



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA
DE MÉXICO

FACULTAD DE CIENCIAS

DESARROLLO FLORAL Y EMBRIOLÓGICO DE
***Begonia gracilis* HBK (BEGONIACEAE.)**

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

BIÓLOGA

PRESENTA:

ELIZABETH CHÁVEZ GARCÍA

DIRECTORA DE TESIS:

DRA. SONIA VÁZQUEZ SANTANA



FACULTAD DE CIENCIAS
UNAM

CIUDAD UNIVERSITARIA

SEPTIEMBRE 2009



Universidad Nacional
Autónoma de México



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.

Hoja de Datos del Jurado

1. Datos del alumno

Chávez
García
Elizabeth
044 55 18 19 56 65
Universidad Nacional Autónoma de México
Facultad de Ciencias
Biología
301088985

2. Datos del asesor

Dra
Sonia
Vázquez
Santana

3. Datos del sinodal 1

Dra
Guadalupe Judith
Márquez
Guzmán

4. Datos del sinodal 2

Dra
Susana
Valencia
Avalos

5. Datos del sinodal 3

M en C
Jaime
Jiménez
Ramírez

6. Datos del sinodal 4

M en C
Rosenda Margarita
Ponce
Salazar

7. Datos del trabajo escrito.

Desarrollo floral y embriológico de *Begonia gracilis* HBK(BEGONIACEAE)
73 p
2009



FACULTAD DE CIENCIAS
Secretaría General
División de Estudios Profesionales

Votos Aprobatorios

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

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

Desarrollo floral y embriológico de *Begonia gracilis* HBK (Begoniaceae.)

realizado por **Chávez García Elizabeth** con número de cuenta **3-0108898-5** quien ha decidido titularse mediante la opción de **tesis** en la licenciatura en **Biología**. Dicho trabajo cuenta con nuestro voto aprobatorio.

Propietario Dra. Guadalupe Judith Márquez Gazmán

Propietario Dra. Susana Valencia Avalos

Propietario Dra. Sonia Vázquez Santana

Tutor

Suplente M. en C. Jaime Jiménez Ramírez

Suplente M. en C. Rosenda Margarita Ponce Salazar

Atentamente,

"POR MI RAZA HABLARÁ EL ESPÍRITU "

Ciudad Universitaria, D. F., a 17 de agosto de 2009

EL COORDINADOR DEL COMITÉ ACADÉMICO DE LA LICENCIATURA EN BIOLOGÍA

Dr. PEDRO GARCÍA BARRERA

FACULTAD DE CIENCIAS



UNIDAD DE ENSEÑANZA
DE BIOLOGÍA

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.

*nlm.

A mis padres Bertha García Sotelo y Francisco José Chávez Rosas
por su amor, comprensión y sacrificio.

A ambos les agradezco no sólo mi formación académica sino todo
lo que soy.

A mi hermano Francisco Javier Chávez García por siempre estar
conmigo, quererme y soportar todos mis berrinches.

A mi abuela Concepción Rosas Sánchez y a la memoria de mi
abuelo Enrique Chávez Tréjo por todo su cariño y apoyo
brindados.

AGRADECIMIENTOS

A la Dra. Sonia Vázquez Santana por ser mi asesora y amiga a lo largo de este proyecto.

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

A l Taller de “Biología de la reproducción, propagación y fisiología de angiospermas que crecen en ambientes contrastantes”.

A la M. en C. Mónica Karina Pérez Pacheco y al M. en C. Ricardo Wong por la amistad, las enseñanzas y el apoyo que me brindaron desde el inicio de este trabajo.

A la Dra. Susana Valencia AVALOS, M. en C. Margarita Ponce y Dra. Gloria Luz Portales Betancourt por ser de las mejores profesoras y amigas que tuve en la carrera.

A todos mis amigos, en especial a **Juan Carlos Sánchez Castillo, Jorge Dolores Bautista, Gerardo Anaya, Hadad Leones, Said Rodríguez, Rafa, Mónica Martínez, Denzib, Silvia, Pavel, Guadalupe Centeno, Alexzi, Rosa Ma. Salas, Rocío, Paty, Alfredo, Amelia, Erick, Alma, Juan Manuel, Dulce, Norma, Magali, Aldebarán y Juan Carlos.**

A la M. en C. Berenit del Laboratorio de Microscopio Electrónico del Instituto de Biología, UNAM, por la toma de microfotografías.

A la M. en C. Anabel Bizler y al M. en C. Alejandro Martínez de Laboratorio de Microciné por la toma de fotografías y fotomicrografías

A la Facultad de Ciencias y a la Universidad Nacional Autónoma de México.

