansen, 1940).

Se desparafinaron las muestras durante 30 minutos en una estufa a 56° C, después se llevaron hasta alcohol 96 %. Se aplicó una gota de vainillina 1 % y 1 gota de ácido clorhídrico 8 % en cada corte.

CUTÍCULA (ROJO "O" DE ACEITE) (López *et al.*, 1998)

Se desparafinaron las muestras durante 30 minutos en una estufa a 56° C, se hidrataron hasta alcohol 50%. Las muestras se dejaron embebidas en Rojo de "O" de aceite durante 40 minutos. Después se enjuagaron con alcohol 50% , alcohol 30% y finamente con agua. Las muestras se montaron en jalea glicerizada.

❖ INCLUSIÓN EN LR-WHITE (Hall, 1991)

Los botones florales en distintas etapas de desarrollo y flores en antesis se fijaron con FAA y se deshidrataron gradualmente con alcohol etílico 30%, 40%, 50%, 70%, 85%, 96% y 100% una hora en cada uno. Los botones en preantesis y antesis se incluyeron en LR-white (resina). Los cambios de alcohol absoluto a LR-white puro, se hicieron gradualmente (3:1), (2:2), (1:3), durante una hora en cada mezcla y por último en LR-white puro con un tiempo de 24 horas aproximadamente en refrigeración a 4° C. Después se incluyeron a 56° C durante 12 horas como máximo. Se cortaron en el ultramicrotomo a .75µm-2.5µm de grosor y se tiñeron con azul de toluidina (Figura, 2).

❖ MICROSCOPIA ELECTRÓNICA DE BARRIDO (Bozzola y Russell, 1992).

BOTONES Y FLORES EN ANTESIS

Botones florales y flores fijados en FAA, se deshidrataron gradualmente con alcohol etílico 30%, 40%, 50%, 70%, 85%, 96 % y 100 % una hora en cada uno. Seguido de un cambio de alcohol 100%- Acetona en una proporción (1:1) (1:2) hasta acetona pura cada paso durante 10 minutos. Después fueron llevadas a punto crítico con CO₂ y se montaron en los portamuestras metálicos para ser cubiertos por una capa de oro, se realizaron las observaciones correspondientes para la toma de fotos.

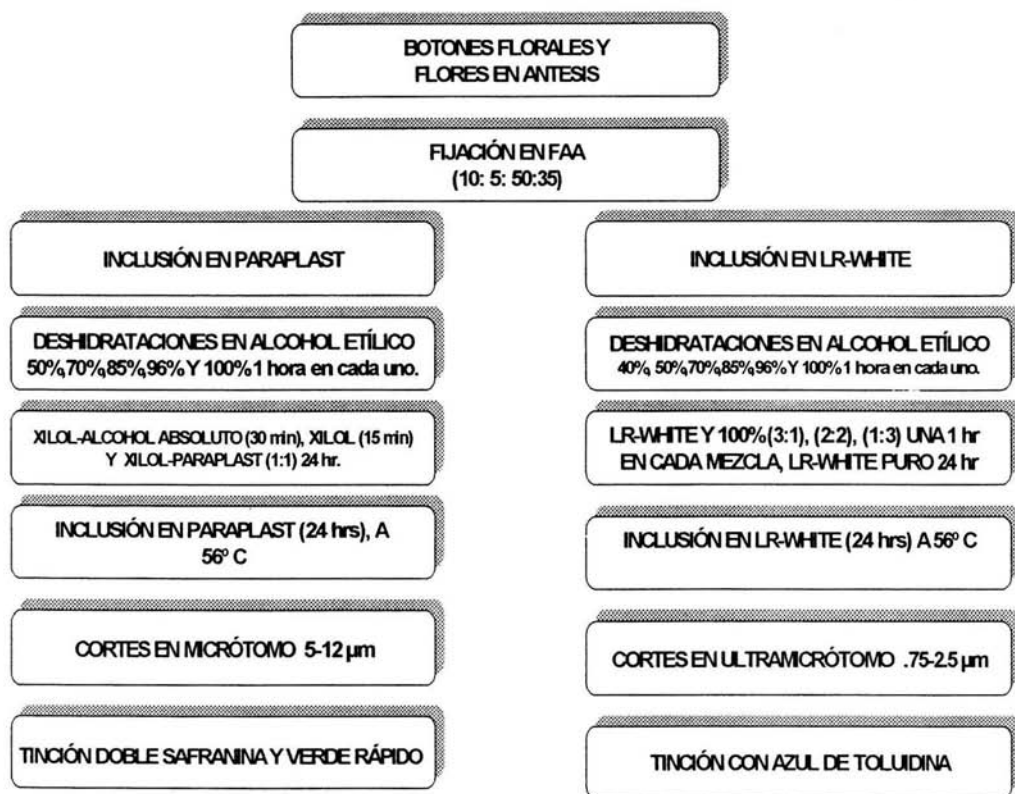


Figura 2. Procedimiento para la inclusión en Paraplast y en LR-white de botones florales en distintas etapas de desarrollo y flores en antesis de *Pterosternon bravoanus*.

RESULTADOS

MORFOLOGÍA Y ANATOMÍA FLORAL

Las flores de *Pterostemon bravoanus* son actinomorfas, pentámeras y hexámeras en proporción 20:1; flor epiginas (ovario infero) (Lámina 2B) con placentación axial (Lámina 3A).

OVARIO, ESTILO Y ESTIGMA

El ovario de *P. bravoanus* es sincárpico, pentacarpelar, pentalocular con 4 (5) 6 óvulos por lóculo; siendo cinco el más frecuente (Lámina 3A).

Los carpelos se diferencian en ovario, estilos y estigmas. En la parte central del ovario se observa un canal que se prolonga a todo lo largo de los estilos y llega hasta la región estigmática; es un canal abierto al exterior desde la zona central donde confluyen los septos del ovario (Lámina 4A). La formación de este canal es debido a que los carpelos y los estilos están fusionados solo lateralmente, de manera que se observa un canal en la parte central. El canal presenta en su epidermis adaxial tricomas unicelulares con ornamentaciones de tipo verrugoso y sólo estos se proyectan en la parte basal de los estilos (Lámina 4B).

Mediante microscopía electrónica de barrido (MEB), se pudo observar que en la parte basal de los estilos, la epidermis abaxial presenta mayor recubrimiento de tricomas unicelulares con ornamentaciones verrugosas (Lámina 5C). Conforme se aleja del punto de unión de los estilos con el ovario hacia los estigmas, se observa una disminución en la abundancia de tricomas y en los estigmas estos ya no se encuentran (Lámina 5A).

Los estigmas presentan múltiples células papilosas (Lámina 5A). Cada estigma presenta un tejido de transmisión central, que recorre desde la zona estigmática, estilos hasta llegar a la parte central del ovario (Lámina 5B, 5C y 5D). El tejido de transmisión corre paralelo al tejido vascular, y está delimitado por cristales de oxalato de calcio (drusas y cristales poligonales).

Las células del tejido de transmisión son rectangulares, alargadas, dispuestas verticalmente, diferenciándose del resto del tejido estilar (Lámina 6A y 6B).

Los estigmas siempre están libres en la parte apical, sin embargo los estilos se encuentran fusionados en su parte lateral (Lámina 5A, 7A, 7B y 7C). La separación de los estigmas se hace más pronunciada conforme avanza el desarrollo del botón floral, encontrando su máxima separación en la flor en antesis.

CÁLIZ

En la epidermis abaxial del cáliz y en la epidermis del receptáculo se localizaron estomas elevados por encima del nivel de la epidermis. Se determinó mediante microscopía electrónica de barrido (MEB) que los estomas son del tipo anomocítico, debido a que carecen de células acompañantes y solo están constituidos de células oclusivas y el ostiolo (Lámina 8A y 8B).

En la epidermis abaxial del cáliz, en el margen de sépalos y pétalos así como en la epidermis del receptáculo se encuentran distribuidos tricomas multicelulares glandulares que miden de $71.5\mu\text{m}$ a $85.7\mu\text{m}$ de ancho, constituidos por un base multicelular y una cabeza de células glandulares (Lámina 9A y 9B).

Las células glandulares presentan su máxima actividad (citoplasma denso, enormes vacuolas y núcleos conspicuos) cuando acontecen las divisiones meióticas en el micro y megasporangio; después el tricoma experimenta la ruptura de la capa cuticular que lo envuelve, liberando las sustancias de secreción (Lámina 9B y 9C).

Tricomas unicelulares con ornamentaciones de tipo verrugoso se distribuyen en la epidermis del receptáculo, en la epidermis adaxial y abaxial de los sépalos, en los pétalos, en los filamentos de las anteras, en los estaminodios, en el estilo y en la copa floral. Estos miden desde $35.7\mu\text{m}$ hasta $656\mu\text{m}$ de largo (Lámina 10A, 10B y 10C).

En imágenes tomadas con microscopía de luz polarizada se observaron dos tipos de cristales de oxalato de calcio: cristales poligonales y drusas, distribuidos en las células parenquimáticas del ovario, en el tejido que rodea a los lóculos, en el estilo y en el tejido parenquimático de los sépalos y pétalos (Lámina 11A, 11B y 11C).

Taninos condensados de color marrón se encuentran depositados en los tejidos parenquimáticos de los sépalos, de los pétalos, en las células de la epidermis y parenquimáticas del receptáculo, en los estilos, en los estigmas, en el tegumento externo y en el funículo del óvulo; en la antera se encuentran distribuidos en la epidermis, en el endotecio, en las capas medias, en el tejido conectivo y en algunas células del tejido vascular (Lámina 12A, 12B y 12C).

Los materiales ergásticos encontrados en los tejidos florales de *P. bravoanus* se encuentran desde etapas muy tempranas del botón floral y permanecen durante todo el desarrollo.

La cantidad de cristales poligonales, drusas y taninos aumentan conforme las estructuras reproductoras maduran.



A

B

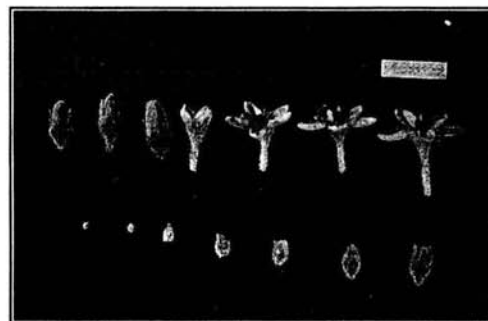


Lámina 1. A. Arbusto de *P. bravoanus*; B. Botones florales en distintas etapas de desarrollo y flores en antesis

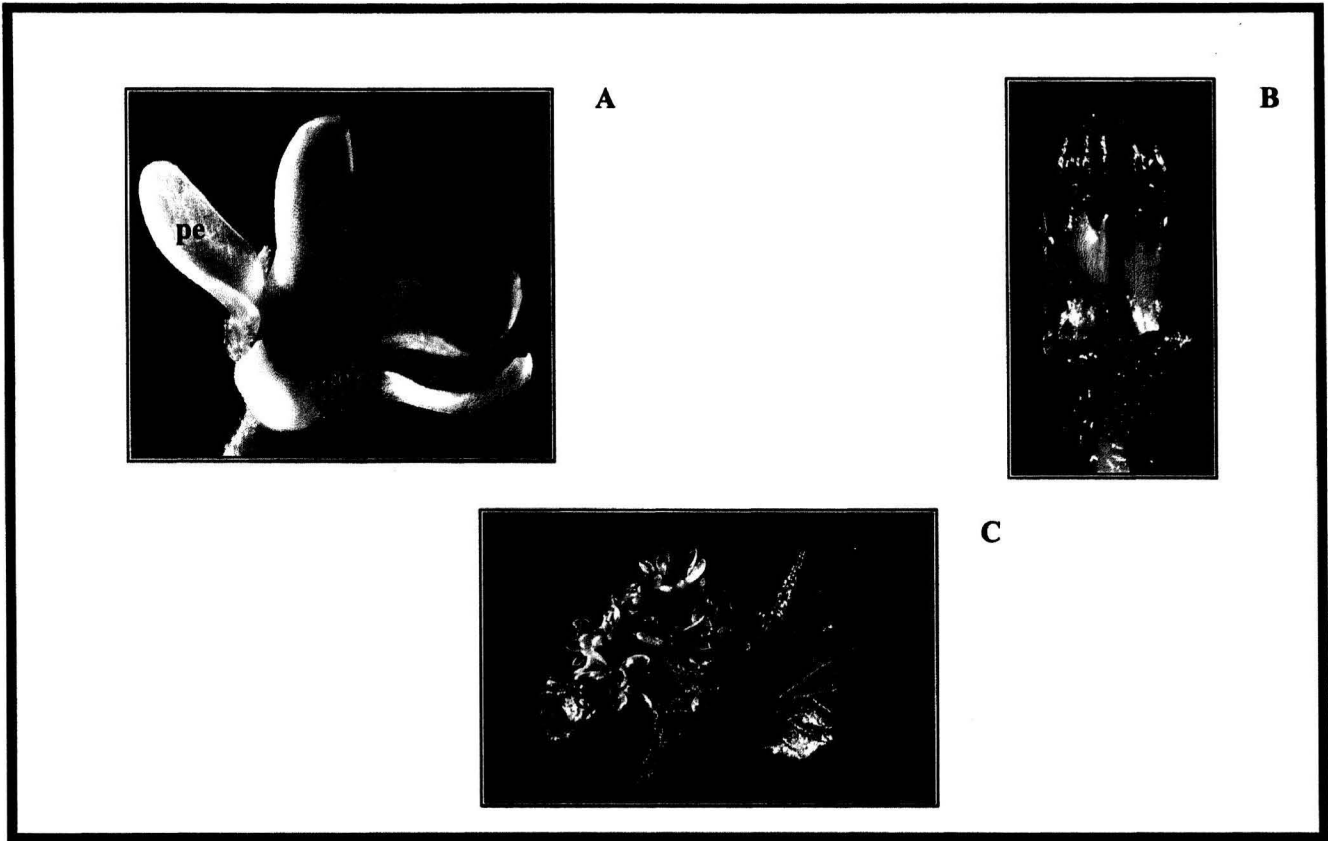
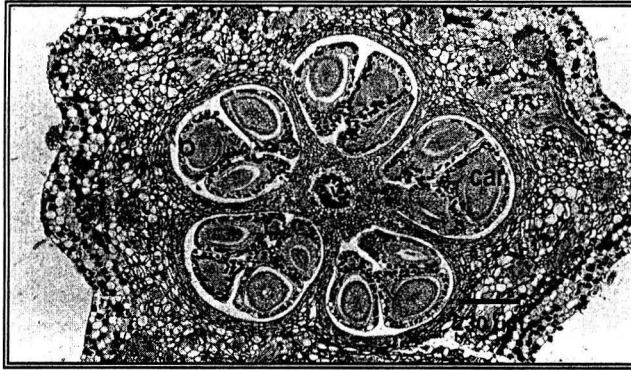


Lámina 2. **A y B.** Flores en antesis de *P. bravoanus*. Flores constituidas de sépalos (se), pétalos (pe), estambres (st), estaminodios (es), ovario ínfero (ov); **C.** Cima floral con numerosas flores blancas.



