



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA  
DE MÉXICO

---

---

FACULTAD DE CIENCIAS

“Desarrollo del rostelo y viscidio de  
*Dichromanthus cinnabarinus* (Orchidaceae, Spiranthinae)”

TESIS

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:  
BIÓLOGO

PRESENTA:

Benjamín Valencia Nieto



TUTOR  
M. en Ecol. Básica Eduardo Alberto Pérez García



Universidad Nacional  
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

**Biblioteca Central**



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

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

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



UNIVERSIDAD NACIONAL  
AUTÓNOMA DE  
MÉXICO

FACULTAD DE CIENCIAS  
DIVISIÓN DE ESTUDIOS PROFESIONALES

Autorización de voto aprobatorio

**ACT. MAURICIO AGUILAR GONZÁLEZ**  
Jefe de la División de Estudios Profesionales  
Facultad de Ciencias  
P r e s e n t e

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

**Desarrollo del rostelo y viscidio de Dichromanthus cinnabarinus (Orchidaceae,  
Spiranthinae)**

realizado por **Valencia Nieto Benjamín**, con número de cuenta **4-0105417-0**, quien opta por titularse en la opción de **Tesis** en la licenciatura en **Biología**. Dicho trabajo cuenta con nuestro voto aprobatorio.

Propietario Dra. Guadalupe Judith Márquez Guzmán

Propietario Dra. Sonia Vázquez Santana

Propietario M. en Ecol. Básica Eduardo Alberto Pérez García  
Tutor

Eduardo A. Pérez G.

Suplente Dra. Silvia Espinosa Matías

Suplente M. en C. Ernesto Aguirre León

FACULTAD DE CIENCIAS



UNIDAD DE ENSEÑANZA  
DE BIOLOGÍA

Atentamente  
"POR MI RAZA HABLARÁ EL ESPÍRITU"  
Ciudad Universitaria, D.F., a 18 de febrero de 2008  
EL COORDINADOR DE LA UNIDAD DE ENSEÑANZA DE BIOLOGÍA

DR. ZENÓN CANO SANTANA

Señor sinodal: antes de firmar este documento, solicite al estudiante que le muestre la versión digital de su trabajo y verifique que la misma incluya todas las observaciones y correcciones que usted hizo sobre el mismo.

<p><b>1. Datos del alumno</b> Valencia Nieto Benjamín 56178633 Universidad Nacional Autónoma de México Facultad de Ciencias Biología 401054170</p>
<p><b>2. Datos del tutor</b> M. en Ecol. Básica Eduardo Alberto Pérez García</p>
<p><b>3. Datos del sinodal 1</b> Dra. Guadalupe Judith Márquez Guzmán</p>
<p><b>4. Datos del sinodal 2</b> Dra. Sonia Vázquez Santana</p>
<p><b>5. Datos del sinodal 3</b> Dra. Silvia Espinosa Matías</p>
<p><b>6. Datos del sinodal 4</b> M. en C. Ernesto Aguirre León</p>
<p><b>7. Datos del trabajo escrito</b> “Desarrollo del rostelo y viscidio de <i>Dichromanthus cinnabarinus</i> (Orchidaceae, Spiranthinae)” 39 páginas 2008</p>

A mi mamá,  
gracias por todo.

"El que se enorgullece de sus conocimientos es como si estuviera ciego en plena luz."  
Benjamín Franklin

"Al poder le ocurre como al nogal, no deja crecer nada bajo su sombra."  
Antonio Gala

## AGRADECIMIENTOS

Primeramente agradezco a mi mamá y a mi papá por regalarme la vida y por apoyarme a lo largo de todo este proceso.

A aquellos que se fueron pero siempre estarán presentes en mi corazón, mi abuelo Francisco, mi tía Agustina, mis primas Lilia y Elena y mi amiga Ana.

A mi familia, especialmente a Lulú y Julieta, a Lulita, Laurita, Lucía, Eder, Adrianita, Oliver, Luis Alfonso, Brígido por todo su amor y cariño, a Chaguito por ser un sobrino primo nieto super inteligente y consentido que me recuerda a mí cuando tenía su edad.

A todos mis amigos/as especialmente a Alejandra, Kika, David, Alma, Daniela, Lilibeth, Edgar, Berenice, Almuchis, Ileana, Manel y Alejandro porque siempre me han escuchado, dado su apoyo incondicional, todo su cariño, comprensión en mis muchos momentos de locura y estrés masivo.

A mi querido y adorado Alejandrino por todo este tiempo que ha compartido conmigo, su comprensión, ayuda, cariño y toda la felicidad que me da.

A mis amigos de la Fac. Mariana, Pili, Eunice Memo, Fernanda, Isabel, Julio, Diana, Chacón, Serafín y todos aquellos que siempre estuvieron ahí conmigo en momentos importantes y con los que compartí toda esta aventura de la carrera.

A mis grandes amigos de la Asociación Mexicana de Orquideología, Manuel Pontes, Oscar Francke, Kena, Rebeca, Celia, Omar Rocha, el otro Omar (Ojeda), Malena, Lourdes, los Martínes y a la familia Cusi especialmente a Sandro.

A Laura y Eva Pliego y Dalia por ser unas amigas geniales, al igual que a Oscarín el veter.

A todos los maestros que tuve durante la carrera, cada uno de ustedes me aportaron sus valiosos conocimientos, y ayudaron a mi formación como profesional.

A Mague, Paty, Ana Laura y Karina maestras del Taller de “Desarrollo de las estructuras reproductoras en Cactáceas” por todas sus enseñanzas y transmisión de conocimientos.

A todos en el Laboratorio de Desarrollo en Plantas, muy especialmente a la maestra Lourdes López y a la maestra Clarita que me ayudaron siempre con el mejoramiento de las técnicas de la tesis, en la paciencia para explicarme trucos de metodología y en sus consejos personales.

A mis sinodales, la Dra. Sonia Vázquez por su apoyo para la descripción de toda la parte anatómica, a la Dra. Silvia Espinosa por toda su ayuda gigante en la parte del microscopio electrónico de barrido sin la cual no hubiera sido posible observar nada prácticamente, al M. en C. Ernesto Aguirre por todas sus valiosas críticas y comentarios de ánimo.

A el M. en Ecol. Básica Eduardo A. Pérez, Lalito muchísimas gracias por toda tu ayuda, por ser imparcial, por tus valiosos consejos y comentarios, muchas gracias por aventarte este paquete de ser mi asesor.

Y al final, pero no menos importante, quiero agradecerle infinitamente y como si fuera mi segunda mamá a una verdadera maestra la Dra. Judith Márquez Guzmán. Sin usted nada de esto hubiera sido posible, gracias por darme la oportunidad de trabajar en su laboratorio, por toda su paciencia, sus atenciones, sus consejos y lo más importante su tiempo y la

dedicación de transmitirnos sus valiosos conocimientos no solo en la biología del desarrollo sino en la vida, la quiero muchísimo.

# ÍNDICE

## I. INTRODUCCIÓN

1.1 Familia Orchidaceae.....	7
1.2 Clasificación taxonómica.....	7
1.3 Tribu Cranichideae.....	9
1.4 Subtribu Spiranthinae.....	9

II. ANTECEDENTES.....	10
-----------------------	----

III. JUSTIFICACIÓN.....	14
-------------------------	----

## IV. OBJETIVOS

4.1Objetivos particulares.....	15
--------------------------------	----

## V. MATERIAL Y MÉTODOS

5.1 Material biológico.....	16
5.2 Fijación.....	16
5.3 Microscopía electrónica de barrido.....	16
5.4 Microscopía de luz.....	17

## VI. RESULTADOS

6.1 Morfología floral.....	19
6.2 Anatomía floral.....	23

## VII. DISCUSIÓN

7.1 Desarrollo del perianto.....	31
7.2 La columna.....	31
7.3 Antera.....	32
7.4 Estigma, rostelo y viscidio.....	32

VIII. CONCLUSIONES.....	35
-------------------------	----

IX. BIBLIOGRAFÍA.....	37
-----------------------	----

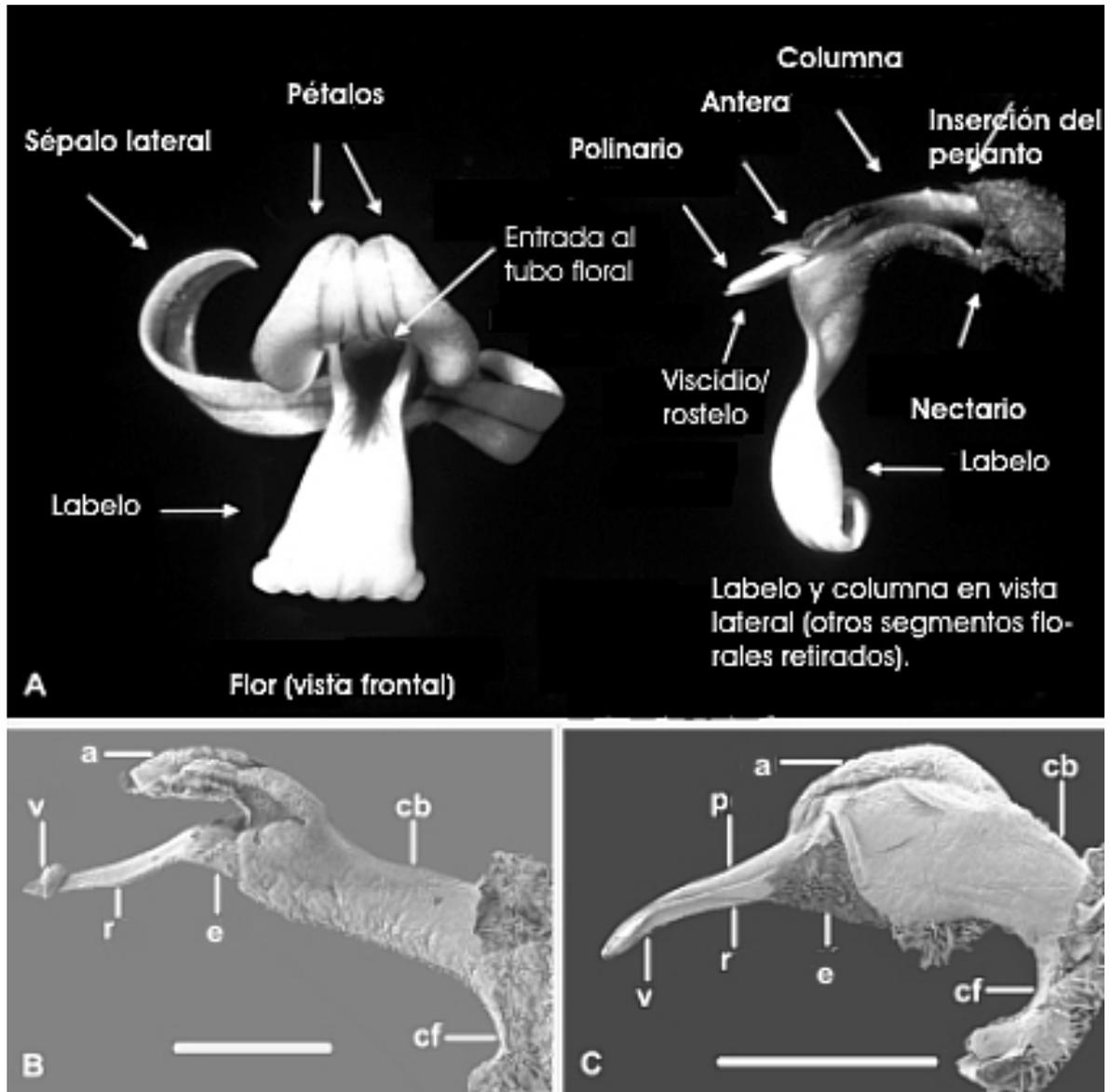
## I. INTRODUCCIÓN

### 1.1 Familia Orchidaceae

La familia Orchidaceae exhibe una enorme diversidad morfológica, tanto vegetativa como floral (Kurzweil, 1987). Ésta es una de las familias más numerosas de angiospermas, estimándose entre 20 y 25 mil especies en el mundo, agrupadas en más de 700 géneros (Dressler, 1981, 1993; Freudenstein y Rasmussen, 1999; Chase *et al.*, 2003). Esta familia se caracteriza por poseer flores trímeras y zigomorfas, principalmente hermafroditas, con un pétalo modificado llamado labelo. Los estambres y el estilo están fusionados formando una estructura generalmente alargada denominada columna, en cuyo extremo distal se ubica la antera y el estigma (Figs. 1A, B) (Dressler, 1981; 1993 y Arditti, 1992). La columna también tiene un rostelo, definido en este trabajo como una parte no receptiva del lóbulo medio del estigma y que separa a los polinios (agregación de tétradas de polen en cuerpos más o menos sólidos) de la superficie fértil del estigma e interviene en la dispersión de ellos. El rostelo produce una estructura con una sustancia adhesiva que permite fijar el polinario (polinios más sus apéndices) al polinizador, denominada viscidio (Figs. 1B y C) (Hágsater *et al.*, 2005).