ÍNDICE

RESUMEN.....	1
INTRODUCCIÓN.....	4
ANTECEDENTES.....	6
<i>Begonia gracilis</i> HBK.....	10
OBJETIVOS.....	14
ZONA DE ESTUDIO.....	15
MATERIALES Y MÉTODOS	
Colecta del material y procesamiento para el análisis	
histológico y morfológico.....	18
Prueba de viabilidad de polen.....	18
Deshidratación.....	19
Inclusión en LR-White.....	19
Inclusión en Paraplast plus.....	19
Pruebas Histoquímicas.....	20
Acetólisis.....	21
Preparación del material para ser observado por	
Microscopía Electrónica de Barrido.....	21
RESULTADOS	
Micromorfología	
Micromorfología de la flor femenina.....	23
Micromorfología de la flor masculina.....	25
Desarrollo del gineceo	
Desarrollo del ovario.....	27
Megasporogénesis y megagametogénesis.....	31
Desarrollo de los estilos y los estigmas.....	35
Desarrollo de la semilla.....	39
Cubierta de la semilla.....	43
Desarrollo del androceo.....	46
Pruebas histoquímicas.....	55
DISCUSIÓN.....	57
CONCLUSIONES.....	63
LITERATURA CONSULTADA.....	65

RESUMEN

Begonia es el género con el mayor número de especies de Begoniaceae, pero pocas son las especies que han sido estudiadas sobre todo el desarrollo floral y embriológico. De ahí que se decidiera describir ambos aspectos de *Begonia gracilis*, una especie monoica de la Reserva Ecológica del Pedregal de San Ángel. No sólo para contribuir a la embriología de Begoniaceae, sino también para determinar si el desarrollo de las flores unisexuales obedece a un patrón de unisexualidad por supresión donde sólo se inicie un verticilo floral o por aborto lo cual implica que se inician los dos verticilos, pero uno de ellos aborta en alguna etapa del desarrollo floral, como recientemente se ha establecido para especies con flores unisexuales en angiospermas.

Este estudio floral morfológico y embriológico se desarrolló utilizando técnicas histológicas y de microscopía convencionales, incluyendo desde etapas tempranas del desarrollo hasta la formación de la semilla.

Las flores femeninas tienen un ovario ínfero, tricarpelar y trilocular, la placenta es axial y bilamelar en cada lóculo. Una vez que los tres carpelos se cierran para formar el ovario, surge un estilo corto que se trifurca originando tres estilos y un estigma bilobulado de cada carpelo. Cada estigma es bifido y papiloso, y cada lóbulo se enrolla de manera helicoidal. El óvulo es crasinucelado, bitégmico, anátropo, con funículos cortos y el micrópilo se forma por ambos tegumentos, los cuales son biestratificados. El saco embrionario es del tipo Polygonum; los núcleos polares se fusionan antes de la fecundación. Las células de la epidermis externa del tegumento externo son globosas y con núcleos prominentes. Hay taninos en la cálaza desde etapas tempranas del desarrollo, así como en los estigmas, en las placentas y en la pared del ovario. Existen tricomas globulares en ovarios y tépalos. El fruto es una cápsula con estigma persistente. Las semillas son ovoides y de color pardo claro; cuando son

jóvenes, la exotesta se conforma de células globosas con ornamentación rugoso-estriada y posteriormente en las semillas maduras éstas se encuentran deshidratadas.

Las flores masculinas tienen un androceo formado por aproximadamente 36 estambres, los cuales inicialmente tienen un filamento corto y se elevan de un receptáculo prominente. El tejido del conectivo se encuentra ampliamente expandido lateralmente, las anteras son basifijas y su pared tiene una epidermis, endotecio y tapete uniestratificado, bi- y trinucleado y secretor, mientras que la capa media tiene tres estratos celulares. La dehiscencia es longitudinal y la meiosis es simultánea. Las tétradas son tetraédricas e isobilaterales. El polen se libera en mónadas, es bicelular, tricolporado y estriado, con ornamentación verrugosa-estriada en las aberturas. Los filamentos y las anteras presentan taninos.

Se encontraron algunas características que no habían sido registradas, como la gran cantidad de taninos tanto en las flores femeninas como en las masculinas. De igual manera se probó que la ornamentación de la testa no es granular como se reporta en la literatura, sino rugoso-estriada, que los estambres no están unidos por la base y las capas medias no son efímeras como se reportan para Begoniaceae. El micrópilo está formado por ambos tegumentos y la epidermis del óvulo está formada por células idioblásticas en la zona de la cálaza.