A

B

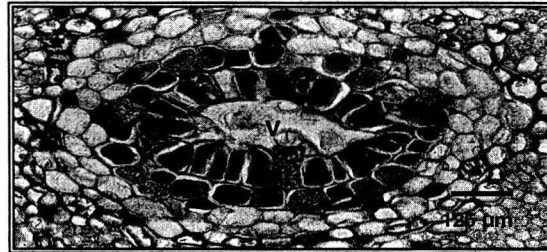


Lámina 3. A – B:MF. A. Corte transversal del ovario sincarpico, placentación axia, pentacarpelar (car), 4 (5) 6 óvulos por carpelo (o); canal estilar (v); B. Detalle del canal estilar.

Aumentos: A = 15.8 X; B = 79 X.

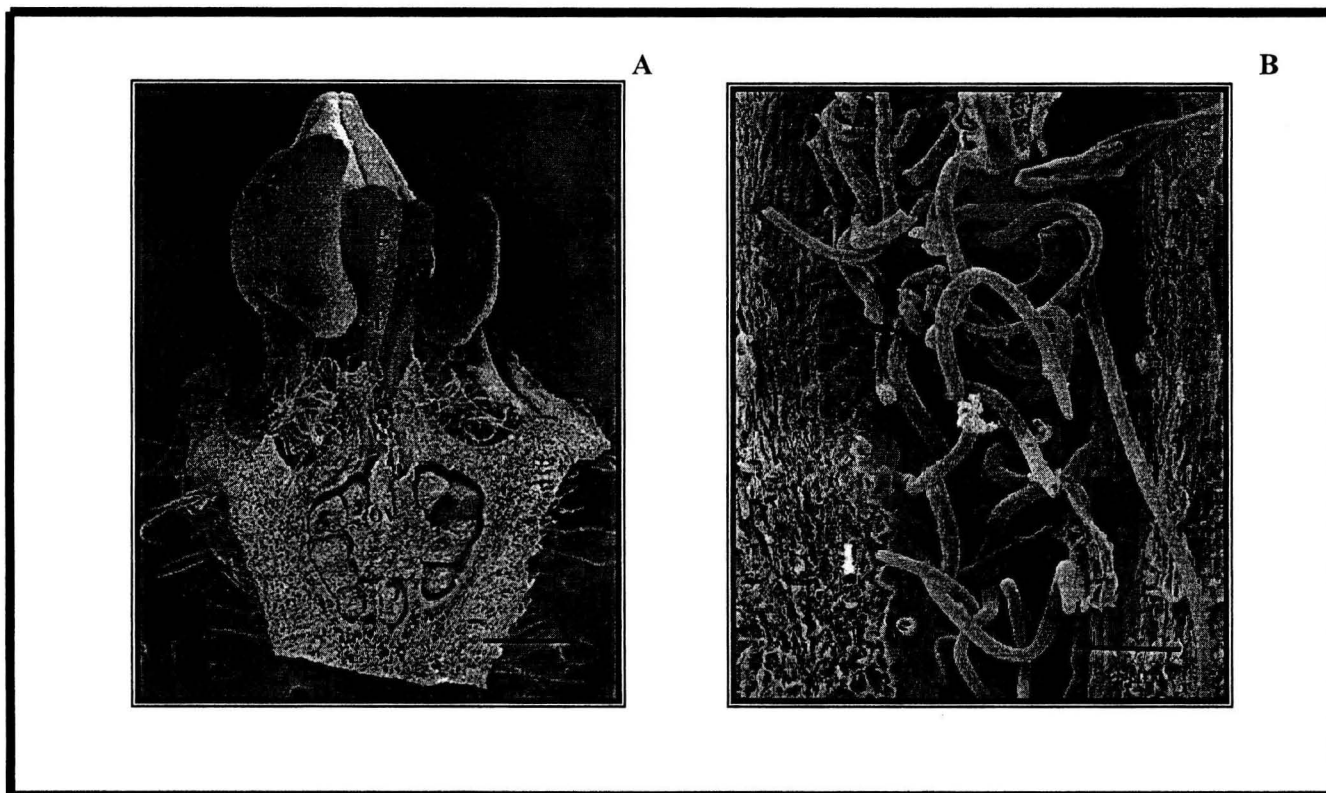


Lámina 4. **A – B:**MEB. **A.** Corte longitudinal de botón floral en preantesis. Flor constituida por estambres (st), estambres atroficos (r); ovario (ov), estilos (t), estigmas (g). Receptáculo cubierto de tricomas unicelulares (u); **B.** Detalle del canal estilar (v). Recubrimiento de tricomas unicelulares en el interior de este canal.

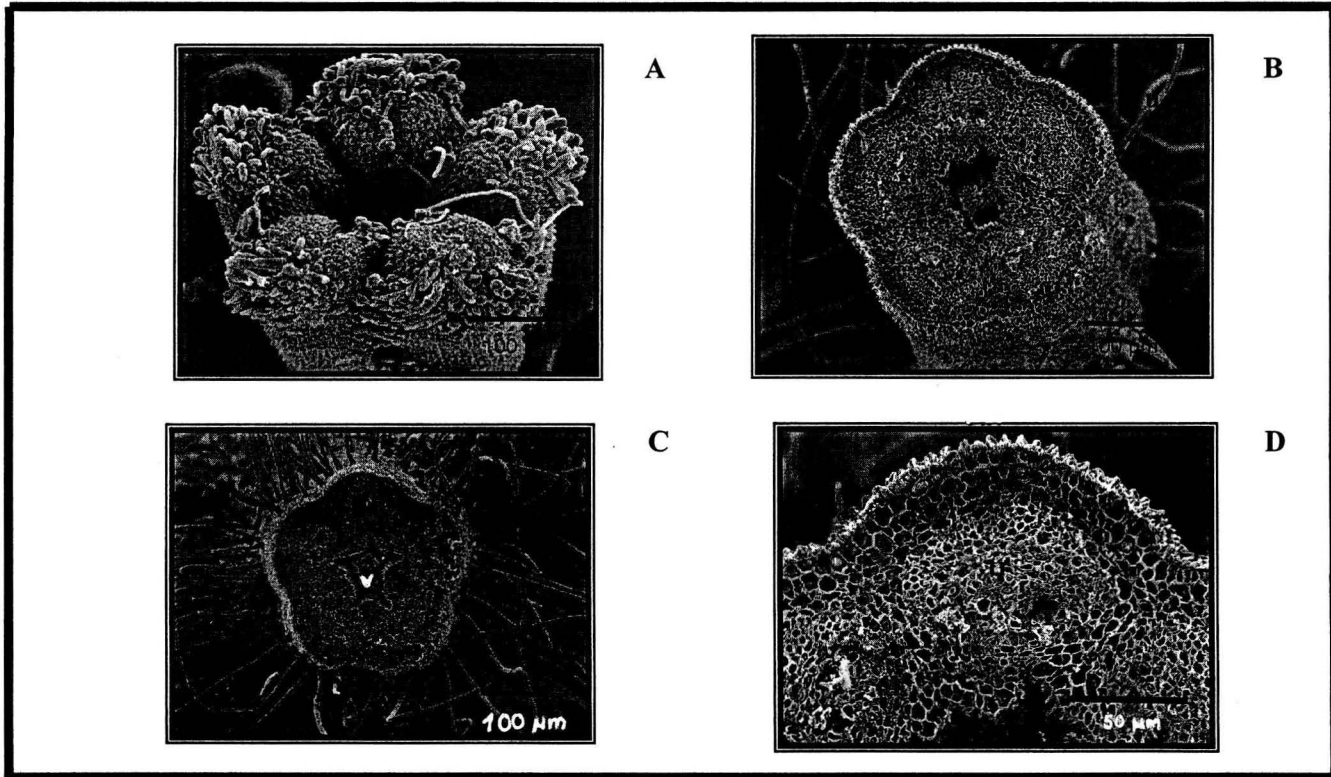


Lámina 5. **A – D:**MEB. **A.** ESTigmas con células estigmáticas; **B.** Corte transversal de la zona superior de los estilos (t). Los estilos presentan una canal estilar (v) en la parte central. En la epidermis abaxial de los estilos se proyectan tricomas unicelulares (u); **C.** Corte transversal de los estilos en la parte basal. Epidermis de los estilos con mayor recubrimiento de tricomas unicelulares; **D.** Detalle de un estilo sólido con tejido de transmisión (tr). Epidermis con cutícula gruesa e irregular (flechas).

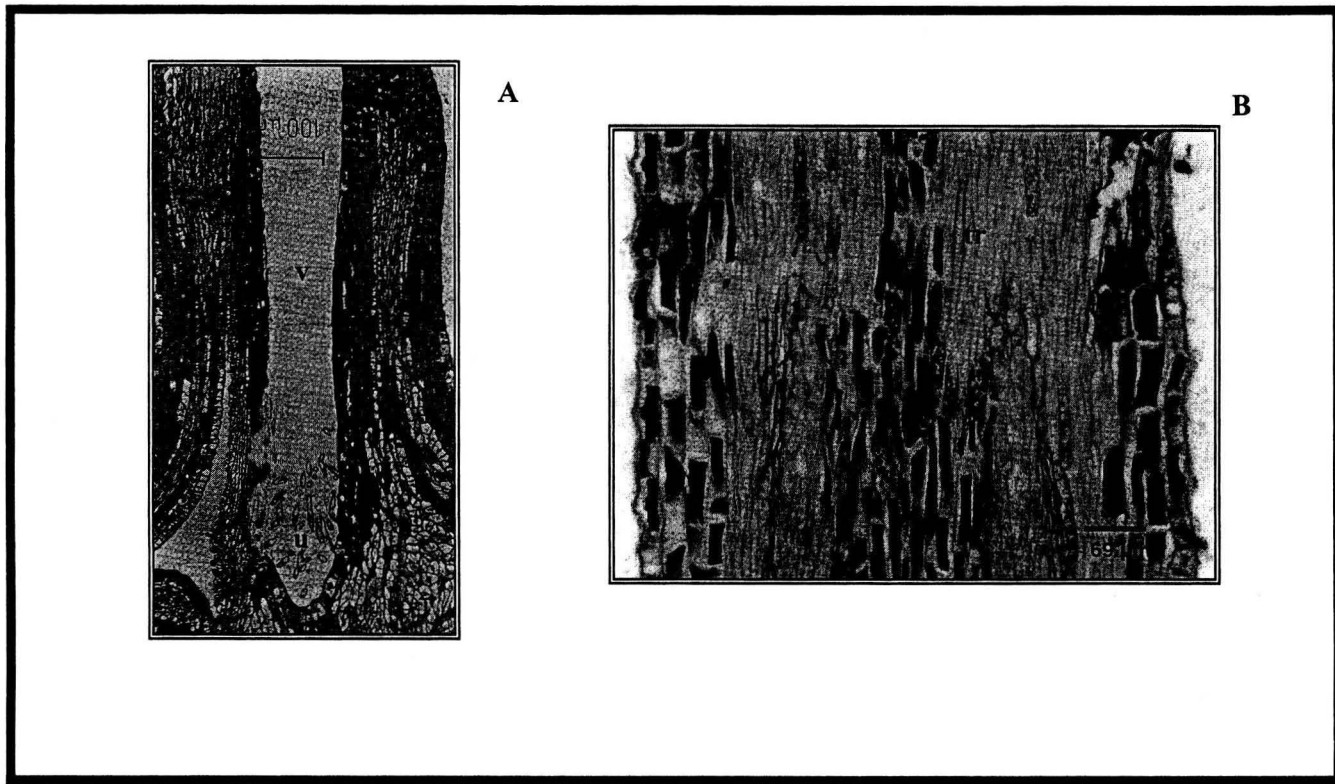
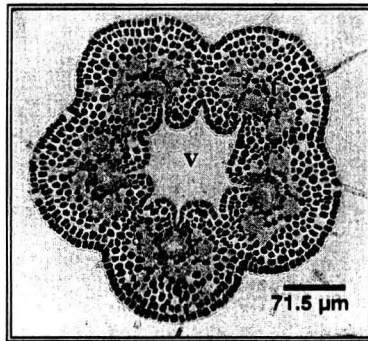
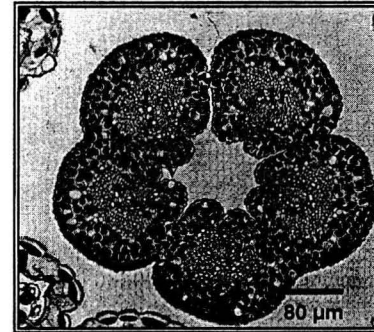


Lámina 6. **A – B:MF.** Corte longitudinal de estilos. **A.** Estilos con una canal en la parte central que corre a lo largo de éste hacia la zona estigmática (g). En la parte basal del estilo, la epidermis adaxial esta recubierta por tricomas unicelulares (u); **B.** Tejido de transmisión (tr) constituido de células rectangulares largas dispuestas verticalmente.

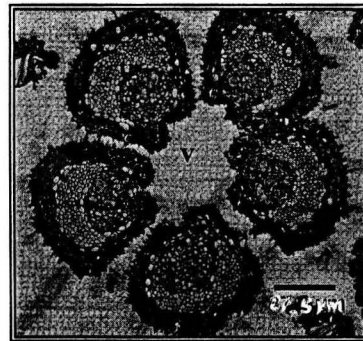
Aumentos: **A = 20 X; B = 40 X**



A



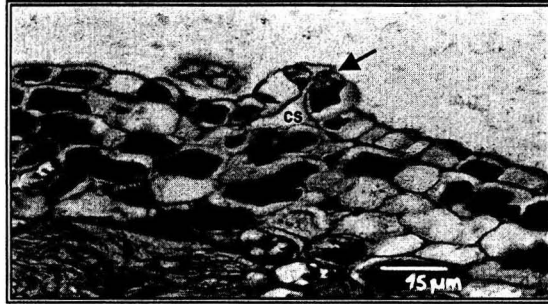
B



C

Lámina 7. A – C:MF. Cortes transversales de estilos y de estigmas de *P. bravoanus*. A. Estilos connados (t); B. Estilos con separación de tejido parenquimático. Epidermis de los estilos recubiertos de cutícula gruesa e irregular; C. Corte transversal de estigmas. Estigmas libres con tejido de transmisión (tr).

Aumentos: A = 38.7 X; B = 40 X; C = 39.7 X.



A

B

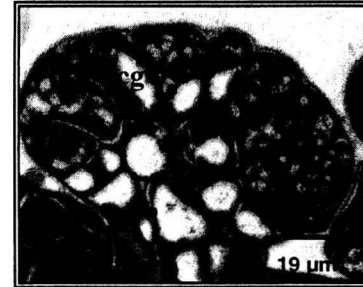


Lámina 8. **A:MF; B:MEB.** **A.** Corte longitudinal de estoma elevado. La flecha indica una célula oclusiva, cámara subestomática (cs); **B.** Estoma de tipo anomocítico. La flecha indica el ostiolo, células oclusivas (co).

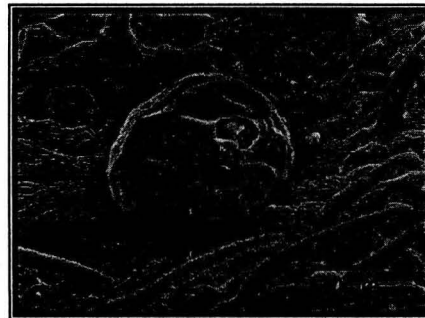
Aumentos: **A = 100 X.**



A



B



C

Lámina 9. **A – B:MF; C:MEB.** **A.** Tricoma glandular constituido por tallo multiseriado (b) y cabeza de células glandulares (cg); **B.** Tricoma glandular, las células de la cabeza con núcleos conspicuos, citoplasma denso y enormes vacuolas; **C.** Tricoma glandular con capa cuticular.