### 1.2 Clasificación taxonómica

Durante el siglo pasado fueron propuestas varias clasificaciones de la familia Orchidaceae por diversos autores, por ejemplo Schlechter (1926), Dressler y Dodson (1960), Garay (1960) y Dressler (1981, 1993). Estas clasificaciones reconocieron entre 3 y 6 subfamilias dentro de Orchidaceae. Recientemente Chase *et al.* (2003) propusieron una nueva clasificación de la familia basados en estudios filogenéticos moleculares, reconociendo 5 subfamilias: Apostasiodeae, Cyripediodeae, Vanilloideae, Epidendroideae y Orchidoideae. En esta clasificación fueron incluidas en la subfamilia Orchidoideae un grupo de orquídeas previamente asignadas a la subfamilia Spiranthoideae Dressler (1981, 1993).



**Figura 1. Morfología floral de Orchidaceae, las figuras pertenecen a especies de la subtribu Spiranthinae. A:** Partes florales de *Deiregyne* sp. **B:** Columna de *Cyclopogon elatus*. **C:** Columna de *Spiranthes cernua*. **B y C** con pétalos y sépalos removidos **Barras de referencia:** B = 1 mm; C = 2 mm. **a**, antera; **cb**, cuerpo de la columna; **cf**, pie de la columna; **e**, estigma; **p**, polinio; **r**, rostelo; **v**, viscidio.

Tomado de Salazar (2003a). Traducción de leyendas del esquema A por B. Valencia.

### **1.3 Tribu Cranichideae**

Este grupo de orquídeas comprende a la tribu Cranichideae, la cual históricamente ha sido colocada bajo diversos nombres en subfamilias poco delimitadas e inconsistentes como Neottioideae (Lindley; 1840; Schlechter, 1911; Garay, 1960; Dressler; 1974, Rasmussen, 1982) o Spiranthoideae (Dressler; 1981, 1993; Szlachetko, 1995). La tribu Cranichideae incluye aproximadamente 95 géneros y 1140 especies (Salazar, 2003a) y de acuerdo con Chase *et al.* (2003) es monofilética y está compuesta de seis subtribus: Chloraeinae, Cranichideae, Goodyerinae, Manniellinae, Spiranthinae y Pterostylidinae.

### **1.4 Subtribu Spiranthinae**

La subtribu Spiranthinae incluye aproximadamente 40 géneros y 400 especies distribuidos predominantemente en el neotrópico (Salazar, 2003a). Su clasificación a nivel de género ha sido controversial desde la revisión que elaboró Schlechter (1920) a inicios del siglo pasado, basándose principalmente en los caracteres morfológicos de la columna. Esta controversia se retomó con la publicación de dos nuevas revisiones de la subtribu, publicadas casi simultáneamente, una propuesta por Garay (1982) y la otra por Balogh (1982, 1986). Estas clasificaciones se basan en los mismos caracteres morfológicos de la columna y son muy diferentes una de la otra y también con respecto a la de Schlechter (1920). Las diferencias se presentan tanto en el número como en la circunscripción de los géneros. Como consecuencia de este desacuerdo varios botánicos no especialistas en orquideología prefirieron incluir prácticamente a todas las especies de Spiranthinae en un concepto amplio del género *Spiranthes* (Williams, 1951; McVaugh, 1985). Las subsecuentes publicaciones taxonómicas (Burns-Balogh *et al.*, 1985; Burns-Balogh, 1989; Szlachetko, 1991, 1994; Szlachetko y González Tamayo, 1996; Szlachetko *et al.*, 2000) sobre la subtribu Spiranthinae han sido dedicadas principalmente a la proposición de nuevos géneros. Sin embargo, estos trabajos taxonómicos en Spiranthinae no se han basado en hipótesis filogenéticas explícitas, sino en la valoración intuitiva de algunos caracteres morfológicos florales (Salazar *et al.*, 2003).

Salazar (2003a, b) y Salazar *et al.*, (2003) efectuaron un análisis cladístico de la subtribu Spiranthinae usando secuencias de ADN, en estas investigaciones discuten las clasificaciones previas, cuestionando algunos de los caracteres morfológicos usados anteriormente. Estos autores concluyen que Spiranthinae es un grupo monofilético si se excluye a *Galeottiella* (Salazar *et al.*, 2002, 2003). Proponen que Spiranthinae está conformada por cuatro linajes principales, referidos como el clado *Stenorrhynchos*, clado *Pelexia*, *Eurystyles* y clado *Sphiranthes*. Dichos estudios también mostraron que algunos géneros no son monofiléticos, como se les delimita en clasificaciones previas, y señalan que existen problemas derivados de una falta de información o interpretación inadecuada de los caracteres morfológicos en los que se han basado (Salazar, 2003a; Salazar *et al.*, 2003).

## II. ANTECEDENTES

El género *Dichromanthus*, perteneciente al clado *Spiranthes* de la subtribu Spiranthinae, fue propuesto por Garay (1982) para incluir a *Spiranthes cinnabarina* (Fig. 2A).

De acuerdo con Garay (1982) esta especie no puede estar en el género *Spiranthes* debido a las características distintivas con las que cuenta en la columna, que consisten en un remanente rostral truncado, delgado y flexible que se observan después de la remoción del viscidio. Estas características lo diferencian de los miembros del género *Stenorrhynchus*, que poseen un remanente rostral cartilaginoso, rígido y agudo. Garay (1982) y Szlachetko (1991) en sus clasificaciones colocan a *Dichromanthus* como un género monotípico. Balogh y Greenwood (1981) lo nombraron *Cutsis* y de igual manera lo consideran un género monotípico.

Recientemente Salazar (2003a) y Salazar *et al.* (2003) propusieron la inclusión de *Stenorrhynchus aurantiacus* (Fig. 2B) y *Stenorrhynchus michuacanus* (Fig. 2C) en el género *Dichromanthus* llamándolos *D. aurantiacus* y *D. michuacanus*. Estas dos especies eran ubicadas previamente en el género *Stenorrhynchus* por poseer un remanente rostral puntiagudo y duro, aunque no tan rígido ni cartilaginoso como en el resto de las especies de este género. También Salazar (2003a) señala que *Dichromanthus* es un género monofilético cercanamente relacionado con el género *Deiregyne*, indica que de dentro de *Dichromanthus*, *D. cinnabarinus* es hermano del clado formado por *D. aurantiacus* y *D. michuacanus*.

En este trabajo se siguió la propuesta taxonómica de Salazar (2003a) y Salazar *et al.* (2003) de incluir en el género *Dichromanthus* a tres especies: *Dichromanthus cinnabarinus*, *D. aurantiacus* y *D. michuacanus* (Figs. 2A, B, C). El género se distribuye desde el sureste de los Estados Unidos de América a través de las montañas de México, Guatemala, El Salvador y hasta Honduras. Todas las especies presentan características ecológicas,

vegetativas y florales similares, habitan preferentemente en tierras altas, con períodos marcados de sequía estacional, son terrestres o litófitas. Son plantas erectas, comúnmente con hojas formando una roseta basal, caulinares, vaginadas de color verde grisáceo pero más pálidas en el envés, presentes en la parte baja y media del tallo durante la época de floración. Las raíces son fasciculadas cilíndrico-fusiformes; y la inflorescencia es espigada, glabra en la base y densamente pubescente por arriba, tiene prominentes brácteas florales. Las flores horizontales o ligeramente descendientes son erectas tubuladas, llamativas, de dos colores: rojas y anaranjadas en *D. cinnabarinus*, anaranjadas y amarillas en *D. aurantiacus*; blancas a amarillo limón con venas pronunciadas de color verde oscuro en *D. michuacanus* (Figs. 2A, B, C), con los sépalos libres recurvados cerca del ápice, densamente pubescentes externamente, con pétalos decurrentes hasta el pie de la columna y con sus bases en contacto con la base del labelo, la columna es claviforme, recta, centralmente pubescente (Salazar, 2003b). *Dichromanthus cinnabarinus* y *D. aurantiacus* presentan polinización efectuada por colibríes, mientras que *D. michuacanus* presenta polinización efectuada por abejas del género *Bombus* (Salazar, 2003b).

Las estructuras de la columna principalmente, el rostelo y el viscidio, usadas y valoradas de manera intuitiva por Garay (1982), Balogh (1982) y Szlachetko (1991) en sus clasificaciones de Spiranthinae y del género *Dichromanthus*, están íntimamente ligadas a la polinización. Debido a esto, no es claro si cierta condición compartida por dos o más taxones puede ser atribuida a la herencia de un ancestro común inmediato o si ha sido adquirida a través de modificaciones paralelas, como resultado de compartir el mismo grupo de polinizadores (Salazar, 2003a); por lo cual, es importante contar con trabajos de desarrollo floral que proporcionan información ontogenética que ayuda a comprender mejor la evolución de caracteres, en este caso especialmente sobre la columna de esta subfamilia los cuales son escasos y sólo se han elaborado dos trabajos de desarrollo floral de algunos miembros de la subtribu Spiranthinae.

Con respecto a las investigaciones sobre desarrollo floral, principalmente sobre la ontogenia de la columna, solo se han elaborado dos trabajos en la subtribu *Spiranthinae*.

Rasmussen (1982) describió la morfología floral adulta de la columna en seis géneros de *Spiranthinae* y el trabajo elaborado por Kurzweil (1988) comprende de manera somera el desarrollo floral de dos especies de los géneros *Cyclopogon* y *Sarcoglottis*. Rasmussen (1982) y Kurzweil (1988) incluyeron una muestra muy pequeña de géneros y especies de la subtribu, y sus investigaciones carecen de una descripción detallada del desarrollo de la columna y las estructuras (rostelo y viscidio) que típicamente tienen valor como caracteres taxonómicos en las clasificaciones.

### III. JUSTIFICACIÓN

Ya que el uso de los caracteres morfológicos florales en las clasificaciones de la subtribu *Spiranthinae* hechas por Garay (1982), Balogh (1982, 1986) y del género *Dichromanthus* propuestas por Garay (1982), Balogh y Greenwood (1981) y Szlachetko (1991) han carecido de sustento en estudios de desarrollo y morfología floral; y debido a que *Dichromanthus cinnabarinus* presenta un rostelo y viscidio distintivo al de las otras especies de este género, es importante conocer ¿Cómo es el desarrollo de la columna así como la diferenciación del rostelo y viscidio en esta especie, desde etapas tempranas hasta la antesis? Dicha información permitirá discutir la evolución de estos caracteres y su validez en el contexto sistemático actual del género *Dichromanthus* y sirva como base para futuras comparaciones del desarrollo de estos caracteres en la subtribu *Spiranthinae*.