En cuanto a la presencia de estilos, algunos autores no los describen o no dejan clara su existencia, incluso algunos los confunden con estigmas, sin embargo nuestras observaciones del tejido de transmisión demostraron que en *B. gracilis* los carpelos en la base del estilo están fusionados formando una sola estructura, pero en el ápice se separan en tres y a partir de cada uno de estos estilos surge un estigma bifurcado, papilado y enrollado de afuera hacia adentro, donde cada lóbulo forma una hélice.

No se encontraron reminiscencias de estructuras del sexo opuesto en flores masculinas ni femeninas, como se ha mencionado en algunas especies tales como *B. semperflorens* y *B. tuberhybrida*. Por lo tanto, el desarrollo de las flores unisexuales de *B. gracilis* es por supresión de uno de los órganos sexuales y no por aborto, como ocurre en la mayoría de las angiospermas con flores unisexuales.

INTRODUCCIÓN

La familia Begoniaceae (Cucurbitales) tiene tres géneros: *Begonia*, *Hillebrandia* y *Symbegonia*, éstos dos últimos representados por pocas especies, ya que la mayoría se encuentran incluidas en el género *Begonia* (Gauthier, 1950; Smith y Schubert, 1958; Thompson y Thompson, 1981; Cuerrier *et al.*, 1990; Lange y Bouman, 1999; Rzedowski y Rzedowski, 2001; Judd *et al.*, 2002; Forrest y Hollingsworth, 2003; Clement *et al.*, 2004; Matthews y Endress, 2004; Ye *et al.*, 2004; Forrest *et al.*, 2005; Ma y Li, 2006).

Escasas especies del género *Begonia* han sido estudiadas dentro de algunos campos de investigación como son: el cultivo de tejidos vegetales (Chlyah y Tran Thanh Van, 1975; Mangat *et al.*, 1990; Bowes y Curtis, 1991; Burritt y Leung, 1996; Castillo y Smith, 1997; Bouman y De Klerk, 2001; Burritt y Leung, 2003; Burritt, 2008), ecología y polinización por engaño (Ågren y Schemske, 1991; Schemske y Ågren, 1995; Schemske *et al.*, 1996; Le Corff *et al.*, 1998; Castillo, 1999; Castillo *et al.*, 1999; Caballero, 2002; Castillo *et al.*, 2002a), Filogenia o Evolución (Plana, 2003; Plana *et al.*, 2004. Forrest *et al.*, 2005; McLellan, 2005), Fisiología (Leshem y Lunenfeld, 1968; Hanisch ten Cate *et al.*, 1975; Oden y Heide, 1989; Myster *et al.*, 1997; Burritt y Mackenzie, 2003; Barabé *et al.*, 2007), Cariomorfología (Oginuma y Peng, 2002) y Anatomía (Hall, 1949; Gauthier, 1950; Denle, 1961; Lecocq, 1977; Carlquist, 1985), entre otros (Kiyokawa *et al.*, 1996; Elsgaard y Andersen, 1998; Wu *et al.*, 2004; Zambrana-Torrel *et al.*, 2004; de Weerd *et al.*, 2006; Ornek *et al.*, 2007).

A pesar de los variados estudios, el desarrollo de las flores unisexuales de este género ha recibido poca atención, siendo pocos los autores que se han enfocado en esta área (Pastrana, 1932; Swamy y Parameswaran, 1960; Maheswari *et al.*, 1982; Johri *et al.*, 1992; Davis, 1996; Matthews y Endress, 2004).

Las semillas son aparentemente dispersadas por el viento o el agua (de lluvia) y por las prominentes alas del fruto (frecuentemente asimétricas), las cuales parecen ayudar en la diseminación del mismo (Lange y Bouman, 1999; Judd *et al.*, 2002; Matthews y Endress, 2004).

Begonia ha sido descrita principalmente como un género monoico, con flores unisexuales masculinas y femeninas en un mismo individuo, aunque escasas especies han sido registradas como dioicas. También existen estudios de especies de *Begonia* que pueden presentar flores bisexuales, pero no hay detalles que describan el evento.

Este estudio se centró en el desarrollo floral, para establecer primero si el tipo de desarrollo de flores unisexuales se debe a alguno de los dos patrones que recientemente se establecieron por Mitchell y Diggle (2005). Estos autores describen que las flores unisexuales pueden obedecer al patrón por aborto, lo cual implica que la flor se inicia como bisexual, pero después el desarrollo de uno de los verticilos como el androceo o el gineceo se inhibe en alguna etapa, de tal manera que las flores unisexuales maduras presentan reminiscencias del verticilo atrofiado. Este patrón de desarrollo es el que predomina en las flores unisexuales en Angiospermas. El segundo patrón establece que en el meristemo floral sólo se inicia el desarrollo de uno de los verticilos, por lo tanto las flores maduras masculinas o femeninas nunca presentan reminiscencias del sexo opuesto.