Aumentos: **A , B = 200 X**

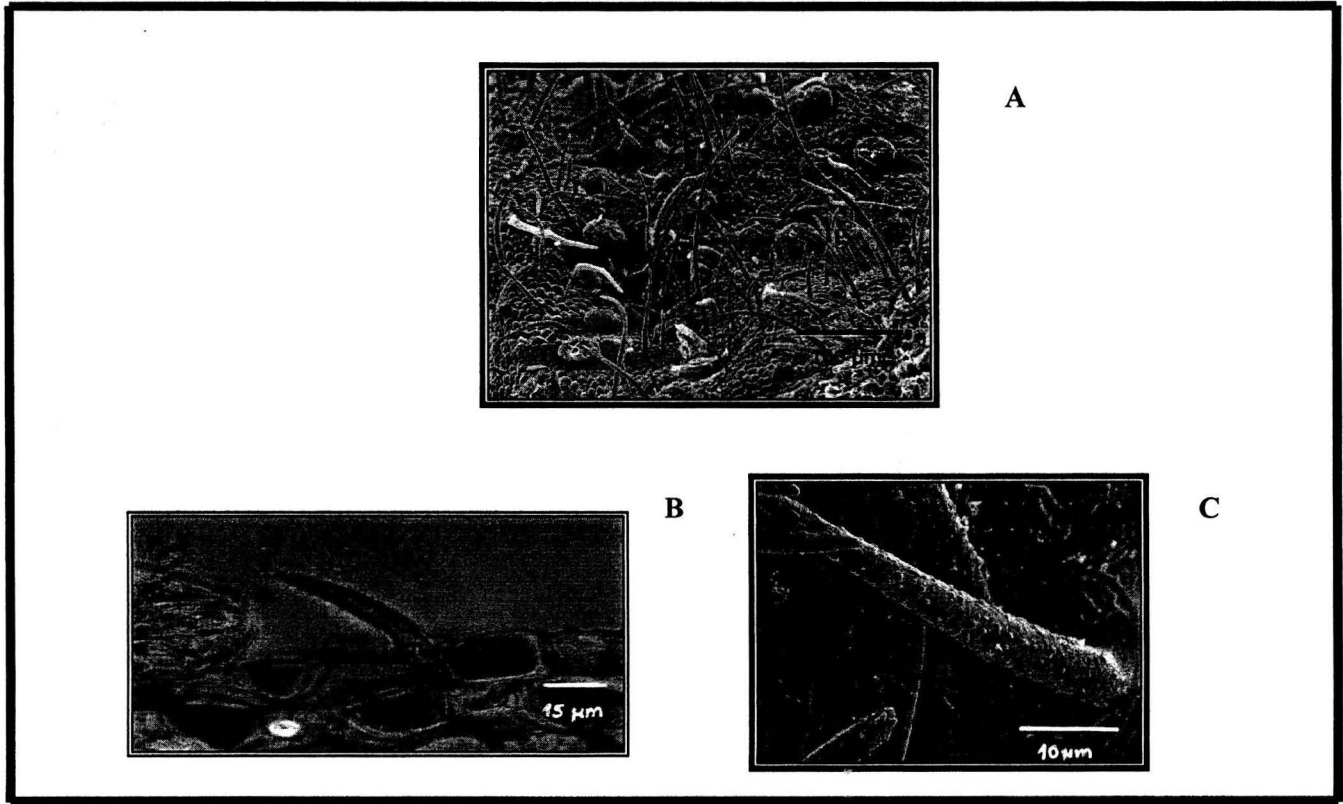


Lámina 10. A – C:MEB; B:MF. A. Trichomas unicelulares (u) y glandulares (tg) distribuidos en el receptáculo (rc); B y C. Trichomas unicelulares con ornamentaciones de tipo verrogoso.

Aumentos: B = 200 X.

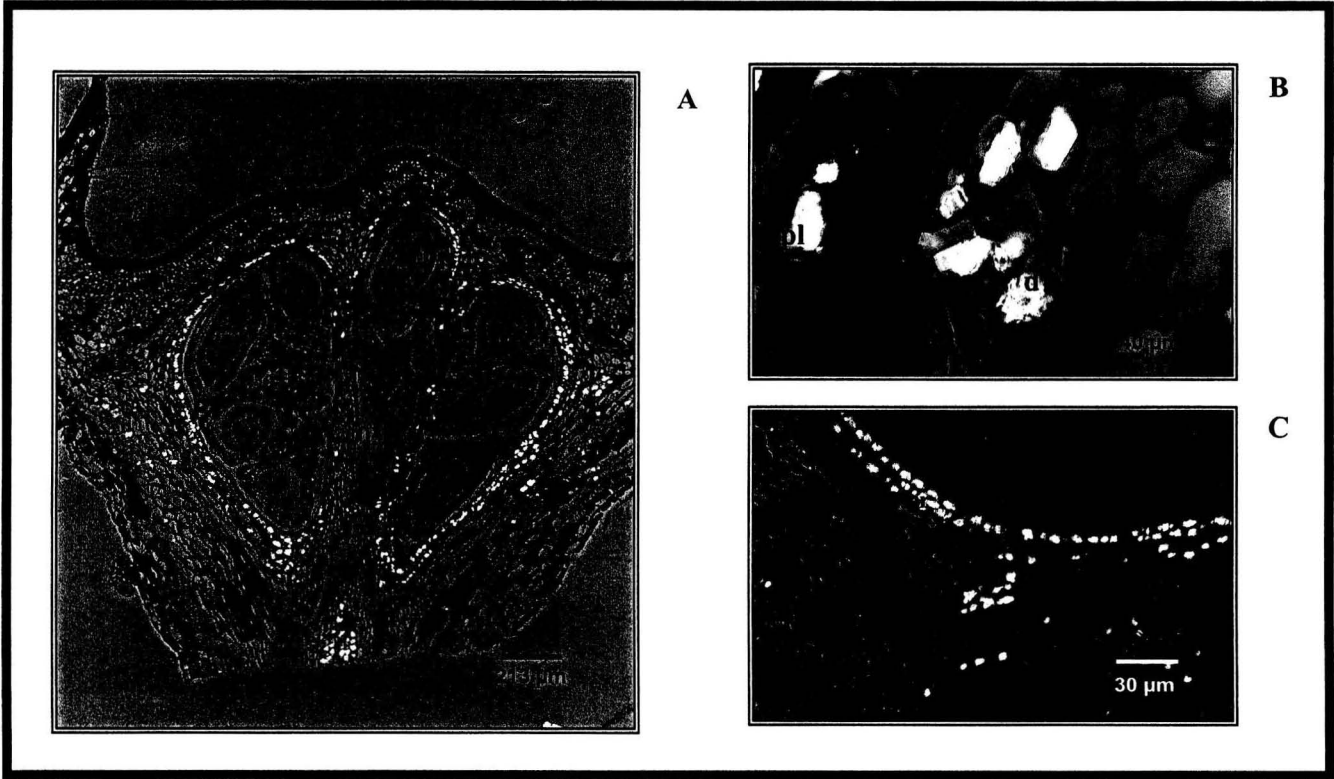


Lámina 11. **A – C:MF.** **A.** Corte longitudinal de flor en antesis. Cristales de oxalato de calcio (cr) distribuidos en el tejido parenquimático del ovario; **B.** Cristales de oxalato de calcio: drusas (d) y cristales poligonales (pl); **C.** Cristales de oxalato de calcio distribuidos en el tejido que rodea los lóculos.

Aumentos **A** = 13.8 X; **B** = 100 X; **C** = 70 X.

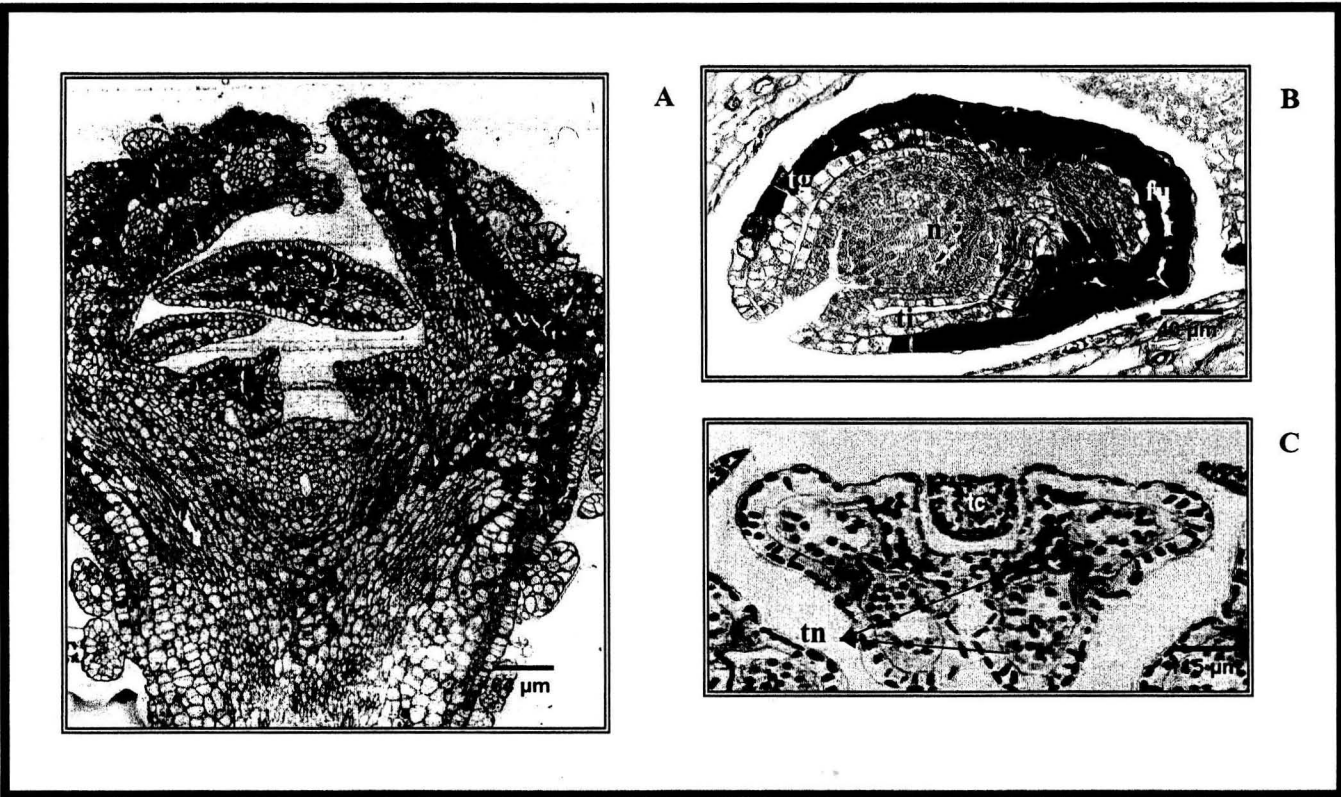


Lámina 12. **A – C:MF.** **A.** Corte longitudinal de botón floral. Distribución de taninos (tn) en el tejido parenquimático del ovario (ov), en sépalos (se), en pétalos (pe) y en anteras (a); **B.** Corte longitudinal de óvulo bitégmico. Tegumento interno (ti) y externo (tg) ambos triestratificados. Disposición de taninos en la epidermis del tegumento externo y funículo (fu); **C.** Corte transversal de antera tetrasporangiada constituida de epidermis y endotecio ambos tejidos contienen taninos al igual que el tejido conectivo (tc).

Aumentos: **A = 33.5 X; B = 109 X; C = 30 X.**

MICROSPOROGÉNESIS Y MICROGAMETOGÉNESIS

El desarrollo de los cinco estambres fértiles es sincrónico lo mismo que los estaminodios; sin embargo se ha observado que algunos estambres en diferentes etapas de desarrollo de la pared de antera se atrofian, esto es evidente a nivel morfológico en donde se observan estambres pequeños con filamentos muy cortos y anteras colapsadas, mientras que a nivel histológico se observa la degradación del tejido arquesporial y en algunos casos inclusive la pared de la antera degenera (Lámina 13A, 13B y 13C).

La antera fértil de un estambre joven está constituida por una masa de células parenquimatosas rodeada de una protodermis (Lámina 14A). En una etapa posterior, una capa subepidérmica constituida de células arquesporiales (células con núcleos conspicuos) tiene divisiones periclinales dando lugar a dos capas la capa parietal primaria y el tejido esporógeno. La capa parietal primaria se divide de manera periclinal formando una capa parietal secundaria externa y una capa parietal secundaria interna. En este momento las células del tejido esporógeno son más evidentes.

La capa parietal secundaria externa por divisiones periclinales forma dos capas que se desarrollarán en endotecio y una capa media. La capa parietal secundaria interna de igual manera se divide (estas divisiones pueden ocurrir de manera sincrónica o asincrónica) y forma una capa media y el tapete. Por lo tanto el desarrollo de la pared de la antera es de tipo Básico (Lámina 14B).

En esta etapa se observa la antera bilobulada con un haz vascular ya diferenciado, y las células de la epidermis comienzan a llenarse de taninos.

En una etapa de desarrollo más avanzado la antera es tetrasporangiada, bilobulada y su pared está constituida por 5 capas: epidermis, endotecio, dos capas medias y tapete. La mayoría de las células epidérmicas contienen taninos excepto en la zona donde la antera dehisce (estomio), las células del endotecio aumentan de tamaño, presentan núcleos enormes y algunas contienen taninos; también presentan inclusiones de taninos algunas células de las capas medias; las células del tapete aumentan de tamaño y

presentan enormes vacuolas. Las células madres de las microsporas (cmm) se vuelven más evidentes con núcleos conspicuos y citoplasma denso (Lámina 15A y 15B).

En una etapa posterior, en las células del tapete antes uninucleadas hay una cariocinesis dando como resultado células tapetales binucleadas, en esta etapa el citoplasma es mucho más denso. Una capa media aún persiste, las células del endotecio presentan poco citoplasma y las células de la epidermis contienen taninos (Lámina 15C y 15D).

Como resultado de la meiosis, se forman tétradas de microsporas tetraédricas, éstas se encuentran aisladas del tapete por medio de una densa pared de calosa. Las células del tapete presentan enormes vacuolas, la única capa media que aún persiste comienza a ser reabsorbida (Lámina 16A, 16B y 16C).

Una vez liberadas las microsporas haploides de la pared de calosa, se puede observar que están constituidas por un núcleo central y su pared (Lámina 17A, 17D y 18D). Las células del tapete sintetizan la esporopolenina que es transportada hacia los granos de polen mediante unas vesículas llamadas cuerpos de Ubisch (Lámina 17C y 17D). La cantidad de taninos aumenta en las células del endotecio (Lámina 17B).

Poco tiempo después las células del tapete comienzan a separarse unas de otras al mismo tiempo que surge la ruptura de sus paredes liberándose el citoplasma cuyo contenido será vaciado dentro del lóculo (Lámina 17C y 18C).

En una antera madura tetrasporangiada, sólo persiste la epidermis y endotecio. El septo que divide a los microsporangios en cada lóbulo de la antera comienza a degradarse. El estomio se adelgaza (Lámina 18A y 18B).

El endotecio comienza a madurar de manera que sus paredes tangenciales y radiales desarrollarán engrosamientos en forma de bandas (Lámina 19A). Sin embargo estos engrosamientos no se presentan en la región donde se está formando el estomio (Lámina 19C). Las inclusiones de taninos en las células del endotecio como en la epidermis disminuyen drásticamente pero la cantidad de taninos aumenta alrededor del tejido conectivo de la antera (Lámina 19B y 19D). En el interior de los lóbulos la membrana tecal se observa en la periferia (Lámina 20A y 20B).