#### **IV. OBJETIVO GENERAL**

Documentar la secuencia de desarrollo de la columna de *Dichromanthus cinnabarinus* con énfasis en la ontogenia del rostelo y el viscidio, desde etapas tempranas del botón floral hasta la antesis.

##### **4.1 Objetivos Particulares**

1. Documentar el desarrollo del rostelo y viscidio de *Dichromanthus cinnabarinus* mediante microscopía de luz y microscopía electrónica de barrido.
2. Comparar los resultados obtenidos con los de trabajos previos sobre el desarrollo de la columna en especies de la subtribu Spiranthinae.

## **V. MATERIALES Y MÉTODOS**

### **5.1 Material biológico**

Las inflorescencias con botones florales en desarrollo y flores de *Dichromanthus cinnabarinus* (Fig. 2D-H), se obtuvieron de plantas provenientes de la Reserva Ecológica del Pedregal de San Ángel en Ciudad Universitaria y del Parque Ecológico Cuicuilco, ambos sitios del Distrito Federal y de una inflorescencia de una planta proveniente del Cañón del Sumidero, Chiapas.

### **5.2 Fijación**

Cada inflorescencia colectada fue disectada, separando los botones florales en desarrollo y flores (Fig. 2I) para ser fijados en FAA (10 : 5 : 50 : 35 formol, ácido acético glacial, etanol 96° y agua; López *et al.*, 1998) durante 72 horas a temperatura ambiente. El material fijado fue deshidratado en una serie gradual de diluciones de etanol al 30%, 50%, 70%, 85%, 96%, 100% y 100%. El tiempo de deshidratación de dos horas en cada dilución como lo sugieren López *et al.* (1998) fue modificado a una hora con quince minutos ya que se observó que el material por su fragilidad mostraba daños.

Parte del material se utilizó para ser observado al microscopio electrónico de barrido y otra parte para ser incluida en paraplast.

### **5.3 Microscopía electrónica de barrido**

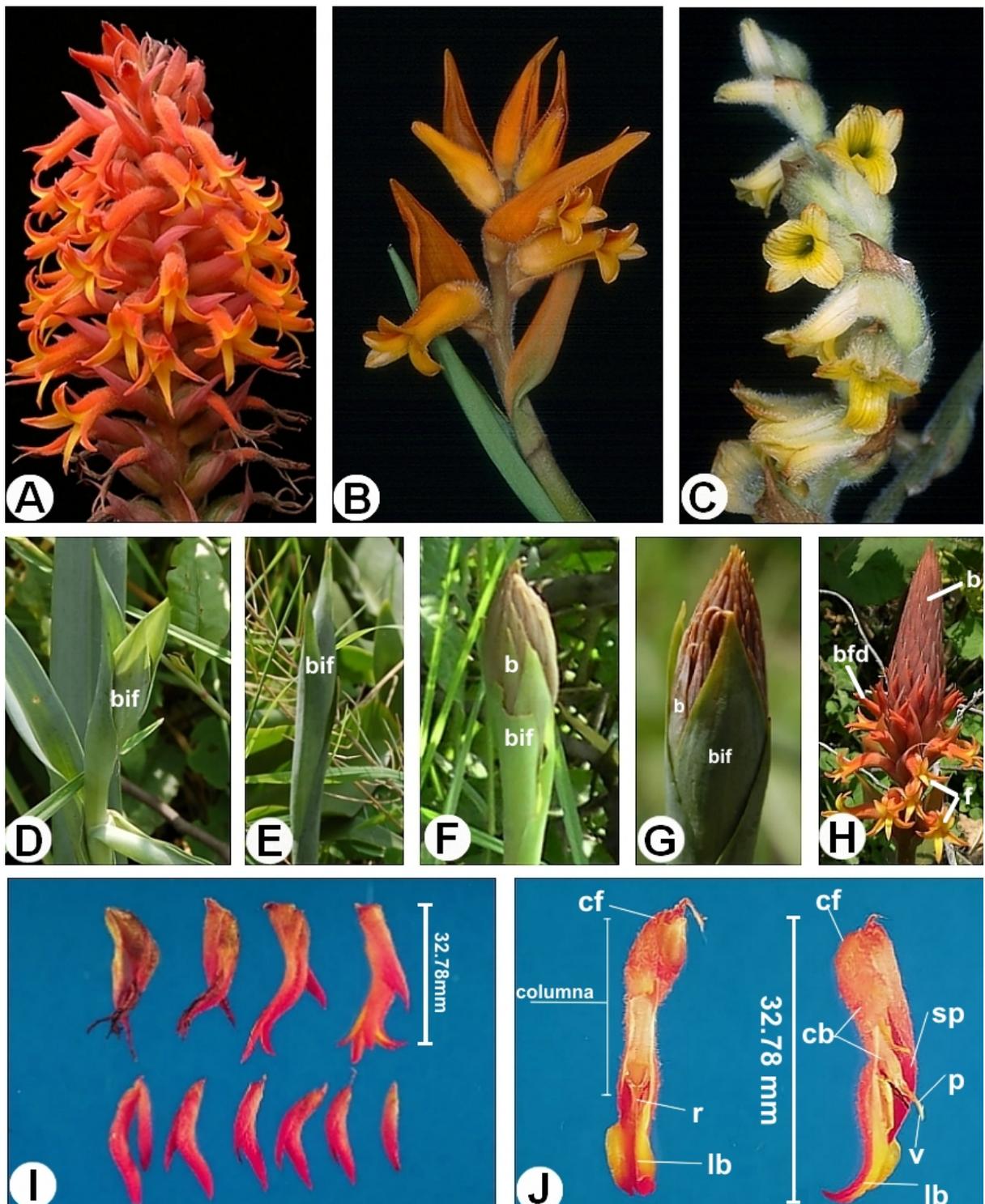
Para observar el desarrollo la columna a los botones y flores en diferentes etapas del desarrollo les fueron retirados los sépalos y pétalos (Fig. 2J). El material así disectado, fijado en FAA y posteriormente deshidratado fue secado a punto crítico en una desecadora CPD-030 Bal-tec, montado y recubierto con oro en una ionizadora Denton Vacuum Desk II. Las muestras fueron observadas en el microscopio electrónico de barrido Jeol JSM5310LV en dos voltajes 10 kV y 15 kV. El registro fotográfico se hizo en placas fotográficas T-MAX 100

Film Kodak profesional de 4 x 5 pulgadas, una vez reveladas las placas, éstas fueron digitalizadas en un escáner HP PSC 1410 a 200 dpi.

#### **5.4 Microscopía de luz**

Los botones florales deshidratados fueron transferidos a una mezcla de xilol-paraplast 1:1 y posteriormente paraplast puro durante 24 horas, respectivamente, dentro una estufa a una temperatura entre 58° y 65°C. Una vez que el tejido estuvo infiltrado por paraplast puro fue incluido en cubos metálicos con paraplast con la orientación requerida. Los bloques fueron cortados en un microtomo de rotación AO 812 a 8 µm de grosor y en algunos casos a 4 µm y 3 µm para observar más detalle de algunas estructuras. Las secciones obtenidas se adhirieron al portaobjetos, se eliminó de ellos el paraplast y luego se llevó a cabo la tinción doble de safranina-verde rápido en metilcelosolve (López *et al.*, 1998).

Las preparaciones teñidas y seleccionadas fueron fotografiadas usando película de transparencias Kodak Ektachrome 100 plus con Fotomicroscopio Olympus MOD Provis AX70 en el Laboratorio de Microcine de la Facultad de Ciencias de la UNAM.



**Figura 2. Inflorescencias y botones florales de *Dichromanthus*.** **A:** Inflorescencia de *Dichromanthus cinnabarinus* (fotografía B. Valencia). **B:** Inflorescencia de *D. aurantiacus* (fotografía B. Valencia). **C:** Inflorescencia de *D. michuacanus* (fotografía G.A. Salazar). **-D-H:** Inflorescencias de *D. cinnabarinus* en distintas etapas de desarrollo (fotografías B. Valencia). **I:** Botones florales disectados de la inflorescencia en distintas etapas de desarrollo (fotografía A. Martínez Mena). **J:** Botones florales con sépalos y pétalos removidos para facilitar la observación de la columna (fotografía A. Martínez Mena). **b** = bráctea floral; **bfd** = botón floral en desarrollo; **bif** = bráctea de la inflorescencia; **cb** = cuerpo de la columna; **cf** = pie de la columna; **lb** = labelo; **p** = polinio; **sp** = sépalo; **r** = rostelo; **v** = viscidio.

## VI. RESULTADOS

### 6.1 Morfología floral

Los primordios florales se desarrollan en cada axila de las brácteas de la inflorescencia, surgiendo como una protuberancia de tejido meristemático en forma de domo. Posteriormente hay una depresión en la parte central del meristemo floral y surgen los primordios de los sépalos que se elevan por arriba del nivel de la parte central del meristemo floral, se diferencian dos sépalos laterales, y un sépalo dorsal (Fig. 3A). Los siguientes segmentos del perianto que comienzan a diferenciarse son los pétalos, uno medio y dos laterales. El pétalo medio a su vez se diferencia en una estructura de distinta forma a los otros dos pétalos llamada labelo, ubicada entre los primordios de los sépalos laterales y ligeramente por encima de la parte central y apical del primordio floral (Figs. 3A, B).

Posteriormente en el borde del sépalo dorsal surge el primordio de la única antera, se observa paralela al labelo (Fig. 3A). Los primordios de las otras dos anteras degeneran, y sus vestigios son denominados estaminodios, que en esta investigación no fueron observados debido al procesamiento del material, ni considerados para su estudio en las etapas tempranas del desarrollo