Los granos de polen antes de ser liberados de la antera experimentan una división mitótica dando como resultado una célula vegetativa de mayor tamaño y una célula generatriz de menor tamaño (grano de polen bicelular) (Lámina 20A y 20B).

El grano de polen maduro es tricolporado y presentando poros menores de una micra (Lámina 21A, 21B y 21C).

Se han observado granos de polen germinando en el estigma de la flor (Lámina 22A y 22B).

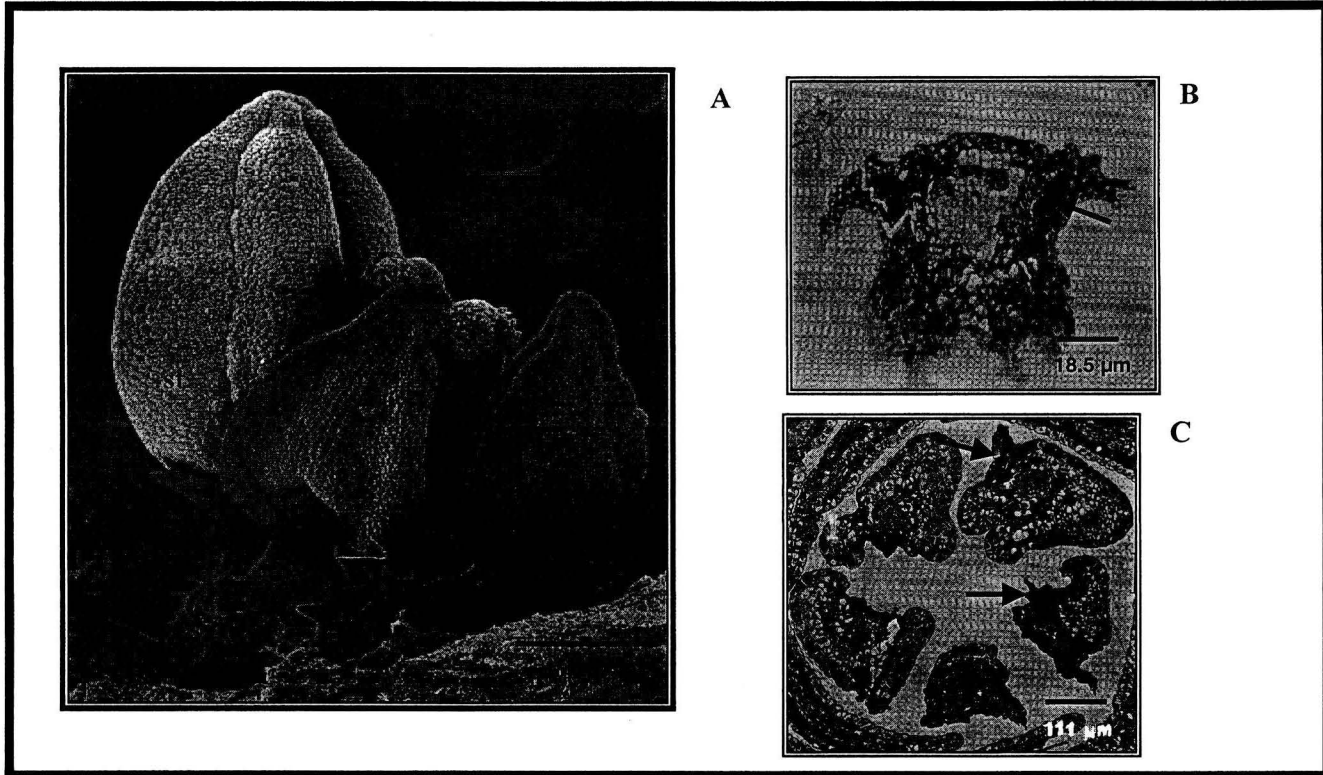
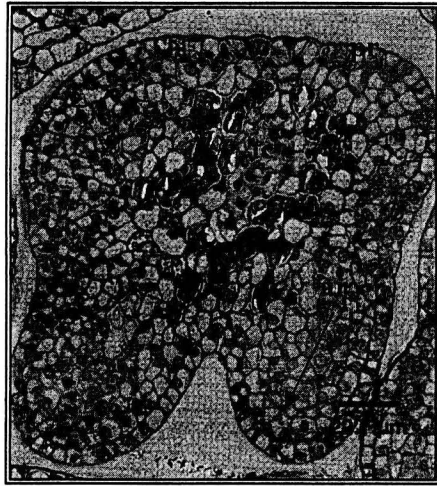
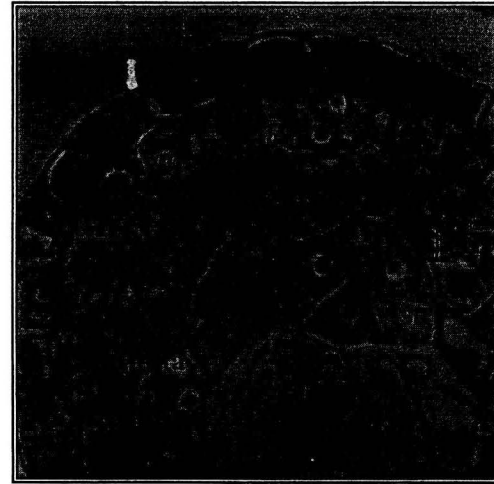


Lámina 13. **A**:MEB; **B – C**:MF. **A**. Estambres fértiles (st), estambres atróficos (r) con filamentos cortos (f) y anteras aplastadas (a) y estaminodios (es) entre cada estambre; **B y C**. Corte transversal de anteras. Las flechas indican el tejido en degeneración.

Aumentos: **B** = 65.5 X; **C** = 77 X.



A



B

Lámina 14. **A – B:MF.** Corte transversal de antera. **A.** Antera joven constituida de una protodermis (pr), tejido arquesporial (ar) y tejido conectivo (tc); **B.** Detalle de un lóbulo de la antera. Divisiones periclinales en la célula parietal secundaria externa (cp) forman al endotecio (e) y una capa media (cm), además divisiones periclinales en la capa parietal secundaria interna formando una capa media y el tapete (t). Células esporógenas (sr).

Aumentos: **A** = 100 X; **B** = 200 X.

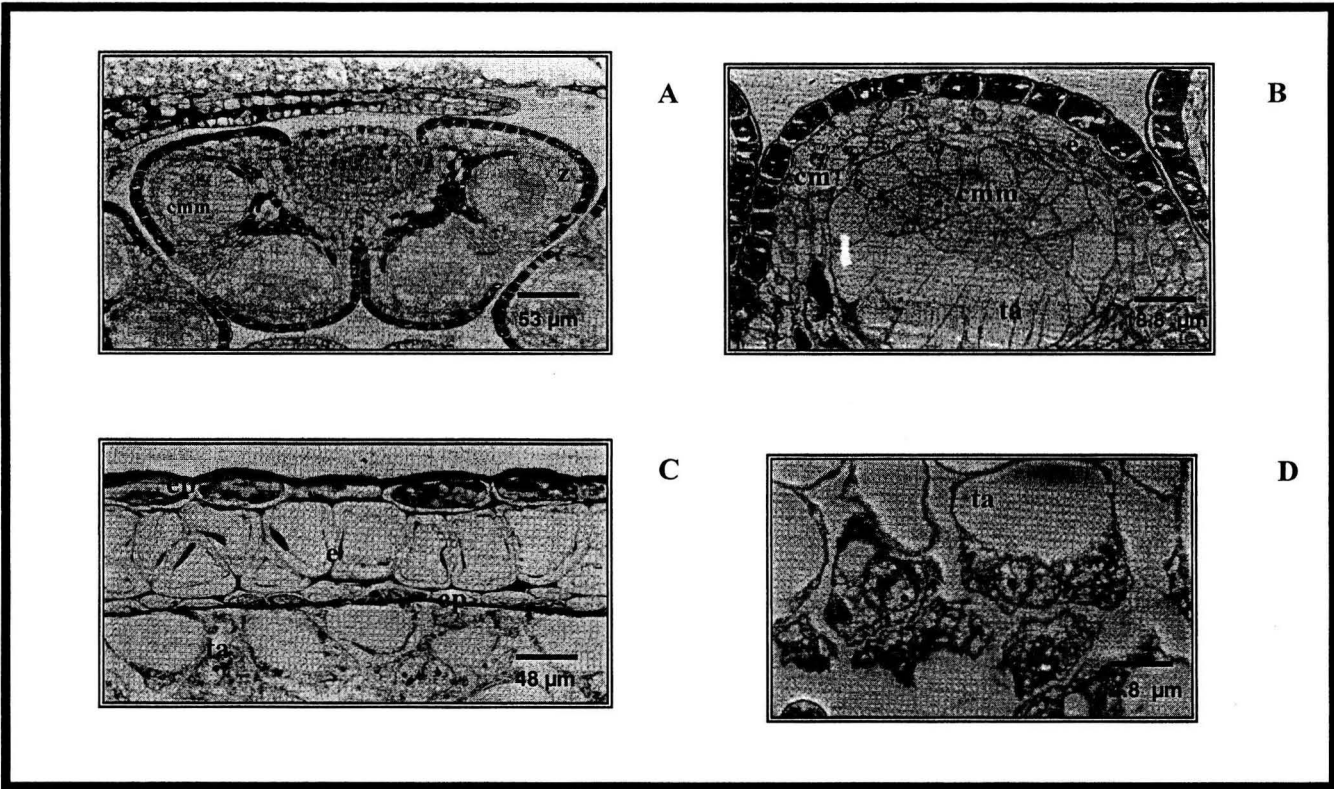
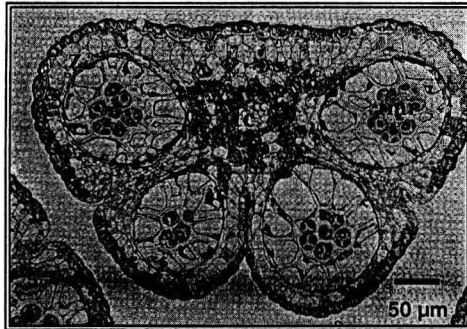
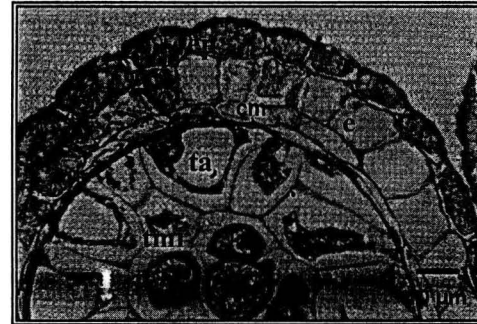


Lámina 15. **A – D:**MF. **A.** Antera tetrasporangiada, bilobulada. Cada lóbulo constituido de células madres de las microsporas (cmm) y pared de antera (z); **B.** Detalle de un lóbulo de la antera, pared constituida de epidermis (ep). Células epidermicas conteniendo taninos; endotecio (e), dos capas medias (cm), células del tapete (ta) con enormes vacuolas y células madres de las microsporas (cmm); **C.** Pared de la antera constituida por epidermis, endotecio, una capa media y tapete binuclear; **D.** Tapete binuclear, con citoplasma denso y enormes vacuolas.

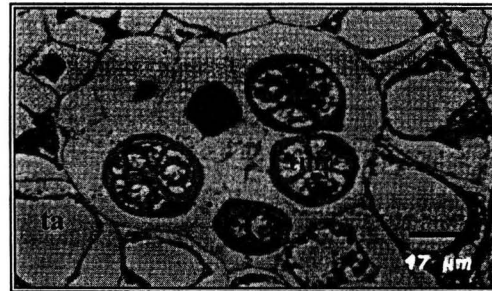
Aumentos: **A = 50 X; B = 200 X; C = 100 X; D = 250 X.**



A



B



C

Lámina 16. **A – C:MF.** **A.** Corte transversal de antera tetrasporangiada, bilobulada con tétradas de microsporas (tmi); **B.** Pared de la antera formada por epidermis (ep), endotecio (e), capa media degenerando (cm) y células del tapete (ta). Tétradas de microsporas tetraédricas ; **C.** Tétradas de microsporas tetraédricas cubiertas por una densa capa de calosa.

Aumentos: **A = 75 X; B = 200 X; C = 250 X.**

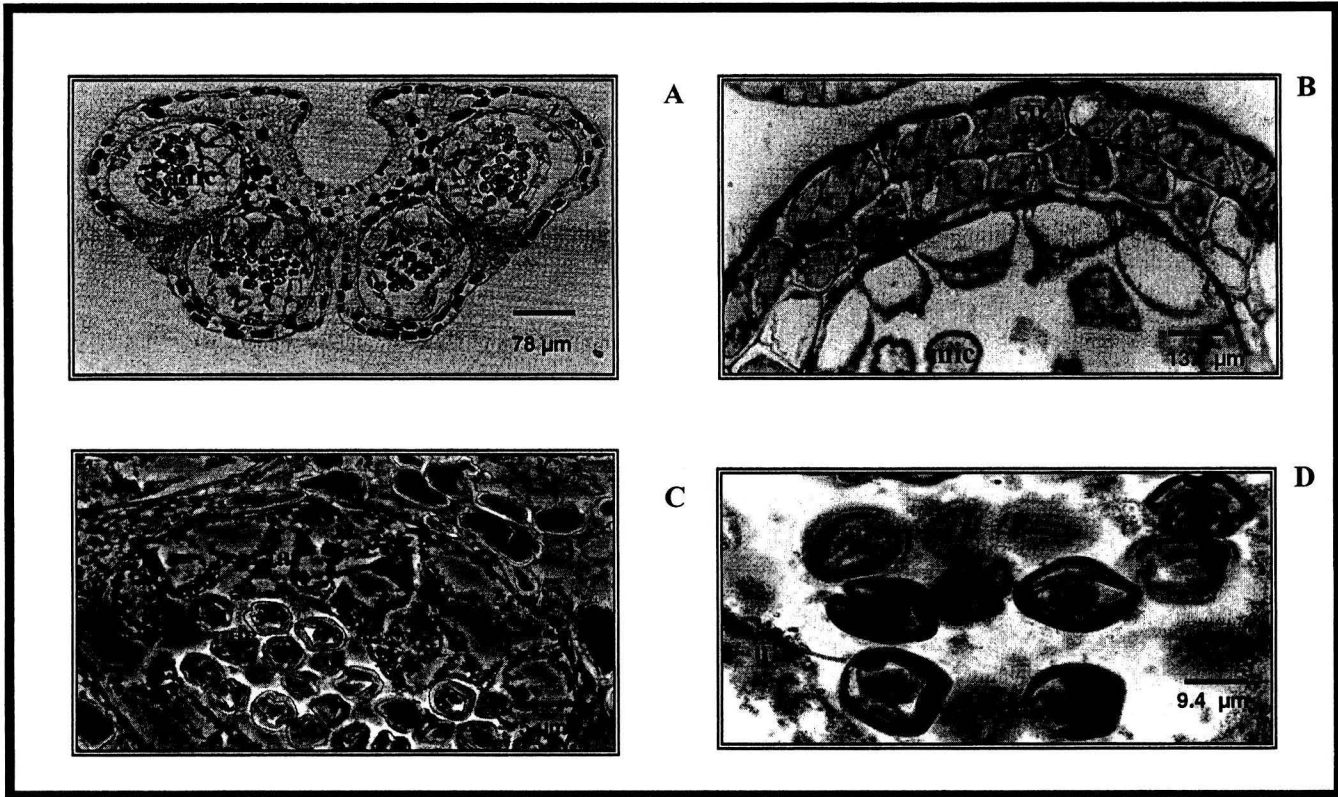


Lámina 17. **A – D:MF.** **A.** Antera tetrasporangiada, bilobulada. Constituida de microsporas (mic) y pared (z); **B.** Pared de la antera formada por epidermis (ep), endotecio (e) y tapete (ta); **C.** Tapete degenerando con cuerpos de Ubisch (u) y microsporas; **D.** Microsporas con un núcleo.