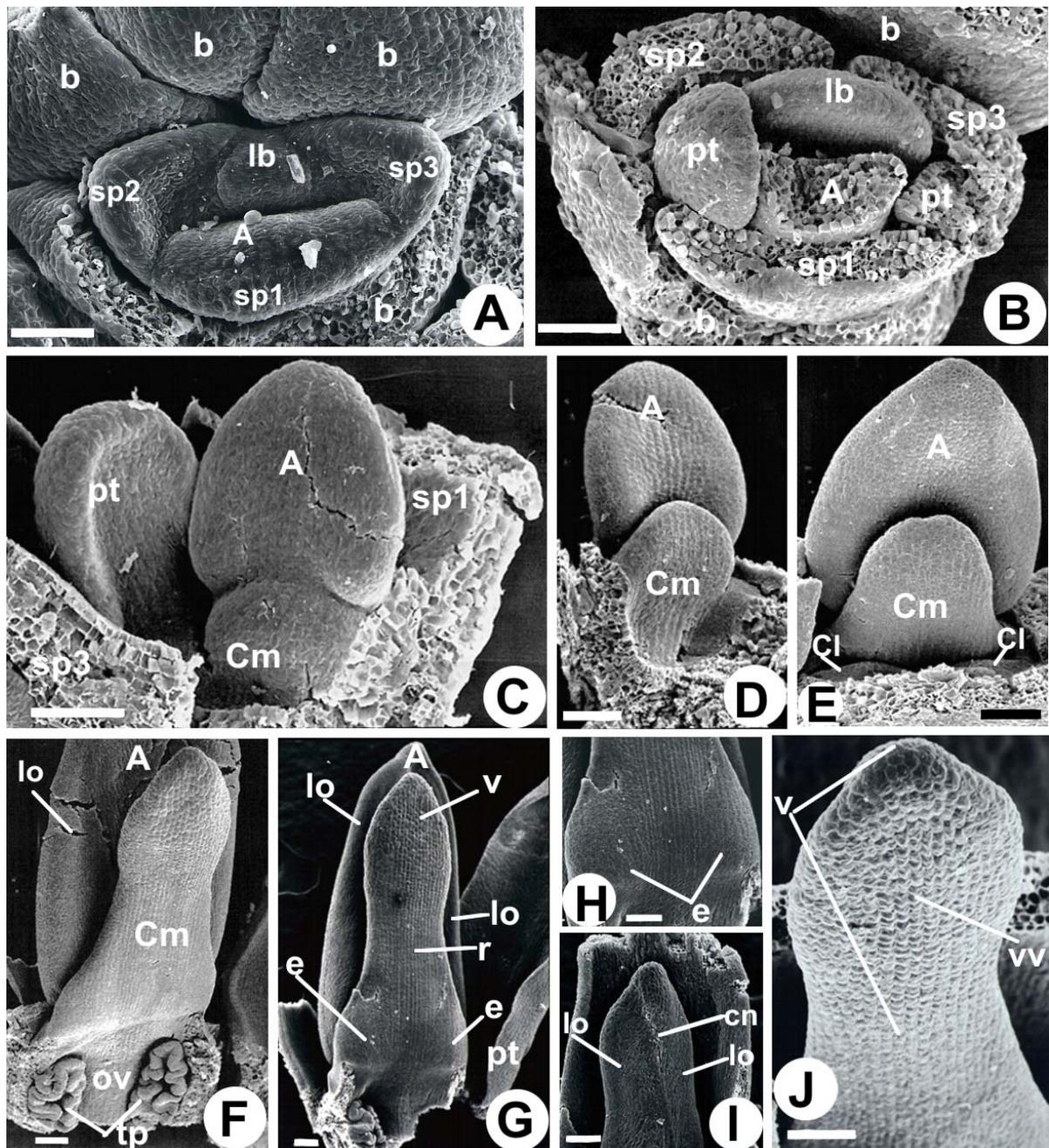
El gineceo es tricarpelar, se encuentra fusionado con el filamento de la antera funcional formando una estructura denominada columna, en cuyo extremo distal se encontrarán la antera y el estigma. Una vez que se ha diferenciado el ovario, las partes apicales de cada carpelo sobresalen independientemente por arriba del nivel de este mismo, y en lugar de formar un típico estilo se desarrollan independientemente en dos carpelos laterales y un carpelo medio. Este crece con mayor rapidez que los laterales, se observa justo debajo del primordio de la antera (Fig. 3C), y se diferencia en una estructura plana con forma de lengua verticalmente paralela y ligeramente doblada hacia a la antera misma que en esta etapa muestra una forma panduriforme (Fig. 3D)

Los primordios de los carpelos laterales se observan como pequeñas prominencias, éstas son escasamente visibles apenas por arriba del nivel del ovario, y el carpelo medio

adquiere una forma más o menos trapezoide y se alarga conspicuamente (Fig. 3E). La antera vista ventralmente en esta etapa muestra la diferenciación de dos zonas laterales, los futuros microesporangios se encuentran ligeramente doblados de las orillas hacia el centro. Posteriormente el carpelo medio continúa ensanchándose en su parte media y alargándose en su ápice, se puede observar por debajo de su base la cámara ovárica con tejido placentario (Fig. 3F).

Sucesivamente en la base del carpelo medio surgen dos protuberancias laterales que corresponden al inicio de los lóbulos estigmáticos, estas protuberancias constituirán la parte receptiva del estigma (Figs. 3G, H y véase también la Fig. 6B). Por arriba de estas protuberancias, el carpelo medio se ensancha considerablemente dando origen a la porción del rostelo que es una parte no receptiva del lóbulo medio del estigma (Fig. 3G). A su vez, en el ápice del rostelo lateralmente se forman dos bordes celulares conspicuos que se diferencian en una estructura llamada viscidio (Figs. 3G, J). En este mismo momento del desarrollo la antera vista dorsalmente tiene su ápice agudo y dos lóbulos con tejido conectivo entre ellos. (Fig. 3I).

Durante la subsecuente etapa de desarrollo el ápice del rostelo tiene forma elíptica y experimenta un abultamiento dorsal que corresponde al viscidio (Figs. 4A-C). En este se observan dos zonas marcadas: la dorsal (hacia la antera) con células redondeadas ovadas muy compactadas unas junto a otras (Fig. 4C); y la zona ventral (hacia el labelo), que muestra células aplanadas de forma poligonal con paredes anticlinales con textura ligeramente sinuosa. Estas células ventrales parecen dar lugar al tejido secretor del viscidio que pegará el polinio al polinizador durante la polinización (Figs. 4B, C). En esta misma etapa, los carpelos laterales se han fusionado por completo entre sí y forman un reborde en la base de la parte receptiva del estigma, en ese mismo momento se observa la apertura del canal estilar (Fig. 4E). El labelo en esta etapa presenta células epidérmicas abultadas en su superficie (Fig. 4D), éstas células a través de las etapas posteriores se desarrollaran dando origen a abundantes tricomas (Fig. 6B).



**Figura 3. Desarrollo floral de *Dichromanthus cinnabarinus*.** **A:** Diferenciación de los primordios de los sépalos, labelo y la antera. Las brácteas fueron retiradas. **B:** Diferenciación de los pétalos laterales. **C:** Primordio de la antera y desarrollo inicial del carpelo medio (solo se conservó un pétalo como referencia, los demás segmentos fueron retirados). **D:** Elongación gradual del carpelo medio. **E:** Primordios de los carpelos laterales, se muestra el alargamiento gradual del carpelo medio y de la antera. **F:** Ensanchamiento de la parte media del carpelo medio, los carpelos laterales fueron removidos para permitir la observación del ovario con tejido placentario. **G:** Diferenciación del rostelo a partir de la parte media ensanchada del carpelo medio, diferenciación de dos protuberancias en la base del carpelo medio. **H:** Acercamiento a las protuberancias en la base del carpelo medio que darán inicio a una parte de los lóbulos estigmáticos. **I:** Se observa la vista dorsal de la antera con su ápice agudo, dos lóbulos y tejido conectivo entre ellos. **J:** Diferenciación del viscidio en el ápice del rostelo. **A-B,** en posición no resupinada; **C-J,** en posición resupinada. Barras de referencia = 100  $\mu$ m. **A** = antera; **b** = bráctea; **Cl** = carpelos laterales; **Cm** = carpelo medio; **cn** = tejido conectivo de la antera; **e** = estigma; **lb** = labelo; **lo** = lóbulo de la antera; **ov** = ovario; **pt** = pétalo; **r** = rostelo; **sp1** = sépalo dorsal; **sp2** y **sp3** = sépalos laterales; **tp** = tejido placentario; **v** = viscidio; **vv** = viscidio en su porción ventral.

En una etapa posterior del desarrollo la parte media del rostelo se alarga aún más provocando que el viscidio entre en contacto con la antera (Fig. 4F). La zona de desprendimiento entre el rostelo y el viscidio es una zona donde las células de este último con forma poligonal y textura sinuosa indican el futuro sitio de desprendimiento al ser removido por el polinizador. La diferencia estructural entre el rostelo y el viscidio están dadas por las características de las células epidérmicas. Las del rostelo tienen forma oblonga con las paredes anticlinales anguladas (Figs. 4E, G) y las del viscidio en su parte ventral (orientadas hacia el labelo) son aplanadas de forma poligonal con textura ligeramente sinuosa (Fig. 4H).

En la antesis, en los esporangios de la antera, el polen se ha desarrollado por completo en su interior, las tétradas se agregan en unos cuerpos más o menos sólidos denominados polinios, los cuales se hayan sulcados en su parte media y están unidos en su parte apical con el viscidio (Figs. 4I y 5D,E). En conjunto, a los polinios más su apéndice (viscidio) se le denomina polinario (Fig. 5D, E).

Al momento de la antesis por debajo de la zona del estigma la superficie ventral de la columna muestra abundante pubescencia (Figs. 5A, B) y en sus extremos laterales distales se observa un estaminodio erecto con forma ovada aguda (Fig. 5A). Por encima de la zona pubescente de la columna se encuentra la zona funcional del estigma que es elíptica, con el ápice bilobado y la base truncada (Figs. 5A, B). En esta misma etapa, debido a la fusión que experimentaron los carpelos laterales entre sí y con el carpelo medio no se observan vestigios de ellos ni se aprecia el canal estilar.

Por arriba del estigma se observa el rostelo de forma triangular, ligeramente más ancho de la base y erecto, en cuya parte distal se diferencia el viscidio que es oblongo. En las muestras observadas de esta etapa y debido al procesamiento de desecación, el viscidio se separó del rostelo (Fig. 5A) como naturalmente lo haría al ser removido por el polinizador llevando consigo los polinios. La zona de desprendimiento que resulta de la remoción del viscidio es denominada remanente rostelar, tiene forma de muesca, la zona hundida debajo

de ella indica el sitio de inserción de la parte basal del viscidio (Fig. 5C). Esta parte basal del viscidio tiene una forma más aguda hacia su base (Figs. 5D, E, F) y está unida en su ápice a los polinios (Fig. 5E).

## 6.2 Anatomía floral

En cortes transversales de botones florales a varios niveles desde el ápice hacia la base, a nivel apical del botón floral se observó el desarrollo de los sépalos laterales, pétalos y el labelo (Fig. 6A) que presentan una gran cantidad de rafidios.

En un nivel medio del botón, por arriba del labelo se encuentra la antera bilobulada y tetrasporangiada pero aún inmadura (Fig. 6C); este estadio corresponde aproximadamente al mostrado en las figuras 3F y 3G) Las células al interior de los microesporangios (probablemente las células madres de las microsporas) se encuentran poco diferenciadas, estas células están dispuestas de manera comprimida y con sus paredes celulares sin engrosamientos, ya que no se encuentran intensamente teñidas de rojo (por la safranina que es un colorante básico con iones positivos que indicaría presencia de lignina, de nucléolos o de cromatina).

Siguiendo hacia la base del botón floral se observó una estructura al centro de éste, que corresponde a la parte apical del rostelo que se está diferenciando en el viscidio (Fig. 6C y estadio correspondiente al mostrado en las Figs. 3F, G). El viscidio tiene una epidermis monoestratificada, después se aprecian estratos de células muy compactos con núcleos conspicuos y en la parte interna del viscidio se observan varias capas de células parenquimatosas (Fig. 6C y 7C).

El viscidio, en su parte apical (estadios aproximadamente equivalentes a Figs. 3 F-G, I) se nota con forma triangular redondeada en los vértices y no se observa una diferenciación de capas celulares, sólo se distingue al centro que las células son más pequeñas y en paquetes apretados. Las células que están hacia epidermis del viscidio

tienen grandes núcleos (Fig. 7A). Solo en cortes de la parte media del viscidio se observó que hay una diferenciación de dos tipos celulares; al centro de la estructura se presenta una zona con células parenquimatosas, mientras que, en las orillas hacia su parte ventral hay una zona con células de menor tamaño, ovaladas y con grandes núcleos (Figs. 7C, E). Estas células de la parte ventral comienzan a diferenciarse en las células secretoras del viscidio (Fig. 7C).