Aumentos : **A** = 43.5 X; **B** = 250 X; **C** = 176 X; **D** = 370 X.

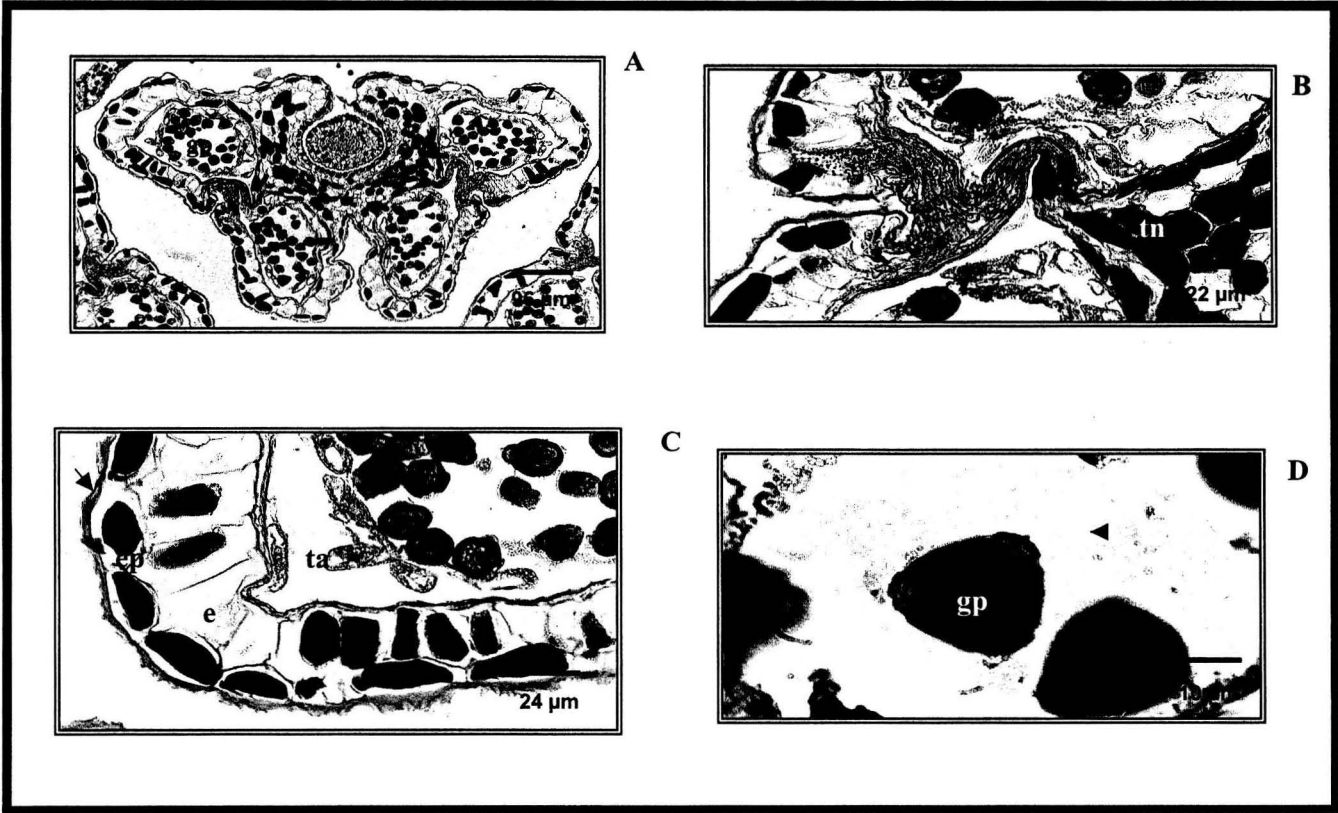


Lámina 18. **A.** Antera madura tetrasporangiada, bilobulada. Constituida por granos de polen (gp) y pared (z) ; **B.** El estomio se adelgaza (et); **C.** Pared de la antera constituida de epidermis (ep) con cutícula gruesa e irregular (flecha), endotecio (e), células del tapete de tipo secretor (ta) y granos de polen (gp); **D.** Granos de polen tricolporados.

Aumentos: **A** = 35 X; **B** = 148 X; **C** = 140 X; **D** = 387 X.

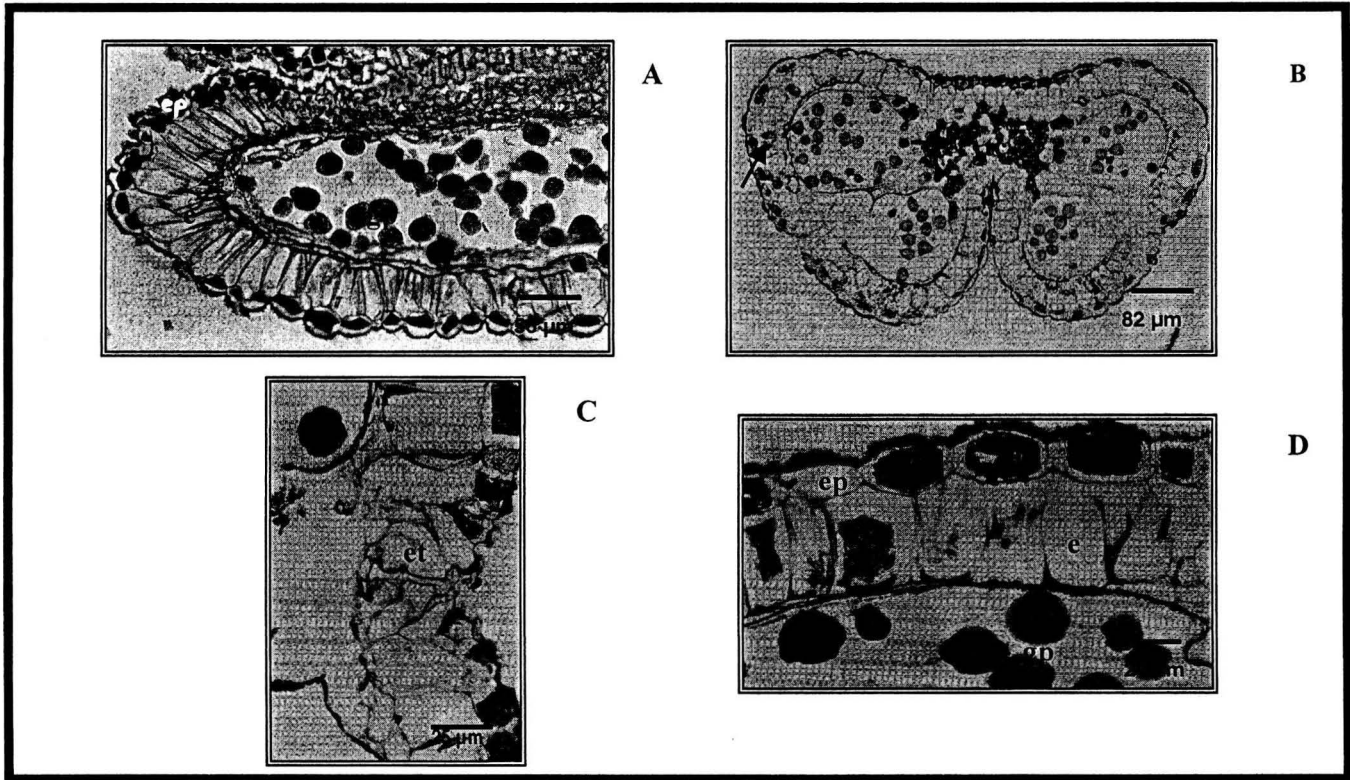
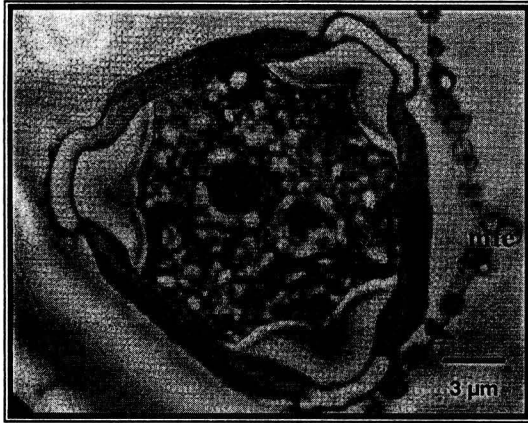
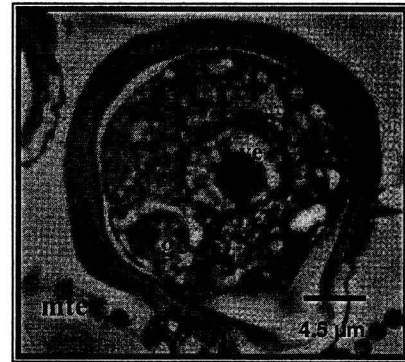


Lámina 19. A – D:MF. A. Corte longitudinal de un lóbulo de la antera. Pared constituida por epidermis (ep) y endotecio fibroso (e); B. Antera madura biesporangiada. Las flechas indican los taninos contenidos en epidermis (ep), endotecio (e) y tejido conectivo (tc); C. Formación de la línea del estomio (et); D. Pared de la antera conformada por epidermis y endotecio, ambos estratos contienen taninos. Granos de polen (gp).

Aumentos: A = 80 X; B = 37 X; C y D = 200 X.



A



B

Lámina 20. A – B:MF. A. Grano de polen bicelular, tricolporado; B. Grano de polen constituido de una célula vegetativa (ve) y una célula generatriz (ge). La membrana tecal (mte) se encuentra dispuesta alrededor de los granos de polen.

Aumentos: A y B = 500 X.

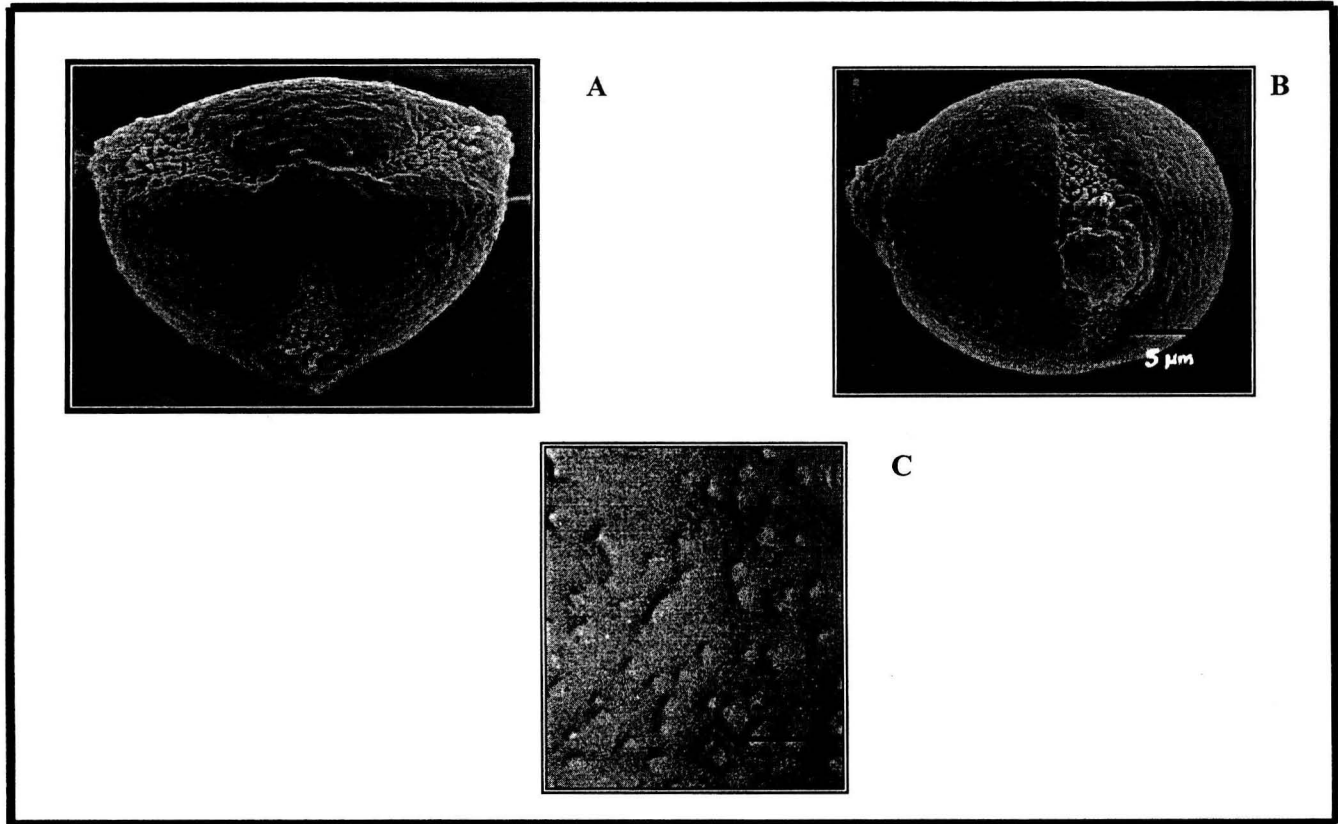
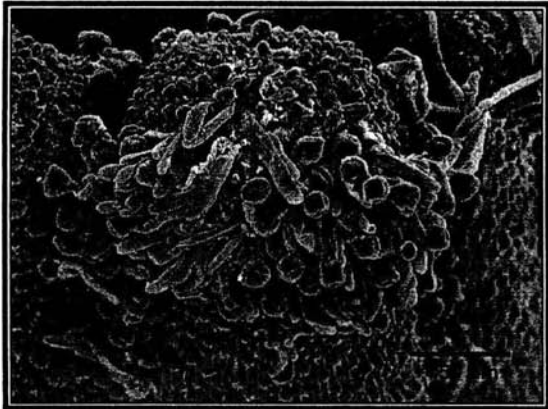
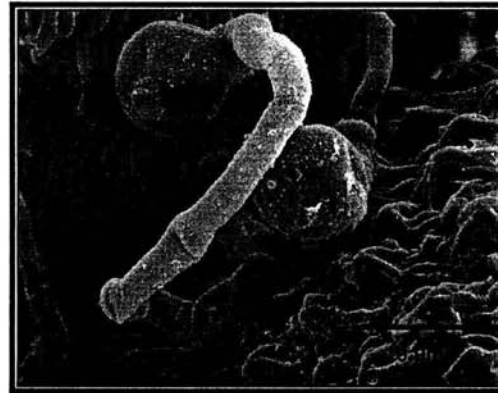


Lámina 21. A – C:MEB. A. Grano de polen tricolporado en vista polar; B. Grano de polen en vista ecuatorial; C. Detalle de la ornamentación de la exina. Poros menores a una micra.



A



B

Lámina 22. **A** – **B**:MEB. Granos de polen germinando en el estigma (g); **B**. Detalle de grano de polen germinando.

MEGASPOROGÉNESIS Y MEGAGAMETOGÉNESIS

El desarrollo del gineceo comienza con la fusión de los carpelos y su prolongación para la formación del estilo y el estigma.

En cada carpelo se forma una placenta axial ramificada de la cual surgen 4 (5) 6 nucelas ó megasporangios. El tejido nucelar está constituido por una masa de células parenquimáticas cubiertas por una protodermis, la masa nucelar continúa proliferando con la expansión de la protodermis por divisiones principalmente anticlinales. Las nucelas se arreglan en hilera en el lóculo de cada carpelo (Lámina 23A y 23B). Hay una hilera de nucelas por cada carpelo.

A partir de esta etapa de desarrollo se observa la depositación de cristales de oxalato de calcio: cristales poligonales y drusas en el tejido parenquimático que rodea a los lóculos (Lámina 23A y 23B).

La diferenciación del megasporocito en el tejido del megasporangio comienza con el crecimiento de una célula subepidérmica. Esta aumenta de tamaño y tiene una división mitótica periclinal formando una célula madre de la megaspora (CMMe) diploide y una célula parietal primaria supepidérmica (Lámina 23C). Se observan divisiones de la protodermis nucelar, así como el inicio de la formación del tegumento interno que es de origen epidérmico

En la célula parietal primaria hay divisiones anticlinales y periclinales empujando a la célula madre de la megaspora (CMMe) hacia el interior de la nucela, por lo tanto el tipo de óvulo es crasinucelado. En esta etapa del desarrollo los tegumentos interno y externo se encuentran bien diferenciados y están constituidos por tres estratos celulares cada uno. La epidermis del tegumento externo contiene taninos (Lámina 24A y 24B).

En esta etapa de desarrollo se puede observar el comienzo de la curvatura del óvulo la cual continúa hasta formar un óvulo anátropo. El micrópilo lo forman ambos tegumentos. Por lo tanto, el óvulo de *Pterostemon bravoanus* es crasinucelado, bitégmico, ambos tegumentos triestratificados (Lámina 24A).

En la célula madre de la megaspora (CMMe) ocurre la primera división meiótica formando una díada y posteriormente una tétrada de megasporas. La megaspora funcional posiblemente se encuentra en la zona calazal mientras que las otras tres han degenerado. La megaspora funcional se divide por mitosis tres veces de manera consecutiva formando primero dos núcleos del megagametofito, estos se encuentran en los extremos opuestos del saco embrionario, continúan las divisiones mitóticas (cariocinesis sin citocinesis) hasta formar un saco embrionario maduro con 8-núcleos y 7 células (Lámina 25A, 25B y 25C).

El saco embrionario maduro, posiblemente de tipo Polygonum, constituido por dos sinérgidas (con grandes vacuolas hacia el lado calazal y núcleos conspicuos y citoplasma hacia la parte micrópilar con aparato filiforme) de forma de gancho localizadas en la zona micrópilar, la ovocélula de mayor tamaño que las sinérgidas se localiza por arriba de éstas. El núcleo y citoplasma de la ovocélula se encuentra hacia el lado calazal mientras que la vacuola se encuentra hacia el lado micrópilar; las sinérgidas y ovocélula forman el aparato de huevo (Lámina 26B). La célula central ocupa casi por completo el espacio del saco embrionario, está constituida de una enorme vacuola y dos núcleos polares conspicuos localizados en la parte central del saco embrionario. El saco embrionario también está constituido por tres antípodas esféricas en la zona calazal, sus núcleos están dirigidos hacia la parte micrópilar y la vacuola se localiza hacia la parte calazal (Lámina 25C y 26C). En este estado de desarrollo el micrópilo en zigzag está integrado por ambos tegumentos triestratificados. Los taninos se encuentran contenidos en el mesotesta y en epidermis externa del tegumento externo (Lámina 26A).

En el funículo de un óvulo maduro se puede observar que penetra el tejido vascular que llega hasta la calaza exclusivamente y no se ramifica (Lámina 26A).

El óvulo maduro de *P. bravoanus* es anátropo, bitégmico y crasinucelar, el micrópilo en zigzag, cada tegumento es triestratificado y el saco embrionario posiblemente es tipo Polygonum (Lámina 26A).

Los taninos se encuentran depositados en etapas tempranas del óvulo en la epidermis del tegumento externo. Conforme avanza el desarrollo los taninos se encuentran y ocupan también el mesotesta del tegumento externo y en el tejido funicular (Lámina 12B y 26A).

Es muy común observar la degradación de uno o varios óvulos e incluso de todo el tejido placentario en distintas etapas de desarrollo del óvulo y saco embrionario. Este tejido se observa colapsado, encogido y se tiñe de un color más oscuro. Se desconocen las causas que promueven esta degeneración celular (Lámina 27A).

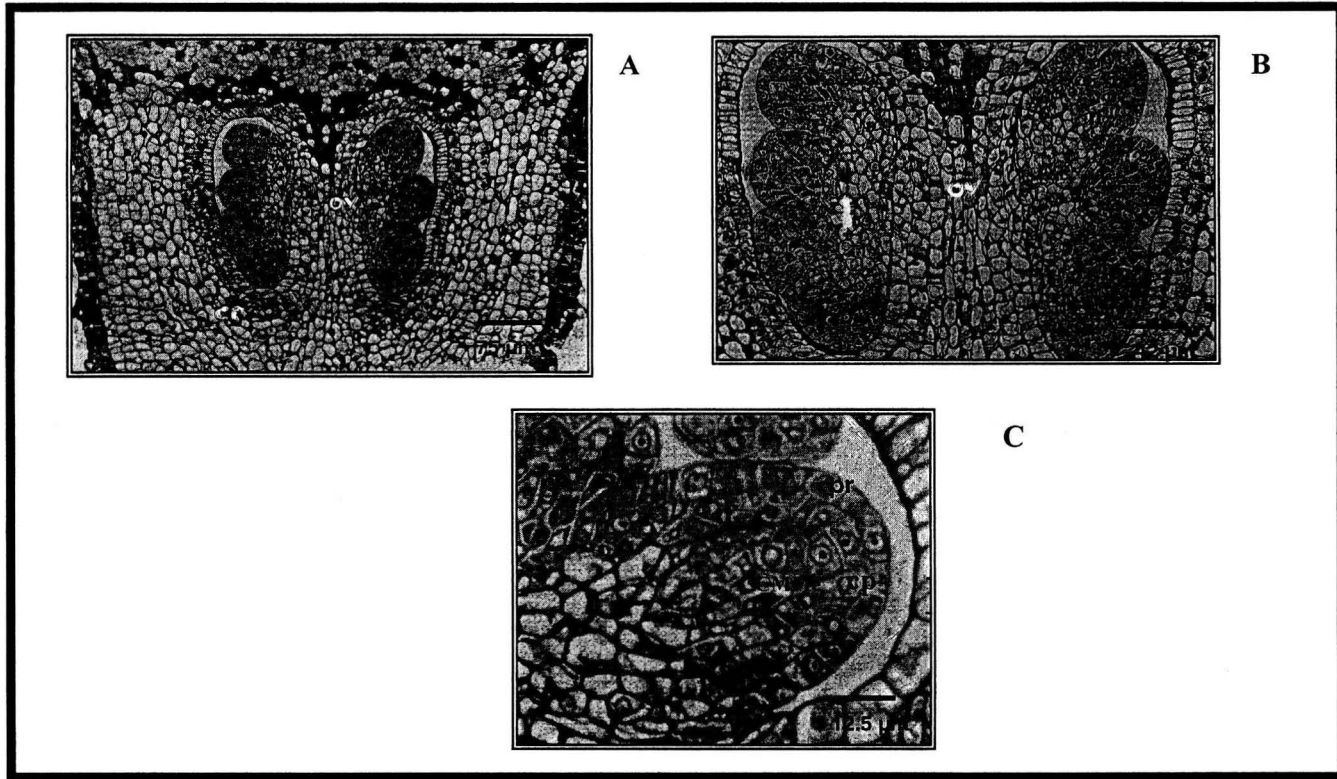


Lámina 23. **A – C:MF. A y B.** Corte longitudinal de ovario (ov), de los carpelos surgen placentas con 4 (5) 6 nucelas (n) dispuestas en hilera. Cristales de oxalato de calcio (cr) se distribuyen en el tejido parenquimático del ovario que rodea a los lóculos; **C.** Una célula subepidérmica arqueosporial se divide mitóticamente formando una célula madre de las megasporas (CMMe) y una célula parietal primaria (cp).

Aumentos: **A = 50 X; B = 100 X; C = 200 X.**

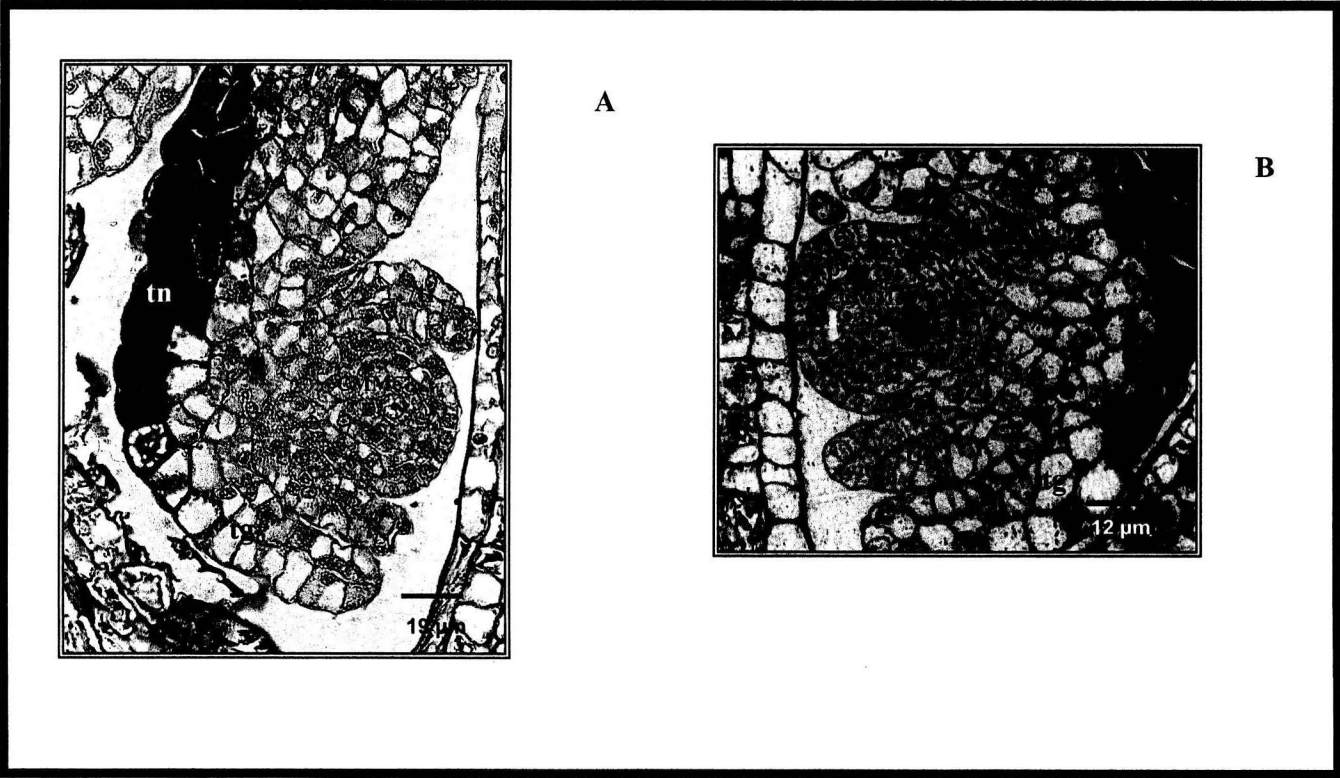


Lámina 24. **A y B.** Corte longitudinal de óvulos. **A.** Óvulo bitégmico, crasinucelado. Tegumentos interno y externo constituidos por tres estratos celulares. Epidermis del tegumento externo conteniendo taninos; **B.** Óvulo constituido por una protodermis, dos capas parietales (cp) y célula madre de la megaspora (CMMc).

Aumentos: **A = 158 X; B = 250 X.**

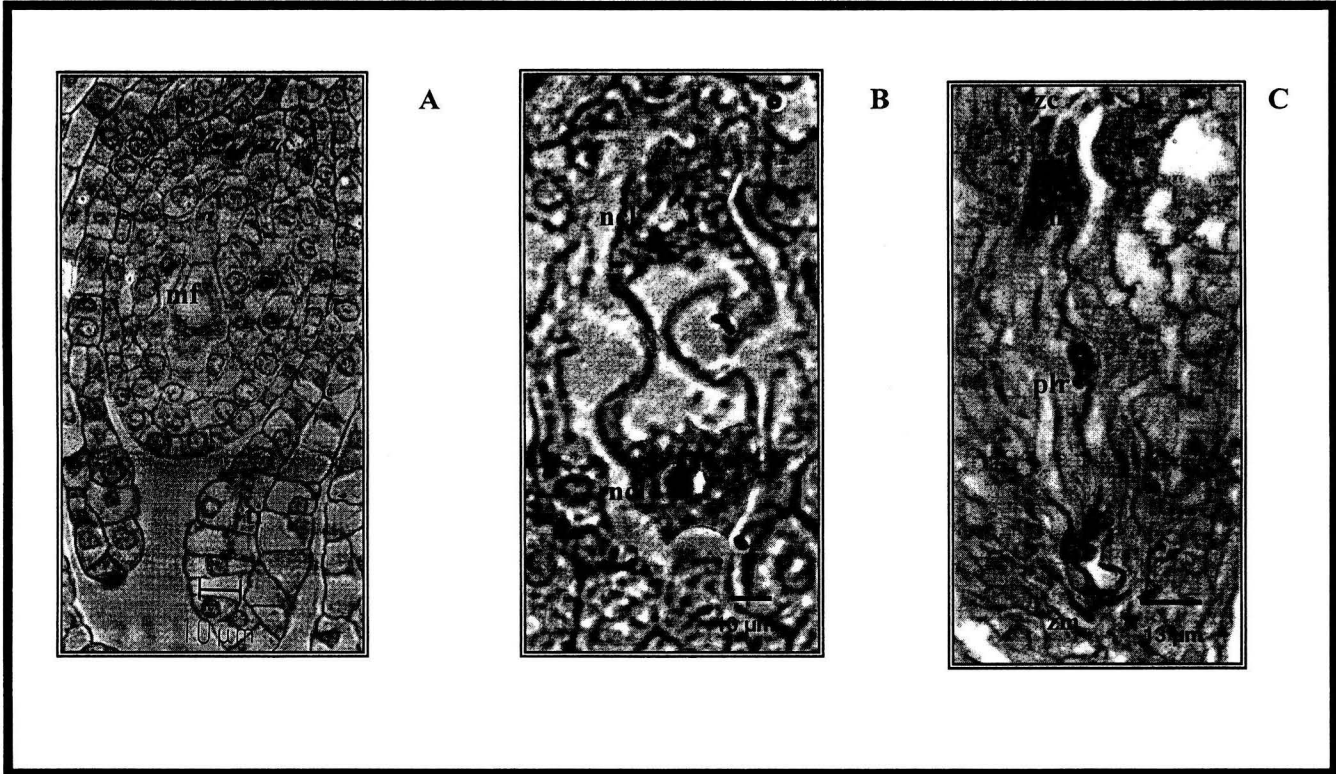


Lámina 25. **A – C**:MF. Corte longitudinal de óvulos. **A**. Megaspora funcional (mf) de mayor tamaño que el resto del tejido nucelar (n); **B**. Primera división mitótica como resultado 2 núcleos del megagametofito (nc); **C**. Saco embrionario constituido por 6-núcleos y 5 células. 2-antipodas (atp) localizadas en la zona calazal (zc), 2-sinergidas (s) dispuestas en la zona micropilar (zm) y 2-núcleos polares (plr).