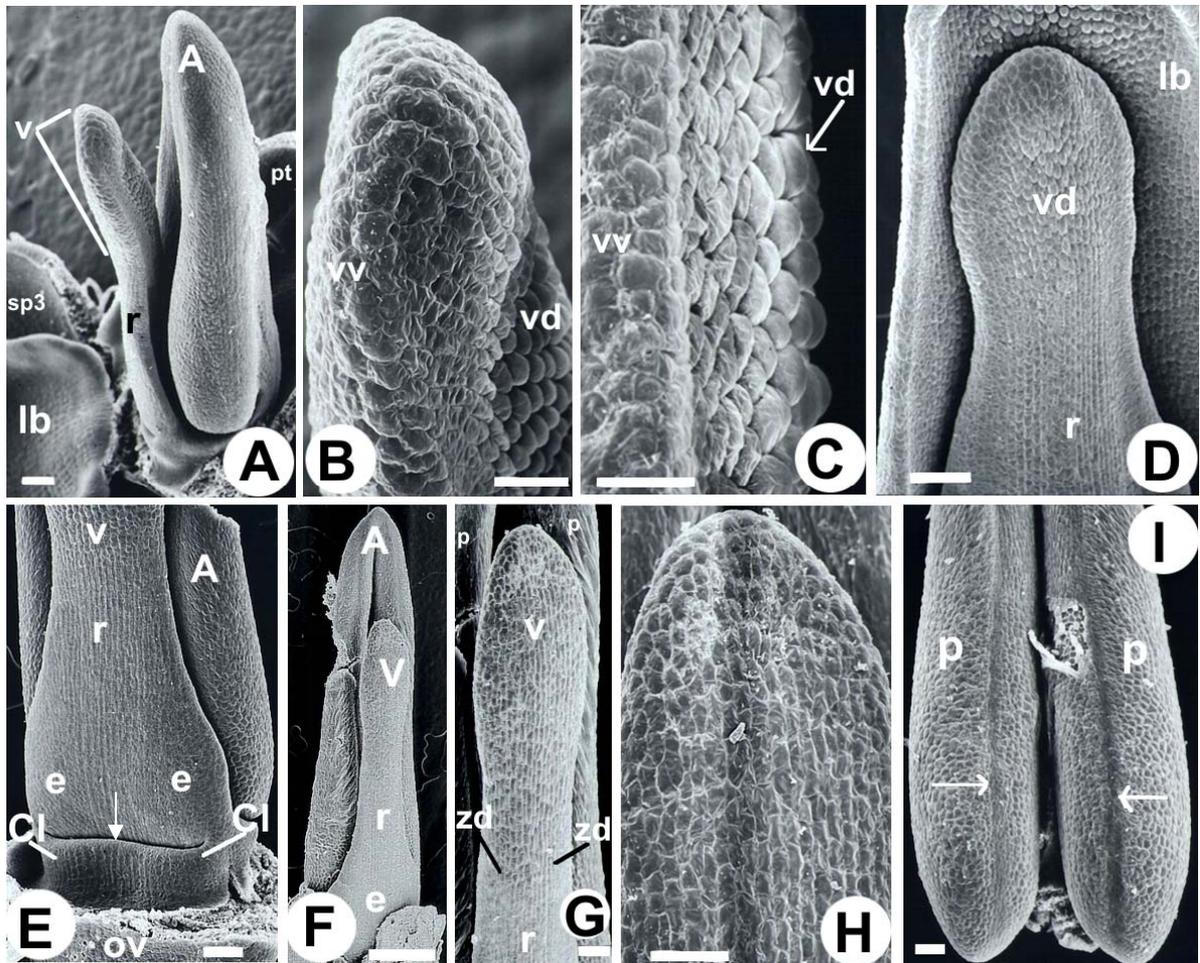
En el siguiente nivel del corte entre el ápice y la base del botón se siguen distinguiendo los sépalos, y se observa claramente la antera. La estructura frente a ella corresponde ahora a la parte media del rostelo (Figs. 8 A, B). El rostelo es una estructura más delgada que el viscidio y cuenta con células parenquimáticas, con un haz vascular central.

Posteriormente en el siguiente nivel del corte este mismo tejido parenquimatoso con un haz vascular parecido al del rostelo se encuentra por detrás del primordio de la zona funcional del estigma, el cual tiene células intensamente teñidas de verde, menos diferenciadas y de diferente forma (Figs. 6E y 8C, D; estadio correspondiente al mostrado en la Fig. 3H). El primordio del estigma receptivo consiste de tres capas celulares: la epidermis monoestratificada con células cúbicas de grandes núcleos y las dos capas más internas con células esféricas con grandes núcleos y citoplasma denso (Figs. 8C, D).

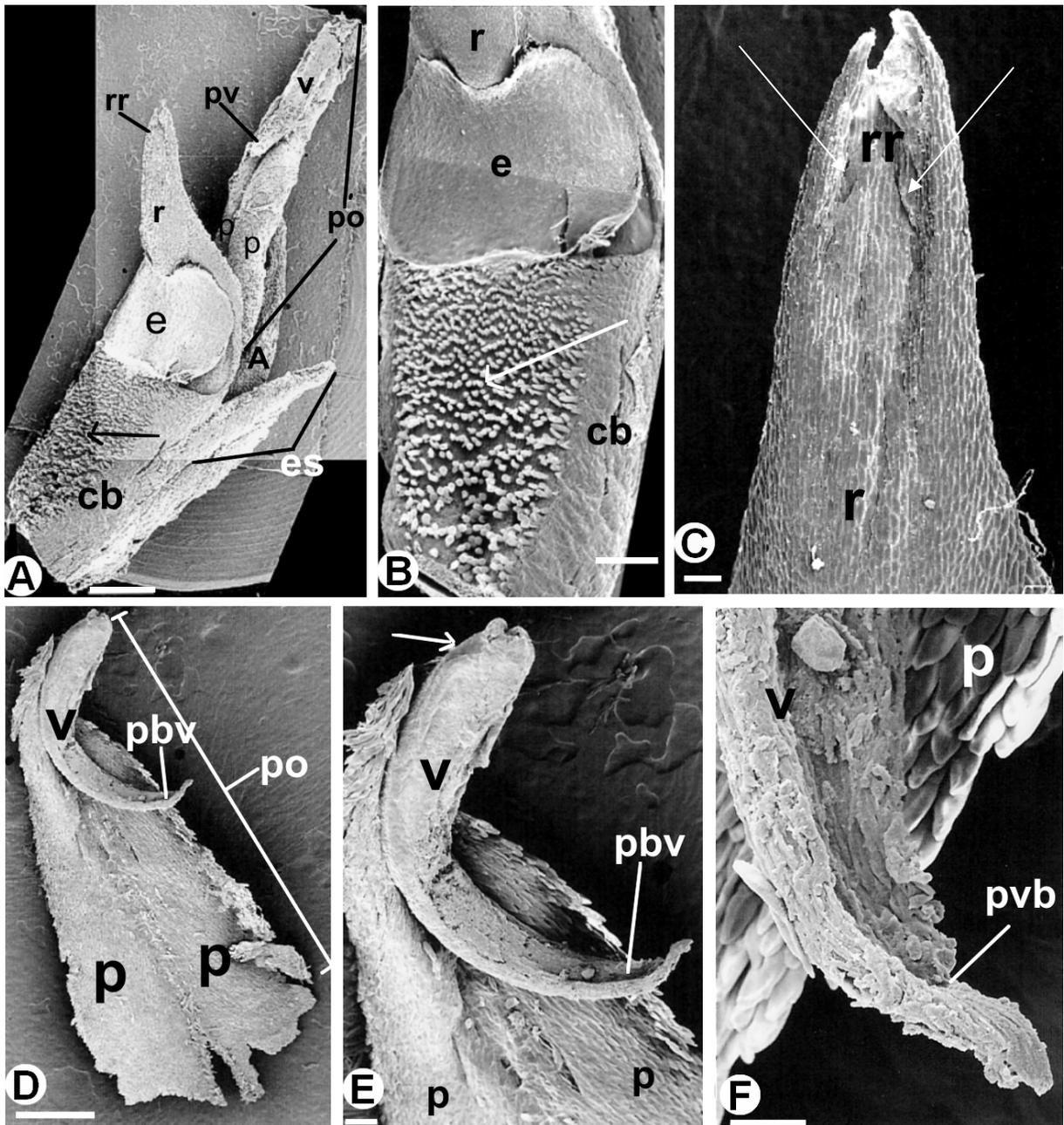
En las etapas del desarrollo cercanas a la antesis (estadio anterior al mostrado a la Fig. 5) en los cortes transversales de botones florales se observaron de la periferia hacia el interior que los sépalos laterales, el labelo y los pétalos con tricomas de gran tamaño y rafidios en su interior. El ápice de la antera se encuentra por arriba del labelo, y ligeramente orientado hacia la parte dorsal del botón floral (Fig. 6B).

En el siguiente nivel del botón (descendiendo del ápice a la base) observamos la antera con forma bilobulada y tetrasporangiada. El viscidio se encuentra en el centro (Fig. 6D). El ápice del viscidio tiene forma triangular, se ubica entre los lóbulos de la antera y el labelo, es más aplanado hacia la cara exterior, orientada a la porción ventral del botón. El

ápice del viscidio tiene una epidermis monoestratificada y resalta la cantidad de células de gran tamaño con núcleos bastante conspicuos que se ubican debajo de ella por toda la estructura (Fig. 7B).