Aumentos: **A** = 200 X; **B** y **C** = 250 X.

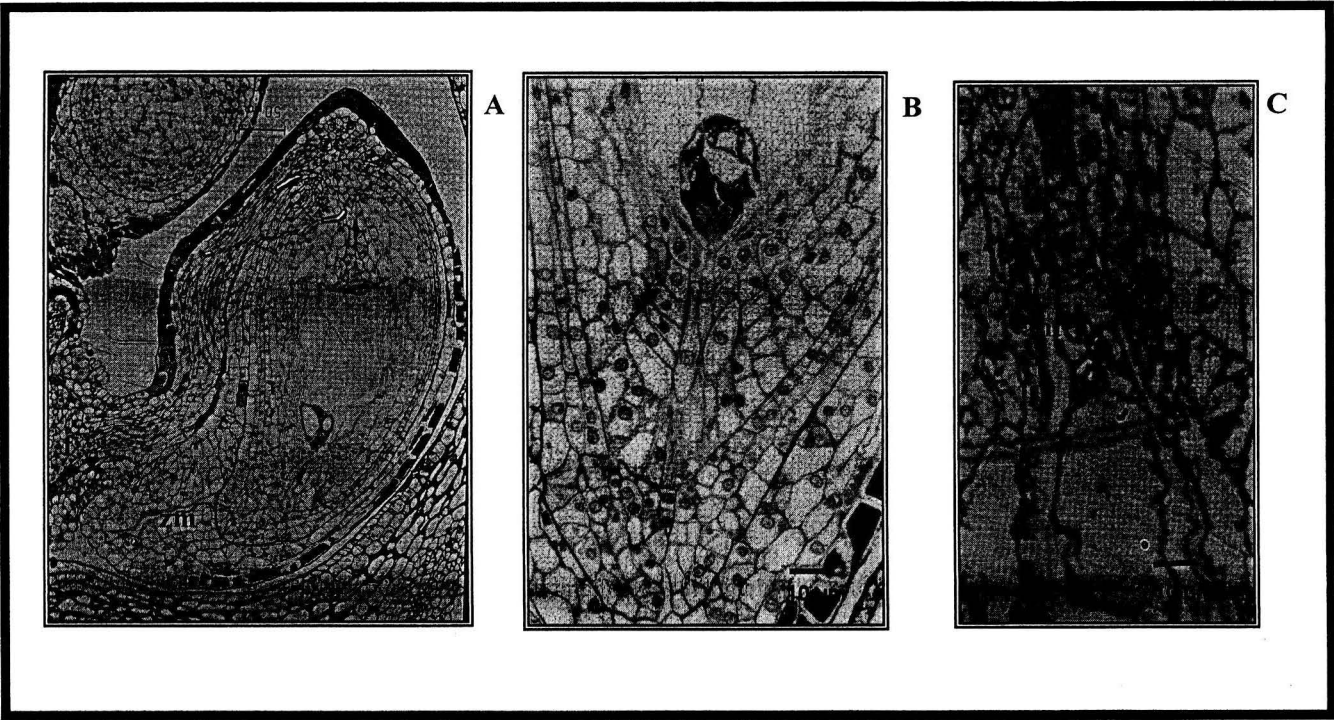
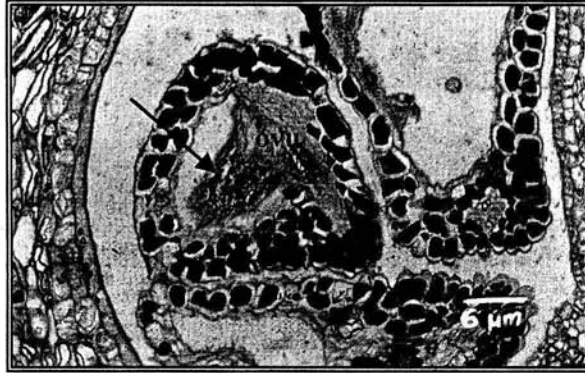


Lámina 26. **A – C:MF.** Corte longitudinal de óvulos. **A.** Óvulo anátropo, bitégmico, triestratificado; **B.** Sinérgidas (s) con aparato de huevo y aparato filiforme; **C.** Antipodas (ant) localizadas en la zona calazal (zc).

Aumentos: **A = 65 X; B y C = 250 X.**



A

Lámina 27. A:MF. Corte transversal de óvulo, tejido nucelar en degeneración (flecha).

Aumentos: A = 79 X.

DISCUSIÓN

Como el género *Pterostemon* ha sido colocado por diversos autores en las familias Saxifragaceae, Grossulariaceae y Escalloniaceae, en la discusión se hará una comparación de los caracteres florales y embriológicos, cuando esto sea posible, entre estas familias (Anexos 1,2 y 3).

OVARIO, ESTILO Y ESTIGMA.

La placentación definida para *P. bravoanus* es axial, carácter que comparte con *Itea* (Escalloniaceae) y con la subfamilia Saxifragoideae (Saxifragaceae), éste carácter no está descrito para la familia Grossulariaceae. Mientras que el carácter pentacarpelar no es compartido con ninguno de las familias Saxifragaceae, Grossulariaceae y Escalloniaceae. Estos taxa presentan 2 a 3 carpelos (Soltis y Morgan, 1993).

En el centro del ovario de *P. bravoanus* existe la formación de un canal que se extiende desde la región media del ovario hasta los estilos y los estigmas. Este mismo carácter se describe en la familia Saxifragaceae. Bense y Palser (1975c) lo describen como un eje entre los carpelos, derivado de la separación de éstos en la región distal del ovario y estilo, solo los estigmas quedan connados, aunque estos también son libres en algunas especies. En *Ribes* (Grossulariaceae), el grado de independencia entre carpelos no es tan grande, pero de igual manera se forma un canal. Este carácter también está descrito para la familia Escalloniaceae (Bense y Palser, 1975b, 1975c).

En *P. bravoanus* el canal estilar presenta en la epidermis adaxial y abaxial tricomas unicelulares con ornamentaciones verrugosas, carácter que no ha sido descrito en ninguna de las familias con las que se ha asociado. No existe una explicación de la función, que desarrollan los tricomas en esta zona. Como no se conoce el tipo de polinización, ni cual es la ruta que siguen los tubos polínicos, pudiera ser que el desplazamiento de los tubos polínicos fuera por el canal estilar, los tricomas podrían ayudar a este desplazamiento. También podría ser que los granos de polen germinaran sobre los estigmas y los tubos polínicos avanzaran a través del tejido de transmisión.

En *Itea* (Escalloniaceae) los estilos están connados y cada estilo tiene un canal estilar. Bensei y Palser (1975c) describen que los estilos en botones florales en preantesis se encuentran unidos y comienzan a separarse en etapas maduras del desarrollo floral, aunque con frecuencia se encuentran unidos en la región estigmática. En *P. bravoanus* los estigmas se encuentran separados y la separación se hace más evidente en etapas maduras del desarrollo floral.

CÁLIZ

En la superficie abaxial del cáliz se encontraron estomas de tipo anomocítico. No se han reportado estomas en los verticilos florales de Saxifragaceae, Grossulariaceae ni en Escalloniaceae.

Los tricomas glandulares y unicelulares descritos en *P. bravoanus* también han sido observados en la familia Saxifragaceae. Esta familia presenta una gran diversidad de tricomas unicelulares, multicelulares y glandulares (Al-Shamary y Gomall, 1994; Bensei y Palser, 1975a, 1975b y 1975c). La distribución de los tricomas unicelulares en *P. bravoanus* y Saxifragaceae es la misma, aunque en Saxifragaceae además se encuentran localizados en el estigma, distribución no encontrada en *P. bravoanus*.

En *Ribes* (Grossulariaceae) se describen solo tricomas unicelulares distribuidos en pedicelo, sépalos, brácteas y bracteólas (Durán, 2001). En *Itea* (Escalloniaceae) se reportan tricomas de tipo unicelular con taninos en el interior, distribuidos en la superficie abaxial de los sépalos y sobre el pedicelo (Bensei y Palser, 1975b).

Se han hallado en los tejidos del ovario y estilo de *P. bravoanus* dos tipos de cristales de oxalato de calcio: drusas y cristales poligonales. Algunas especies de la familia Escalloniaceae presentan sólo drusas distribuidas en el tejido parenquimático del ovario (Bensei y Palser, 1975c). Mientras que en las familias Saxifragaceae y Grossulariaceae éstos no se han descrito.

En todos los verticilos florales de *P. bravoanus* se distribuyen taninos condensados. En la familia Saxifragaceae se reportan taninos contenidos en los tricomas glandulares, tricomas unicelulares, epidermis de la antera y en ambos tegumentos del óvulo en *Saxifraga fortunei* var *partita* (Beamish, 1967). En *Itea* (Escalloniaceae) se encuentran en el interior de los tejidos nectaríferos (Bensel y Palsler, 1975c). No se describen para Grossulariaceae.

Wilkinson (1994) menciona que el grupo *Pterostemon* es xeromórfico y una de las características xeromórficas que describe para hojas es la abundancia de un indumento constituido por tricomas glandulares (tallos multicelulares y cabezas constituidas por células glandulares) y tricomas unicelulares. Además menciona algunas probables funciones de estos tricomas. Como que los tricomas glandulares una vez liberadas sus secreciones son capaces de absorber agua. Los tricomas unicelulares podrían funcionar atrapando la humedad y también podrían absorberla. Otra posibilidad es que el indumento sirva primeramente como protección ante la depredación por herbívoros. En la colecta realizada el día 21 de febrero de 2004 en Petatlán, Guerrero se pudo observar en el campo que algunos arbustos estaban plagados. Botones florales y flores en preantesis presentaban sépalos y pétalos muy engrosados y al disectarse se hallaron larvas en su interior, mientras que en los verticilos florales fértiles (carpelos y estambres) no se encontraron. A pesar de que las flores de *P. bravoanus* están protegidas contra depredadores mediante tricomas, taninos y cristales de oxalato de calcio, éstos no parecen ser una protección eficiente.

Otra característica que podría ser xeromórfica es la abundancia de cristales distribuidos en las estructuras florales, sin embargo también podría ser un mecanismo por el cual la planta regula el equilibrio iónico mediante el metabolismo de calcio (reservorio en las células) y la remoción de sustancias tóxicas como el oxalato.

MICROSPOROGÉNESIS Y MICROGAMETOGÉNESIS

En *P. bravoanus* durante todo el desarrollo de la antera estuvieron presentes los taninos, contenidos en el tejido conectivo, así como en las células epidérmicas. La distribución de taninos en la epidermis de la antera sólo ha sido reportada en la familia Saxifragaceae, pero no así en Grossulariaceae ni en Escalloniaceae.

Caracteres como la antera tetrasporangiada, bilobulada; pared de la antera formada por: epidermis, endotecio fibroso, dos capas medias efímeras, son los mismos definidos en las familias Saxifragaceae y Grossulariaceae, para Escalloniaceae no existen datos.

Los caracteres descritos para *P. bravoanus* como el tapete binucleado y los granos de polen tricolporados los comparte con la familia Saxifragaceae y con Grossulariaceae, pero no así con Escalloniaceae, en la que estos son biporados.

La degeneración del tejido de la antera y de los granos de polen se presentan en distintas etapas del desarrollo y es un fenómeno ampliamente distribuido, por lo menos en la población de Petatlán. Esto es un indicio de que la planta podría tener problemas de reproducción, lo que posiblemente explicaría las poblaciones poco abundantes encontradas en su hábitat natural.

Este mismo problema pero aún más acentuado lo presentan poblaciones ubicadas en el municipio de Mezcala (Ramiro Cruz Durán) en donde se afirma que "por observaciones realizadas en el campo se identificó que las anteras de flores de *P. bravoanus* no producían granos de polen o si los había estos eran anormales". Así el comportamiento de aborción se ha visto reflejado en dos poblaciones distintas.

MEGASPOROGÉNESIS Y MEGAGAMETOGÉNESIS

Las características embriológicas halladas en *P. bravoanus* como el tipo de óvulo anátropo, bitégmico, crasinucelado son compartidos con las familias Grossulariaceae, Saxifragaceae y Escalloniaceae. Sin embargo en esta última familia es más común encontrar óvulos tenuinucelados y unitégmicos. Los caracteres descritos para *Itea* son óvulos bitégmicos y crasinucelados (Morgan y Soltis, 1993).

Tanto la estratificación de los tegumentos como la forma del micrópilo definidos para *P. bravoanus* son similares a los reportados en *Saxifraga fortunei* var *partita* (Abe, 1982), pero existe una diferencia en cuanto a la localización de taninos en los tegumentos, en *Saxifraga* sp las células del tegumento interno son las que comienzan a llenarse de taninos y conforme el óvulo madura esta sustancia se incrementa y se extiende hacia el tegumento externo. En *P. bravoanus* sólo se han observado los taninos contenidos en dos estratos del tegumento externo y en el funículo pero no en el tegumento interno del óvulo.

El origen de los tegumentos y la forma del micrópilo en zigzag son iguales en *Pterostemon* y en *Saxifraga* sp, estos caracteres no han sido descritos para Grossulariaceae ni Escalloniaceae.

Muchos ovarios de *P. bravoanus* presentaron varios óvulos en degeneración en distintas etapas del desarrollo. La degeneración de los óvulos algunas veces coincide con la degeneración del ovario y del tejido fértil de la antera. El mismo proceso también se observó en *Saxifraga rufidula* donde el saco embrionario y óvulos completos se colapsaban (Beamish, 1967).

La degeneración de óvulos en *P. bravoanus*, está directamente conectada a una baja producción de semillas afectándose con ello la producción de nuevos individuos y la adecuación de la especie. Es muy probable que la especie se encuentre amenazada sin embargo, nosotros no tenemos información suficiente para hacer esta aseveración.

CONCLUSIONES

- Los caracteres embriológicos descritos para *P. bravoanus* son: óvulo anátropo, bitégmico, crasinucelado, tegumentos triestratificados, micrópilo en zigzag, saco embrionario posiblemente tipo Polygonum. Antera tetrasporangiada, bilobulada, desarrollo de la pared de la antera tipo básico, epidermis persistente con taninos y cutinizada, endotecio fibroso, dos capas medias efímeras, tapete secretor, binuclear; tétradas tetraédricas, granos de polen tricolporados, con ornamentación de la exina de tipo porado, los granos de polen se liberan en etapa bicelular.
- Una gran proporción de anteras y óvulos se observan en degeneración, no se conocen las causas. Es muy probable que este suceso tenga que ver con el escaso número de individuos en las poblaciones reportadas por Jiménez y Martínez (1997).
- Los caracteres anatómicos y morfológicos encontrados en *P. bravoanus* son: estomas de tipo anomocíticos; la presencia de tricomas glandulares y unicelulares distribuidos ambos en: la epidermis del receptáculo, en la parte abaxial de sépalos y pétalos, así como en el margen de estos. Tricomas unicelulares dispuestos en: los filamentos de las anteras, en los estaminodios, en la epidermis abaxial y adaxial de los estilos. Además de presentar inclusiones de cristales de oxalato de calcio: drusas y cristales poligonales contenidos en el tejido parenquimático del ovario, receptáculo, sépalos, pétalos y estilo. Y de la depositación de taninos condensados en el tejido parenquimático de todos los verticilos florales.
- La microsporogénesis y microgametogénesis de *P. bravoanus* conservan el mismo patrón de desarrollo y las mismas estructuras reportadas para la familias Saxifragaceae y Grossulariaceae.
- La megasporogénesis y megagametogénesis en *P. bravoanus* sigue el mismo patrón de desarrollo descrito en Saxifragaceae y Grossulariaceae.