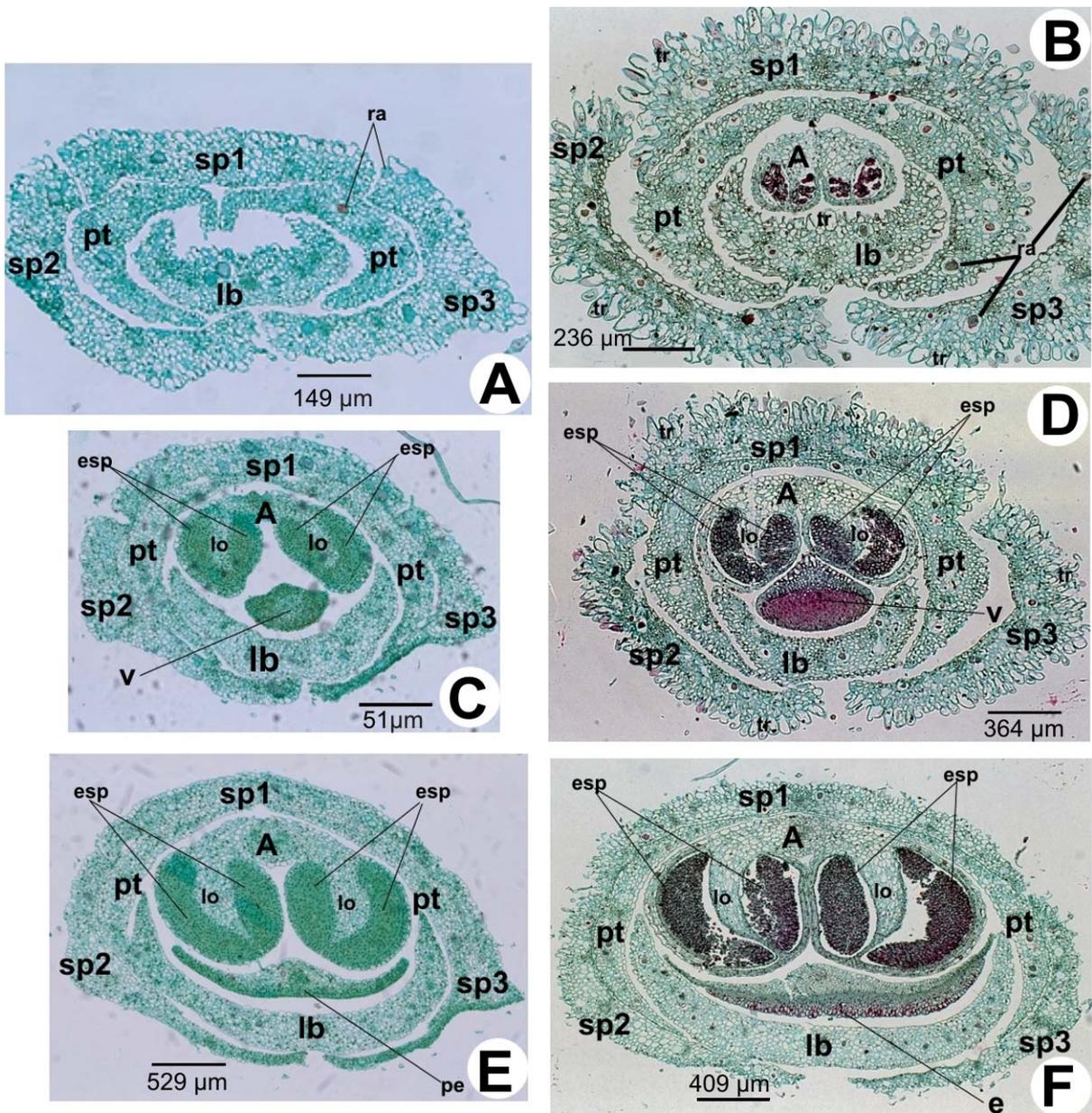
**Figura 4. Desarrollo floral de *Dichromanthus cinnabarinus*.** **A:** Vista lateral de la antera, rostelo y viscidio. **B:** Acercamiento del ápice del viscidio en vista lateral se aprecia la epidermis con dos zonas distintas. **C:** Ápice del viscidio se observa la zona ventral con células epidérmicas poligonales, aplanadas y con textura sinuosa (dan origen al tejido secretor), y la zona dorsal tiene células epidérmicas redondas compactadas unas con otras. **D:** Vista dorsal del rostelo y el viscidio la estructura ubicada por detrás es el labelo. **E:** Carpelos laterales fusionados entre sí y con los extremos de la base del carpelo medio, se muestra la apertura del canal estilar (flecha blanca). **F:** Elongación y ensanchamiento del rostelo. **G:** Zona de contacto y desprendimiento entre el rostelo y el viscidio. **H:** Vista ventral del viscidio. **I:** Vista dorsal de la parte media y basal de los polinios, se observan sulcados longitudinalmente (flechas). Barras de referencia: A, D, E, F, H, I = 100  $\mu\text{m}$ ; B-C = 50  $\mu\text{m}$ ; F = 500  $\mu\text{m}$ . **A** = antera; **Cl** = carpelos laterales; **e** = estigma; **lb** = labelo; **ov** = ovario; **p** = polinio; **pt** = pétalo; **r** = rostelo; **sp3** = sépalo lateral; **v** = viscidio; **vd** = viscidio en su porción dorsal; **vv** = viscidio en su porción ventral; **zd** = zona de desprendimiento.



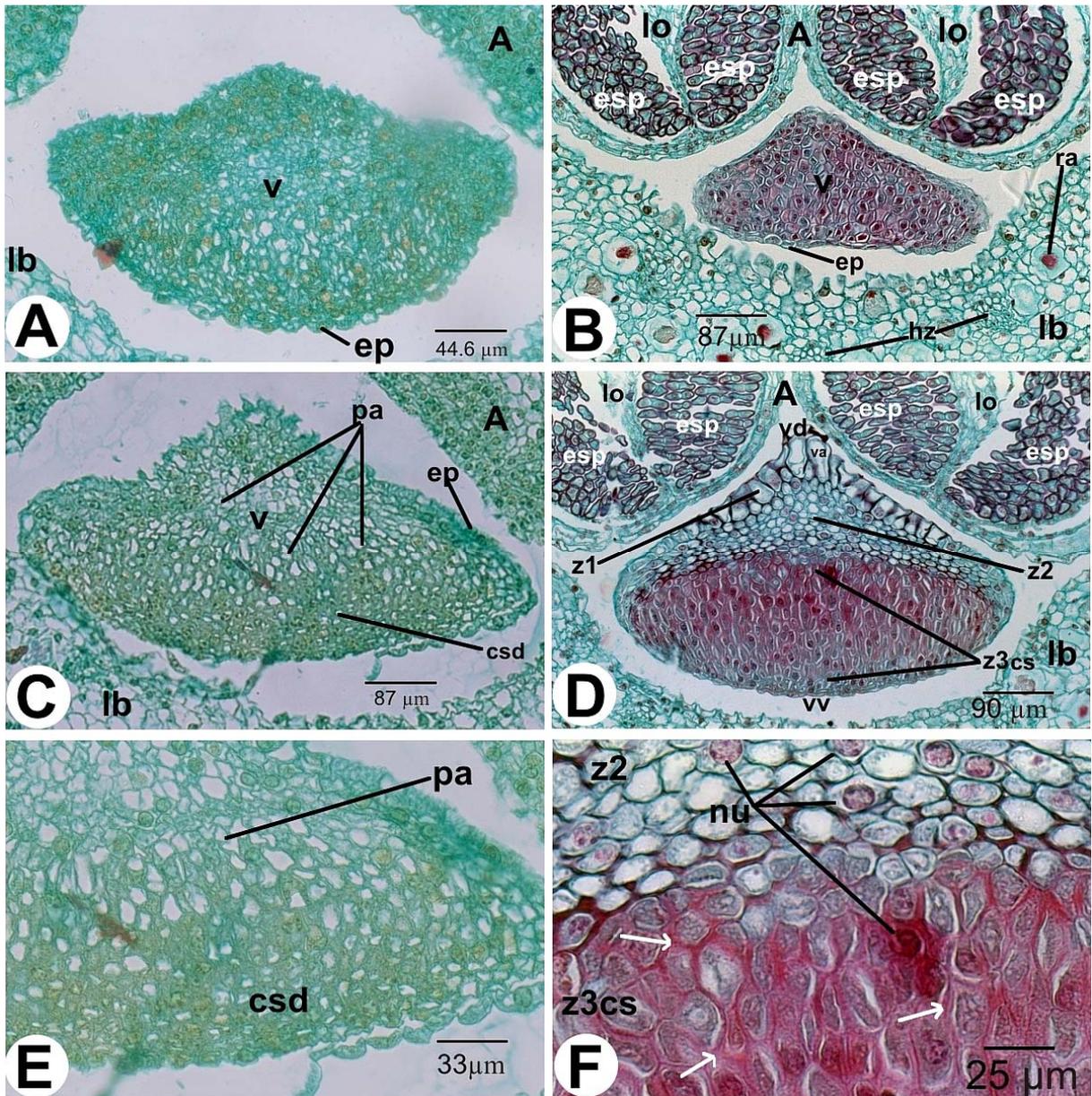
**Figura 5. Desarrollo floral de *Dichromanthus cinnabarinus* en flores en antesis. A:** Columna completamente diferenciada y desarrollada, debido al proceso de desecación, el polinario (viscidio más polinios) se separó del rostellum como naturalmente sería removido por el polinizador. **B:** Acercamiento a la columna mostrando la abundante pubescencia (flecha), también se muestra el estigma bilobado. **C:** Acercamiento al rostellum y remanente rostellar (zona resultante del desprendimiento del viscidio) en forma de muesca (flechas blancas). **D:** Vista ventral del polinario (viscidio más los polinios tras su separación del rostellum), los polinios se encuentran rotos por el proceso de desecación. **E:** Acercamiento del ápice de los polinios unidos al viscidio (flecha) y su porción basal. **F:** Acercamiento de la porción basal del viscidio insertada en el rostellum. Barras de referencia: A = 1  $\mu\text{m}$ ; B y D = 500  $\mu\text{m}$ ; C y E = 100  $\mu\text{m}$ ; F = 50  $\mu\text{m}$ . **A** = antera; **cb** = cuerpo de la columna; **e** = estigma; **es** = estaminodio; **p** = polinios; **po** = polinario; **pbv** = parte basal del viscidio; **r** = rostellum; **rr** = remanente rostellar; **v** = viscidio.

En un corte a nivel medio del viscidio se observó que hay una clara división en zonas celulares: la zona que se encuentran orientada hacia la antera tiene un estrato celular, sus células son grandes, irregulares, con sus núcleos desplazados hacia sus orillas debido a la presencia de grandes vacuolas; la zona central ubicada debajo de la anterior tiene aproximadamente de cinco a seis estratos de células esféricas muy compactas entre si y de paredes delgadas; la ultima zona tiene aproximadamente de ocho a diez estratos de células grandes, semiovaladas y elongadas, con un gran núcleo y abundante contenido citoplásmico, sus paredes son más engrosadas con respecto a las células de las zonas anteriores. Por la función del viscidio de producir una sustancia secretora pegajosa para unir los polinios con el agente polinizador, ésta área con células sumamente teñidas de rojo representa la zona de depósito de la sustancia pegajosa, producida por éstas mismas y secretada al espacio intercelular (Figs. 7D, F).

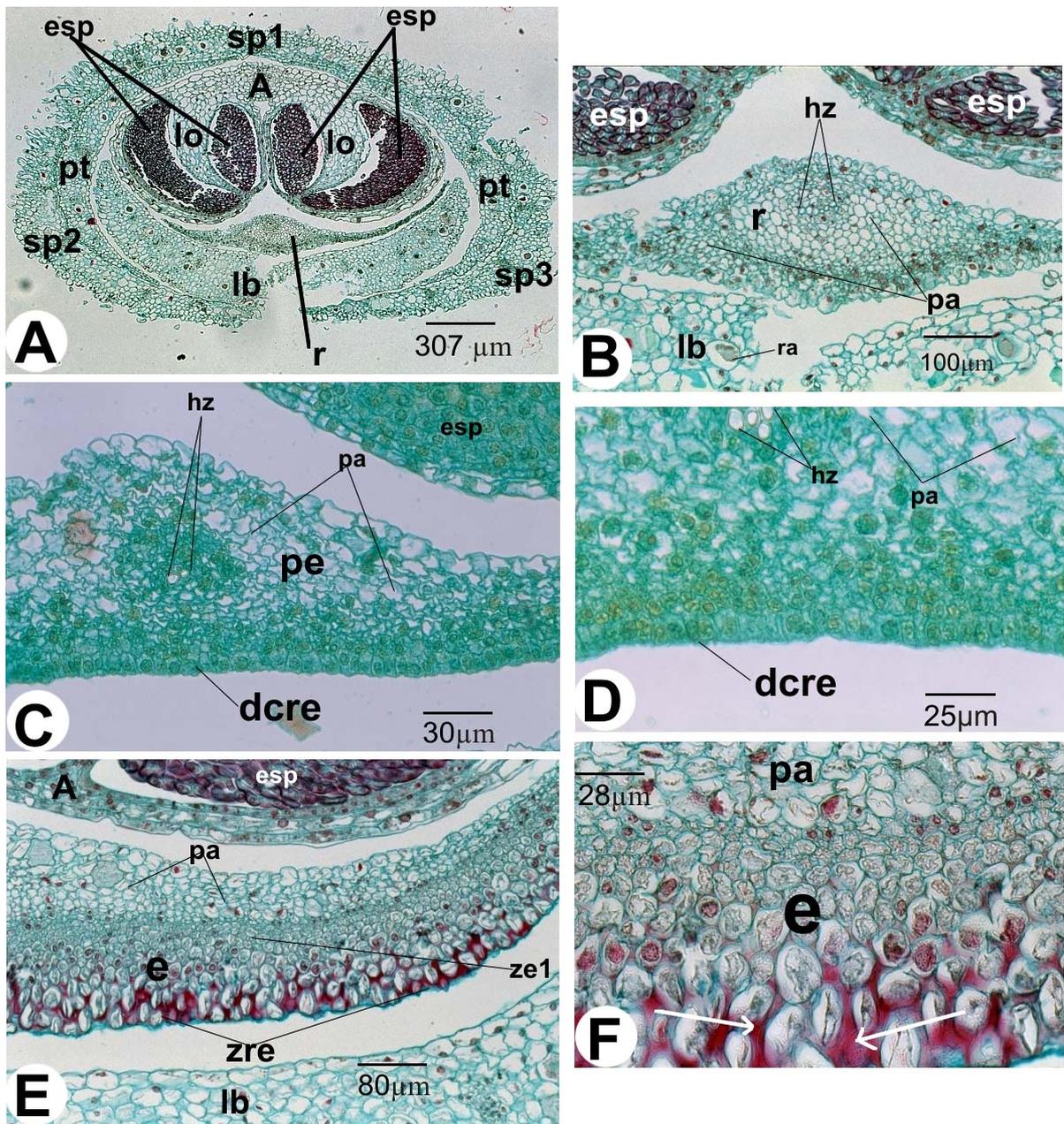
Posteriormente en el siguiente nivel del corte por debajo del rostelo (compuesto principalmente de células parquimatosas y con un haz vascular) se encuentra una zona con aproximadamente tres a cuatro estratos de células alargadas en la superficie, teñidas intensamente de rojo en los espacios intercelulares y con un gran contenido celular. Estas células, corresponden a la zona receptiva del estigma (Figs. 6F, 8E, F). La siguiente zona, tiene aproximadamente cuatro estratos con células de forma cilíndrica, con gran cantidad de vacuolas y grandes núcleos. Cabe destacar que estas últimas células van disminuyendo el diámetro hasta que se distingue nuevamente otro tipo celular parenquimatoso más similar al del rostelo (Figs. 8E, F).



**Figura 6. Anatomía floral de *Dichromanthus cinnabarinus*. Botones florales jóvenes (A, C, E) y botones florales cercanos a la antesis (B, D, F) (cortes transversales del ápice a la base del botón). A:** Porción apical del botón mostrando los verticilos florales. **B:** Porción apical del botón mostrando los tricomas y rafidios en los segmentos florales diferenciados. También se muestra la antera con granos de polen. **C:** Entra la porción apical y media del botón se observa a la antera poco diferenciada, y el inicio de la diferenciación del viscidio. **D:** Entra la porción apical y media del botón se observa la antera bilobulada tetrasporangiada madura y en la parte central, el viscidio con las zonas dorsal y ventral diferenciadas **E:** Porción media del botón mostrando el primordio del estigma. **F:** Porción media del botón cercano a la antesis mostrando estigma. **A** = antera; **e** = estigma; **esp** = esporagio; **lb** = labelo; **lo** = lóbulo de la antera; **pe** = primordio del estigma; **pt** = pétalo; **r** = rostelo; **ra** = rafidio; **sp1** = sépalo dorsal; **sp2** y **sp3** = sépalos laterales; **tr** = tricomas; **v** = viscidio.



**Figura 7. Anatomía del viscidio de botones florales jóvenes (A, C, E) y de botones florales cercanos a la antésis (B, D, F) de *Dichromanthus cinnabarinus* (cortes transversales). A:** El viscidio iniciando su diferenciación con forma triangular en su porción apical. **B:** Porción apical del viscidio se observa la epidermis y al interior una gran cantidad de células de grandes núcleos. **C:** Porción media del viscidio iniciando su diferenciación, se observan una epidermis simple, al interior dos tipos celulares, hacia el centro parenquimatoso y a las orillas comienza a diferenciarse el futuro tejido secretor. **D:** Porción media del viscidio, el viscidio se observa completamente diferenciado en tres zonas celulares distintas, la zona orientada hacia su parte dorsal es un estrato de células con grandes vacuolas; la zona media con aprox. cinco a seis estratos de células redondas compactas entre sí y la zona ventral con aprox. ocho a diez estratos de células secretoras. **E:** Aumento de la zona del viscidio en diferenciación inicial de sus zonas. **F:** Aumento de la parte ventral del viscidio en esta zona esta compuesto de células secretoras con gran cantidad de secreciones depositadas en el espacio intercelular (flechas blancas) **A** = antera; **csd** = células secretoras en diferenciación; **ep** = epidermis; **esp** = esporagio; **hz** = haz vascular; **lb** = labelo; **lo** = lóbulo de la antera; **nu** = núcleo; **pa** = parénquima; **ra** = rafidio; **v** = viscidio; **va** = vacuola; **vd** = viscidio en su porción dorsal; **vv** = viscidio en su porción ventral; **z1** = zona celular del viscidio en su parte dorsal, **z2** = zona celular intermedia del viscidio, **z3cs** = zona celular secretora del viscidio en su parte ventral.



**Figura 8. Anatomía floral del rostelo de botones florales cercanos a la antésis (A, B), del primordio del estigma de botones florales jóvenes (C, D) y del estigma de botones florales cercanos a la antésis (E, F) de *D. cinnabarinus*.** A: Rostelo en la parte central. B: Acercamiento del rostelo con células parenquimatosas y en su parte central un haz vascular. C: Primordio del estigma iniciando su diferenciación. D: Acercamiento a las células del primordio del estigma, se observan un haz vascular, una zona de células parenquimatosas y una zona de células en diferenciación para dar origen a la parte receptiva del estigma. E: Porción del estigma receptivo, se observan tres tipos de células, las orientadas hacia la antera son de tipo parenquimatoso, en la parte media células redondas muy compactas entre sí y la última zona con células intensamente tenidas de rojo en los espacios intercelulares y gran contenido citoplásmico. F: Acercamiento de las células receptoras del estigma (flechas blancas). A = antera; e = estigma; esp = esporangio; hz = haz vascular; lb = labelo; lo = lóbulo de la antera; pa = parénquima; pe = primordio del estigma; pt = pétalo; r = rostelo; ra = rafidio; sp1 = sépalo dorsal; sp2 y sp3 = sépalos laterales, ze1 = zona celular intermedia del estigma; zre = zona receptiva del estigma.

## VII. DISCUSIÓN

El modelo de desarrollo de la columna descrita en este trabajo, es el primero en elaborarse para el género *Dichromanthus* y coincide en lo general con los descritos por Kurzweil (1988) y Rasmussen (1982) para miembros de la subtribu Spiranthinae y cercanos de la subtribu Goodyerinae; sin embargo existen algunas diferencias particulares con estos trabajos previos que se discuten a continuación.

### 7.1 Desarrollo del perianto

En *Dichromanthus cinnabarinus* (Orchidoideae, Spiranthinae) el desarrollo de los primordios florales es una secuencia casi simultánea que inicia con la diferenciación de los primordios de los sépalos, seguida inmediatamente por la diferenciación del primordio del labelo (pétalo modificado), los primordios de los pétalos laterales y el primordio de la antera.

Del mismo modo que lo reporta Kurzweil (1988) en su investigación para otras orquídeas de la subtribu Spiranthinae, en *D. cinnabarinus* el verticilo que se forma después es el primordio carpelar medio y los últimos verticilos que se forman son los primordios de los carpelos laterales, estos parecen atrasados en su desarrollo y tienen una menor elongación que el carpelo medio.

El primordio del carpelo medio es la estructura que más cambios morfológicos y estructurales experimentará a través de su desarrollo y en el que se diferencian las estructuras más complejas de la flor. En la parte basal experimenta una fusión con los carpelos laterales que son muy inconspicuos durante todo el desarrollo. El resultado de esta fusión da origen a la superficie funcional del estigma difiriendo de lo reportado por Kurzweil (1988) para los géneros *Cyclopogon* y *Sarcoglottis* donde este autor señala que se forma completamente de la base del carpelo medio.

De la parte media y apical del carpelo medio se desarrolla el rostelo y a su vez, la porción más apical de éste se diferenciará en el viscidio.

### 7.2 La columna

En la familia Orchidaceae la columna resulta de la fusión de los estambres y el estilo, en su parte distal se encuentra la antera y el estigma. En *Dichromanthus cinnabarinus* la columna es más ancha hacia su base, alargada, comprimida dorsoventralmente con abundancia pubescencia en la base debajo del estigma y flanqueada por dos estaminodios.

### 7.3 Antera

La antera bilobulada y tetrasporangiada permanece erecta (durante todo su desarrollo) y tiene casi la misma longitud que el rostelo como lo observado en *Spiranthes spiralis* descrita por Rasmussen (1982) pero su base es ancha y cordada; el polinario cuenta con un viscidio central unido a dos polinios dorsalmente sulcados.

En *D. cinnabarinus* se observaron dos apéndices laterales en la columna (estaminodios) también presentes en las especies de los géneros *Spiranthes*, *Pelexia*, *Sarcoglottis* y *Stenorhynchus* de esta subtribu estudiados por Rasmussen (1982) y en los géneros *Cyclopogon*, *Prescottia*, *Sarcoglottis*, estudiados por Kurzweil (1988). Sin embargo, fue imposible observar su origen, desarrollo y diferenciación debido a su remoción con el resto de los verticilos florales en el procesamiento del material (para mejor observación de la columna).

### 7.4 Estigma, rostelo y viscidio

La zona receptiva del estigma de *D. cinnabarinus* es bilobada igual que en *Pelexia*, *Sarcoglottis* y *Stenorhynchus* (Kurzweil, 1988), está constituida principalmente por el carpelo medio en su parte basal y la fusión de ésta parte con los carpelos laterales los cuales quedan ubicados inmediato arriba del ovario y por abajo del rostelo. De acuerdo con las observaciones realizadas por Rasmussen (1982) y Kurzweil (1988) el estigma es trilobado en los géneros *Prescottia* y *Spiranthes*, este último carácter pone en evidencia la contradictoria inclusión inicial por varios autores (Williams, 1951; McVaugh, 1985) de *D. cinnabarinus* en el género *Spiranthes*.

Kurzweil (1988) menciona para *Goodyera repens* (Goodyerinae), *Cyclopogon* sp., *Prescottia plantaginea* y *Sarcoglottis* sp. (Spiranthinae) que los lóbulos laterales del estigma no son receptivos, son originados de los carpelos laterales y permanecen más o menos erectos a un lado del lóbulo medio receptivo, contrario a estas observaciones en *Dichromanthus cinnabarinus*, los carpelos laterales no se distinguen como estructuras individuales en las etapas intermedias y maduras sino fusionadas por completo a la parte basal del carpelo medio que conforma la superficie receptiva del estigma y, no se observó en ninguna de estas etapas la presencia de un canal estilar.

El rostelo en *D. cinnabarinus* en esta investigación se describe como la porción no receptiva del estigma que se desarrolla de la parte media y apical del carpelo medio por arriba del estigma, mientras que Kurzweil (1988) en su investigación menciona que se desarrolla de la parte apical y más superior del carpelo medio.

Durante su desarrollo, el rostelo se observa como una estructura aplanada con forma de lengua que se elonga hacia el ápice de manera erecta paralela a la antera, posteriormente sufre un ensanchamiento en su parte media y de su extremo apical comienzan a diferenciarse las células que darán origen al viscidio. Kurzweil (1988), de igual manera, en su investigación menciona que el viscidio está bien diferenciado del rostelo para todas las especies estudiadas de *Spiranthinae*.

Al final de su desarrollo el rostelo se observa como una estructura con la base ancha enclavada en la parte funcional del estigma, su parte media es más angosta y alargada, en su ápice se localiza el viscidio separable (llevando consigo a los polinios) del rostelo por el agente polinizador. Kurzweil (1988) en su investigación hace mención de esta característica de tener un viscidio separable para todas las especies de *Spiranthinae* que estudió.