Las diferencias notables de *P. bravoanus* con respecto a Saxifragaceae, Grossulariaceae y Escalloniaceae, se refieren a las observaciones de caracteres anatómicos y morfológicos:

- En *P. bravoanus* en la epidermis del cáliz y en la epidermis del receptáculo se encuentran distribuidos estomas de tipo anomocítico. Éste carácter no ha sido descrito en las flores en Saxifragaceae, Grossulariaceae y Escalloniaceae.
- *P. bravoanus* presenta cristales poligonales de oxalato de calcio rodeando a los lóculos del ovario. Estos cristales no se han descrito para ninguna de las familias Saxifragaceae, Grossulariaceae y Escalloniaceae.
- *P. bravoanus* tiene inclusiones de taninos condensados en todas las estructuras florales estériles y fértiles. En Saxifragaceae se presentan en tricomas glandulares y unicelulares; en la epidermis de la antera y en ambos tegumentos del óvulo. Mientras que para *Itea* sólo se encuentran contenidos en los tejidos nectaríferos. No se han reportado en las Grossulariaceae.
- En *P. bravoanus* el canal que se extiende desde la región media del ovario hasta los estilos y los estigmas. Los estilos en la parte basal se encuentran cubiertos de tricomas en la epidermis adaxial y abaxial. Esto no se ha registrado para Saxifragaceae, Grossulariaceae y Escalloniaceae.
- *P. bravoanus* presenta cinco estaminodios, ovario con cinco o seis carpelos, estos caracteres no los comparte con ninguna de las familias Saxifragaceae, Grossulariaceae y Escalloniaceae, estas familias no tienen estaminodios y el ovario consta de dos a tres carpelos.

Anexo 1. Comparación de las características embriológicas (microsporogénesis y microgametogénesis) de *P. bravoanus* y las familias Saxifragaceae, Grossulariaceae y Escalloniceae.

Características embriológicas	SAXIFRAGACEAE	GROSSULARIACEA	ESCALLONICEAE	PTEROSTEMON <i>Pterostemon bravoanus</i>
Tipo de desarrollo de la pared de antera	Básico	Básico	?	Básico
Epidermis	Epidermis persistente con presencia de taninos o cutinizada	?	?	Persistente con cutina y taninos
Endotecio	Fibroso	Fibroso	?	Fibroso, con presencia de taninos
Capas medias	Dos capas efímeras	Dos capas	?	Dos capas efímeras
Tapete	Secretor. 1-nuclear, 2-nuclear o con cuatro núcleos	Secretor, con células multinucleadas	?	Secretor con células binucleadas
División de la célula madre de la microspora	Citocinesis simultánea	Citocinesis simultánea	?	?
Microspora	Tetraédrica y decusada	Tetraédrica y decusada	?	Tetraédrica
Grano de polen	Tricolporados	2-3 (5) -colporado o hasta 11-porado	Biporado, bilateral	Tricolporado
Ornamentaciones del grano de polen	?	?	Completo tectum y una reducida ectoapertura	Porado (poros menores a 1 μ m)
Número de células cuando el polen es liberado	Bicelular o tricelular	Bicelular	?	Bicelular

Anexo 2. Comparación de las características embriológicas (megasporogénesis y megagametogénesis) de *P. bravoanus* y las familias Saxifragaceae, Grossulariaceae y Escalloniaceae.

Características embriológicas	SAXIFRAGACEAE	GROSSULARIACEA	ESCALLONIACEAE	PTEROSTEMON <i>Pterostemon bravoanus</i>
Desarrollo de la nucela	Crasinucelado	Crasinucelado	Crasinucelado	Crasinucelado
Tipo del óvulo	Anátropo	Anátropo	?	Anátropo
Origen del tegumento	Epidérmico	?	?	Epidérmico
Número de Tegumentos	Bitégmico o unitégmicos	Bitégmico	Bitégmico	Bitégmico
Micrópilo	Zigzag (<i>Saxifraga var partita</i>)	?	?	Zigzag
Tétradas	Lineal o T	Lineal o T	?	?
Megaspora funcional	Calazal	Calazal	?	Calazal
Tipo de saco embrionario	Polygonum	Polygonum	?	Polygonum
Sinérgidas	Las sinérgidas tienen forma de gancho y usualmente exhiben el aparato filiforme	Las sinérgidas tienen forma de gancho	?	Las sinérgidas tienen forma de gancho y exhiben el aparato filiforme
Antípodas	3 células antípodales persisten en las etapas tempranas posfecundación	2-3 células antípodales degeneran	?	3-antípodas

Núcleos polares	El núcleo polar se fusiona antes o en el momento de la fecundación	El núcleo polar se fusiona antes de la fecundación	?	?
Tipo de endospermo	Celular, helobial o nuclear, algunos miembros desarrollan varias clases de haustorio	Celular, helobial o nuclear	?	?

Anexo 3. Comparación de las características morfológicas y anatómicas de *P. bravoanus* y las familias Saxifragaceae, Grossulariaceae y Escalloniaceae.

CARACTERÍSTICAS MORFOLÓGICAS Y ANATÓMICAS	SAXIFRAGACEAE	GROSSULARIACEAE	ESCALLONIACEAE	PTEROSTEMON <i>Pterostemon bravoanus</i>
Perianto	4 ó 5-sépalos, 4 ó 5-pétalos adnados a la copa floral	5-sépalos, 5-pétalos adnados a la copa floral	5-sépalos, 5-pétalos adnados a la copa floral <i>Itea</i> sp Tetrameras, octameras en Escalloniaceae.	5-sépalos, 5-pétalos adnados a la copa floral
Anteras	3 a 10 anteras	5-anteras con filamentos cortos y largos	5-anteras con filamentos cortos y largos en <i>Itea</i> sp	5-anteras con filamentos dentados
Ovario	Ínfero, semi-íntero y súpero	Ínfero	Semi-íntero y súpero en <i>Itea</i> sp Íntero en <i>Escallonia</i> sp	Ínfero
Carpelos	2 (5), carpelos connados Independencia de los carpelos en la parte distal del ovario	2 carpelos	2 carpelos connados estos se separan en la parte distal del ovario <i>I. yunnanensis</i> .	5 carpelos connados. En la parte central de la placentación un canal se extiende desde la parte media del ovario y se proyecta hacia el estilo y estigma
Placentación	Parietal, axial y marginal	Parietal	Axial en <i>Itea</i> sp y parietal en <i>Escallonia</i> sp.	Axial
Óvulos	Numerosos óvulos	Numerosos óvulos	Numerosos óvulos	4 (5) 6 óvulos.

Estilo	Estilos raramente fusionados	Estilos connados	Estilos connados. El estilo se encuentra libre en etapas maduras sólo los estigmas quedan fusionados en <i>Itea</i> sp. Estilos con un canal se extiende hasta la zona estigmática en <i>Escallonia</i>	Los estilos presentan un canal estilar que se proyecta hasta la zona estigmática. La epidermis adaxial y abaxial presentan tricomas unicelulares.
Estigma	Estigmas separados o connados.	Ligeramente bilobados	Estigmas fusionados y libres con muchos lóbulos	5-estigmas libres
Tricomas	Tricomas glandulares con tallos multiseriados, tricomas glandulares con tallos uniseriados, tricomas unicelulares y tricomas uniseriados.	Tricomas unicelulares y tricomas glandulares.	Tricomas unicelulares. en <i>Itea</i> sp. Tricomas unicelulares, tricomas glandulares con tallos multicelulares, tricomas con forma de T y tricomas multicelulares estelados en Escalloniaceae	Tricomas unicelulares con ornamentaciones verrugosas y tricomas glandulares constituidos de una cabeza glandular y tallo multiseriado.
Taninos	Se distribuyen en las células terminales de los tricomas unicelulares y glandulares además en la epidermis del tegumento externo del óvulo y tegumento interno. Y en la epidermis de la antera.	?	Contenidos en las células de los tejidos nectaríferos	Taninos condensados distribuidos en todas las estructuras florales estériles y fértiles.
Cristales de oxalato de calcio	?	?	Drusas en el tejido parenquimático del ovario en <i>Escallonia</i> sp	Cristales poligonales y drusas, distribuidos en el tejido parenquimático del ovario, en el tejido que rodea al lóculo, sépalos, pétalos y estilo
Estomas	?	?	?	De tipo anomocíticos encontrados en el ovario y sépalos

BIBLIOGRAFÍA

1. Abe, K. 1982. Embryological studies in the family Saxifragaceae (s.l.): Development of the ovule and embryo sac in *Saxifraga fortunei* var. *partita* (Makino) Nakai. American Journal of Botany. 69:416-420
2. Al-Shammary, K. I., y Gornall R.J. 1994. Trichome anatomy of the Saxifragaceae s.l. from the southern hemisphere. Botanical Journal of the Linnean Society. 114: 99-131.
3. Beamish, I. K. 1963. Meiosis in megasporocytes and development of the megagametophyte in *Saxifraga integrifolia* Hook. Canadian Journal Genetic Cytology. 5:146-149
4. Beamish I. K ., y Chang S. L. 1965. Fertilization and seed development in *Saxifraga integrifolia* Hook. Canadian Journal of Botany. 43: 861-865.
5. Beamish, I. K., 1967. A Pacific coast Saxifrage with 10 pairs of chromosomes: meiosis, development of female gametophytes, and seed production. Canadian Journal of Botany. 45: 1797-1801.
6. Bense, C. R, y B. F. Palser, 1975a. Floral anatomy in the Saxifragaceae *sensu lato* I. American Journal of Botany. 62(2):176-185.
7. Bense, C. R, y B. F. Palser. 1975b. Floral anatomy in the Saxifragaceae *sensu lato* II. Saxifragoideae and Iteoidae. American Journal of Botany. 62(7):661-675.
8. Bense, C. R, y B. F. Palser. 1975c. Floral anatomy in the Saxifragaceae *sensu lato* III. Kirengeshomoideae, Hydrangeoideae and Escallonioidae. American Journal of Botany. 62(7): 676-687.

9. Bense, C. R, y B, F. Palser. 1975d. Floral anatomy in the Saxifragaceae *sensu lato* IV. Baueroideae and Conclusions. American Journal of Botany. 62(7): 688-694.
10. Bozzola y Russell. 1992. Microscopy Principles and Techniques for biologist. Jones and Bartlett. Publishers Londres.
11. Chapman, M. 1933. The ovule and embryo sac of *Saxifraga virginensis*. American Journal of Botany. 20(3):151-159.
12. Cronquist, A. 1981. An integrated system of classification of flowering plants. Columbia University Press. Nueva York. pp. 1261
13. Curtis, P. J. 1986. Microtécnia vegetal. Editorial Trillas. pp 99
14. Davis, G. L. 1966. Systematic Embryology of the angiosperms. John Wiley & Sons. New York. pp. 511.
15. Douglast E.S, Morgan, D.R, Albert-Grable, P. y Robert K. 1993. Molecular Systematics of Saxifragaceae *sensu estricto*. American Journal of Botany 80(9): 1056-1081.
16. Durán, E. C. 2001. Grossulariaceae. Flora de Veracruz Publicado por el Instituto de Ecología, A.C. Fascículo 122
17. Ferguson, I. K., y Webb D. A. 1970. Pollen morfology in the genus *Saxifraga* and its taxonomic significance. Botanical Journal of the Linnean Society. 63: 295-311
18. Hutchinson, J. 1967. The genera of flowering plants (Angiospermae). Oxford at the Clarendon Press. Londres.. 1: 659
19. <http://gro.inegi.gob.mx/territorio/espanol/menu.html>

20. Jiménez, R. J. y M. G. Martínez, 1997. Una especie nueva del género *Pterostemon* (Grossulariaceae) del estado de Guerrero, México. *Acta Botánica Mexicana*. 41:21-25
21. Johri, B. M., Ambegaokar, K. B. y P. S. Srivastava. 1992. *Comparative Embryology of Angiosperms*. Springer-Verlag Berlin Heidelberg. pp. 877
22. Johansen, D. A. 1940. *Plan Microtechnique*. Mc Graw-Hill. New York and London. pp 502
23. Kulbáeva, B. G. 1992a. Superficie de las semillas de la familia Saxifragaceae: Tipología e importancia para la sistemática y la filogenia. *Bot. Zhurn*. 77(8): 98-105.
24. Kulbáeva, B. G. 1992b. Superficie de las semillas de la familia Saxifragaceae: Tipología e importancia para la sistemática y la filogenia. *Bot. Zhurn*. 77(3):36-48.
25. Kulbáeva, B. G. 1992c. Superficie de las semillas de la familia Saxifragaceae: Tipología e importancia para la sistemática y la filogenia. *Bot. Zhurn*. 77(4):61-68.
26. López-Curto, M. L., J. Márquez-Guzmán y G. Murguía-Sánchez. 1998. Técnicas para el estudio del desarrollo en angiospermas. Facultad de Ciencias, UNAM. pp. 116.
27. Morgan, R. D. y Soltis, E. D. 1993. Phylogenetic relationships among members of Saxifragaceae *sensu lato* based on rbcL sequence data. *Annals of the Missouri Botanical Garden*. 80:631-660.
28. Ramírez J. 1984. Una especie nueva de *Pterostemon*. *La Naturaleza*. 2:416-417.
29. Rzedowski, J. 1991. Endemismo en la flora fanerogámica mexicana: una apreciación analítica preliminar. *Acta Botánica Mexicana*. 15:47-64.
30. Small, J.K. 1905. Pterostemonaceae. *North American Flora*. 22: 183.

ESTA TESIS NO SALE
DE LA BIBLIOTECA

31. Soltis, D. E., A. Crable, D. Morgan, P.S. Soltis y R. Kuzoff. 1993. Molecular systematics of *Saxifragaceae sensu stricto*. *American Journal of Botany*. 80:1056-1081.
32. Soltis E. D., Kuzoff, K. R., Conti, E. Gornall, R. y Keith F. 1996. MatK and rbcL gene sequence data indicate that *Saxifraga* (*Saxifragaceae*) is polyphyletic. *American Journal of Botany*. 83(3): 371-382.
33. Soltis, E. D., y Hufford, L. 2002. Ovary position diversity in *Saxifragaceae*: Clarifying the homology of epigyny. *International Journal Plant Science*. 163(2): 277-293.
34. Takhtajan, A. 1997. *Diversity and Classification of flowering plants*. Columbia University Press. New York. pp: 588.
35. Thorne, F.R. 1992. *Classification and Geography of the Flowering Plants*. *The Botanical Review*. 58(3): 225-348.
36. Wilkinson, P. H. 1994. Leaf and twing anatomy of the *Pterostemonaceae* (Engler) Small: ecological and systematic features. *Botanical Journal of the Linnean Society* 115(2): 115-131.