En *D. cinnabarinus* el viscidio penetra de manera aguda sobre la parte ventral del rostelo, esta es la zona de desprendimiento que dejará la forma típica de muesca del remanente rostelar de esta especie. Rasmussen (1982) describe que en el caso de *Pelexia* no hay una marca o forma en el remanente rostelar que sugiera un tipo de inserción particular del viscidio en el rostelo y mientras que en *Sarcoglottis* y *Stenorrhynchus* el remanente rostelar posee la forma característica de punta como si fuera una espada desenvainada, carácter que *Dichromanthus aurantiacus* y *Dichromanthus michuacanus* también poseen, y en el caso de *Spiranthes spiralis* el remanente rostelar tiene forma de V. Por lo tanto el remanente rostelar en forma de muesca de *D. cinnabarinus* representaría un estado de carácter más similar al de *Spiranthes spiralis* o probablemente representar una sinapomorfía de éste.

En *D. cinnabarinus* el viscidio se desarrolla de la porción más apical del carpelo medio, por arriba del rostelo lo cual coincide con lo observado por Yeung (1987) en una orquídea Epidendroide.

Yeung (1987) reporta que el viscidio está compuesto de tres capas de células: La más notoria se encuentra en la parte ventral, compuesta de grandes células secretoras (con aspecto similar a colénquima) poseen una gran cantidad de material depositado entre sus paredes y son similares a la capa de células observadas hacia la parte ventral del viscidio en este trabajo. Yeung (1987) también reporta la desintegración de esta capa de células al momento de la anthesis y Rasmussen (1982) las describe como capa de materia del viscidio con células desintegradas en los miembros de la subtribu *Spiranthinae*. Sin lugar a dudas estas células son las responsables de producir el material pegajoso que lo compone y su función de unir el viscidio junto con los polinios (en conjunto llamado polinario) al polinizador durante la polinización.

La siguiente capa (intermedia) del viscidio posee células redondas de menor tamaño que presentan pocos núcleos y organelos, Rasmussen (1982) reporta esta capa para Tropidiinae (ahora considerada parte de la tribu de la subfamilia Epidendroide) y *Spiranthes spiralis* y la interpreta como esclerénquima; sin embargo, en *D. cinnabarinus* no puede hacerse tal afirmación, ya que las paredes celulares no se encuentran engrosadas ni lignificadas. Por el contrario, *D. cinnabarinus* presenta grandes vacuolas y pocos organelos, lo que Yeung (1987) en *Epidendrum ibaguense* describe como proceso de vacuolación celular.

En *D. cinnabarinus* la última capa de células orientadas hacia los polinios (dorsalmente) conforman una epidermis de células grandes y alargadas tal como le describen Yeung (1987) y Rasmussen (1982) para otras especies de orquídeas.

## VIII. CONCLUSIONES

1. El modelo del desarrollo del perianto de *Dichromanthus cinnabarinus* (Spiranthinae) coincide en general con el modelo descrito por Kurzweil (1988) para las orquídeas Noettiodes, donde antes se encontraba la subtribu Spiranthinae.
2. El carpelo medio es el verticilo floral que más cambios experimenta. Se diferencia y su parte basal se fusiona con los carpelos laterales a nivel de la base del estigma, mientras que su porción más apical dará origen al rostelo y al viscidio.
3. La parte funcional del estigma está compuesta en su mayoría por el carpelo medio y la fusión completa de su parte basal con los carpelos laterales, dando como resultado un a una parte estigmática del estigma funcional bilobulado.
4. El rostelo se desarrolla de la parte media y apical del carpelo medio, el cual se elonga y se ensancha. Para las etapas finales el rostelo se encuentra paralelamente erecto a los polinios y por su parte basal enclavado en el estigma bilobado funcional.
5. De las células del ápice del rostelo comienza un proceso de diferenciación y desarrollo que dará origen al viscidio.
6. El rostelo (remanente rostelar) y viscidio ambos son estructuras altamente especializadas para la polinización.
7. El viscidio se diferencia dando origen a tres capas de células muy distintas entre si tanto en forma como función, una de ellas es la epidermis, en su parte media interna una capa de células de sostén con gran capacidad de deformación y por último una capa de células secretoras, esta última capa se degrada al momento de la antesis produciendo la liberación de las secreciones.
8. El viscidio crece penetrando de manera aguda en el rostelo. Ésta es una zona de abscisión o desprendimiento; al ser retirado por el agente polinizador deja una muesca en el remanente rostelar caracterizando a esta especie y probablemente representando una sinapomorfía de este carácter dentro del género *Dichromanthus*.
9. El estudio detallado del desarrollo de las estructuras más complejas y especializadas del carpelo medio en *Dichromanthus cinnabarinus* sirvió como base ontogenética en la comparación de un carácter: la forma del remanente rostelar característica de esta especie, y es una base para futura determinación y

comparación de éste y otros caracteres dentro de los miembros de la subtribu Spiranthinae específicamente para *D. aurantiacus* y *D. michuacanus*.

## IX. BIBLIOGRAFÍA

- Arditti, J. 1992. *Fundamentals of Orchid Biology*. John Wiley & Sons. Nueva York. p 317-529.
- Balogh, P. 1982. Generic redefinition in Subtribe Spiranthinae (Orchidaceae). *American Journal of Botany* 69: 1119-1132.
- Balogh, P. 1986. Sinopsis de la tribu Spiranthinae en México. *Orquídea (Mex.)* 10: 47-96.
- Balogh, P. y E. Greenwood. 1981. *Cutsis*, a new genus from Mexico. *Phytologia* 51: 297-298.
- Burns-Balogh, P. 1989. *Svenkoeltzia*, eine neue Gattung aus Mexico. *Die Orchidee* 40: 11-16.
- Burns-Balogh, P., H. Robinson, y M.S. Foster. 1985. The capitate-flowered epiphytic Spiranthinae (Orchidaceae) a new genus from Paraguay. *Brittonia* 37: 154-162.
- Chase, M. W., J.V., Freudenstein, K.M. Cameron y R.L. Barren. 2003. DNA data and Orchidaceae systematics: a new phylogenetic classification. En: K.W. Dixon, S.P. Kell, R.L. Barret y P.J. Cribb (Eds.) *Orchid Conservation*. Natural History Publications, Sabah. 69-89.
- Coleman, R.A. 1996. *Stenorrhynchus michuacanam*. *Orchids* 65:1284-1287.
- Dressler, R.L. 1974. Classification of the orchid family. En: M. Ospina (Eds.), *Proceedings of the Seventh World Orchid Conference*, 259-279. Editorial Bedout, Medellín, Colombia.
- Dressler, R.L. 1981. *The Orchids, Natural History and Classification*. Harvard University Press. Londres. 324 pp.
- Dressler, R.L. 1993. *Phylogeny and Classification of the Orchid Family*. Dioscorides Press. Oregon. 314 pp.
- Dressler R.L. y C.H. Dodson. 1960. Classification and phylogeny in the Orchidaceae. *Annals of the Missouri Botanical Garden* 47: 25-68.
- Freudenstein, J.V. y F.N. Rasmussen. 1999. What does morphology tell us about Orchid relationships?- A cladistic analysis. *American Journal of Botany* 86: 225-248.
- Garay, L.A. 1960. On the origin of the Orchidaceae. *Botanical Museum Leaflets of Harvard University* 19: 57-96.
- Garay, L.A. 1982. A generic revision of the Spiranthinae. *Botanical Museum Leaflets Harvard University* 28: 279-425.
- Hágsater, E., M.A., Soto; G. A. Salazar, M.R. Jiménez, R.M. López y R.L. Dressler. 2005. *Las orquídeas de México*. Instituto Chinoín, México, D.F. 304 pp.

- Kurzweil, H. 1987. Developmental studies in Orchid Flowers I: Epidendroid and Vandoid species. *Nordic Journal of Botany* 7: 427-442.
- Kurzweil, H. 1988. Developmental studies in Orchid Flowers III: Neottioid species. *Nordic Journal of Botany* 8: 271-282.
- Lindley, J. 1840. The genera and species of Orchidaceous plants (Tribe VI, Neotteae), 441-524. J. Ridgway, Londres.
- López, C.M., G.J. Márquez y S.G. Murguía. 1998. Técnicas para el estudio del desarrollo en Angiospermas. Libro de Laboratorio. Las prensas de Ciencias. Facultad de Ciencias; Universidad Nacional Autónoma de México. México D. F. 116 pp.
- McVaugh, R. 1985. Orchidaceae. En: W.R. Anderson (Eds.), *Flora Nova Galiciana. A Descriptive Account of the Vascular Plants of Western Mexico*, vol. 16: 1-363. The University of Michigan Press, Ann Harbor, Michigan, USA.
- Rasmussen, F.N. 1982. The gynostemium of the neottioid orchids. *Opera Botanica* 65:1-96.
- Salazar, G.A., M.W. Chase, y M.A. Soto Arenas. 2002. Galeottiellinae, a new subtribe and other nomenclatural changes in Spiranthinae (Orchidaceae, Cranichideae). *Lindleyana* 17:172-176.
- Salazar, G.A. 2003a. Phylogeny and Classification of subtribe Spiranthinae (Orchidaceae, Orchidoideae). Tesis Doctoral. Universidad Birbeck y Royal Botanic Gardens Kew. Londres. p 86-112.
- Salazar, G.A. 2003b. *Dichromanthus*. En: Pridgeon A.M., J.P. Cribb, W.M Chase y F.N. Rasmussen (Eds.). *Genera Orchidacearum. Volume 3 Orchidoideae Parte 2 Vanilloideae*. Oxford University Press. Londres p. 196-198.
- Salazar G.A., M.W. Chase, M.A. Soto y M. Ingroullile. 2003. Phylogenetics of Cranichideae with emphasis on Spiranthinae (Orchidaceae, Orchidoideae): evidence from plastid and nuclear DNA sequences. *American Journal of Botany* 90: 777-795.
- Schlechter, R. 1911. Die Polychondrae (Neottiinae Pfitz.) und ihre systematische Einteilung. *Botanische Jahrbücher für Systematik, Pflanzengeschichte und Pflanzengeographie (Leipzig)* 54: 375-410.
- Schlechter, R. 1920. Versuch einer systematischen Neordnung der Spiranthinae. *Beihfte zum Botanischen Centralblatt* 37: 317-454.
- Schlechter, R. 1926. Das System der Orchidaceen. *Notizblatt des Botanischen Garten and Museums zu Berlin-Dahlem* 88: 563-591.
- Szlachetko, D.L. 1991. Genera and species of the subtribe Spiranthinae (Orchidaceae). 1. Contribution to revision of *Galeottiella*. *Fragmenta Floristica et Geobotanica* 36: 1-12.

- Szlachetko, D.L. 1994. Studies in the Spiranthinae (Orchidaceae). II. *Cochleorchis* and *Warscaea*-two new genera in the *Cyclopogon* complex. *Fragmenta Floristica et Geobotanica* 39: 555-562.
- Szlachetko, D.L. 1995. *Systema Orchidaliium*. *Fragmenta Floristica et Geobotanica (Supplement)* 3: 1-152.
- Szlachetko, D.L. y R. González Tamayo. 1996. *Ochyella* (Orchidaceae. Stenorrhynchidinae), a new genus from South America. *Fragmenta Floristica et Geobotanica* 41: 697-700.
- Szlachetko, D.L., R. González Tamayo, y P. Rutkowski. 2000. *Zhukowskia*, a new orchid genus from Mesoamérica. *Adansonia* 22: 235-238.
- Williams L.O. 1951. The Orchidaceae of México. *Ceiba* 2: 1-321.
- Yeung, E.C. 1987. The Development and Structure of then Viscidium in Epidendrum Ibaguense H.B.K. (Orchidaceae). *Botanical Gazette* 148: 149-155.