La otra finalidad de esta investigación fue analizar la embriología de *Begonia gracilis*, una especie que no ha sido estudiada embriológicamente y cuyos resultados pueden ayudar a conocer más ampliamente su biología reproductiva y por otra parte ayudar a aclarar algunas controversias y a conocer aquellos eventos del desarrollo que no han sido abordados en ninguna de las especies estudiadas del género.

ANTECEDENTES

Las begonias son plantas de gran interés hortícola, por su follaje y sus flores (Gauthier, 1950; Hickey y King, 1981; Maheswari *et al.*, 1982; Heywood *et al.*, 1993; Greyson, 1994; Kiyokawa *et al.*, 1996; Castillo y Smith, 1997; Rzedowski y Rzedowski, 2001; Judd *et al.*, 2002; Shui *et al.*, 2002; Espino *et al.*, 2004; Matthews y Endress, 2004; Ribeiro *et al.*, 2006; Burritt, 2008; Página en red: American Begonia Society, 2008). También son valiosas como fuente de alimento y compuestos medicinales, ya que éstas son ricas en fructuosa. Los pecíolos y hojas de algunas especies son usados como “quelites” (Katz, 1992; Heywood *et al.*, 1993; Castillo y Smith, 1997; Rzedowski y Rzedowski, 2001; Rojo y Rodríguez, 2002; Basurto-Peña *et al.*, 2003), saborizantes, purgantes, antibacteriales, contra la malaria, la faringitis y la estomatitis (Arrázola *et al.*, 2002; Basurto-Peña *et al.*, 2003; Wu *et al.*, 2004). Incluso *B. gracilis* tiene propiedades antitumorales (Castillo y Smith, 1997).

La mayoría de las especies de *Begonia* son hierbas, lianas y arbustos. Son plantas suculentas y perennes, pero también hay ejemplos de plantas leñosas y anuales. Existen acaulescentes (sin tallo evidente) y caulescentes (con tallo evidente). Esencialmente son clasificadas de acuerdo al tipo de raíces que poseen, en tuberosas, fibrosas y rizomatosas. Presentan taninos en la hipodermis de las hojas. Tricomas simples, frecuentemente con un cistolito en la base. Hojas alternas y asimétricas con muchas formas: elípticas, palmadas, orbiculares, peltadas, obovadas; con márgenes enteros, subenteros, lobados y compuestos, entre otros. Con superficie glabra a densamente tomentosa. Las flores presentan un amplio rango de colores, siendo preponderantes el blanco y el rosa seguidos por el rojo y el naranja en varios matices. Los tiempos de floración varían ampliamente, siendo la mayoría de las especies estacionales. Las inflorescencias son determinadas y axilares (J. M. C., 1882; Rose y Hurd-

Karrer, 1927; Smith y Schubert, 1941; Smith y Schubert, 1958; Hickey y King, 1981; Thompson y Thompson, 1981; Heywood *et al.*, 1993; Greyson, 1994; Kiyokawa *et al.*, 1996; Jiménez, 2000; Rzedowski y Rzedowski, 2001; Judd *et al.*, 2002; Clement *et al.*, 2004; Matthews y Endress, 2004).

Dentro de una misma inflorescencia hay flores pistiladas y estaminadas ambas con simetría radial. Se describen como plantas monoicas, pero algunos autores mencionan la existencia de plantas dioicas (Smith y Schubert, 1941; Hickey y King, 1981; Greyson, 1994; Ågren y Schemske, 1995; Jiménez, 2000; Judd *et al.*, 2002; Matthews y Endress, 2004; Forrest *et al.*, 2005; Rojas y Holzmann, 2006). El perianto está constituido por tépalos petaloides libres o connados en dos verticilos (en casos extremos sólo dos tépalos permanecen en un solo verticilo) en flores estaminadas y cinco en un solo verticilo, en flores carpeladas. Estambres de cuatro a numerosos (raramente sólo tres como en *Begonia* sect. *Tetraphila* y hasta 116 descritos para *B. baccata*), filamentos distintos o basalmente unidos (connados); con el conectivo expandido; granos de polen tricolporados (Maheswari *et al.*, 1982; Judd *et al.*, 2002; Matthews y Endress, 2004). Estambres iniciados centripetamente. Usualmente tres carpelos o raramente (5-)6(-7); ovario ínfero, usualmente con tres alas, una más grande que las otras dos, con placenta axial y bilamelar. Las partes florales estrechamente unidas a nivel del perianto y del ovario. Estilos con estigmas bífidos (excepto algunas especies), enrollados siempre hacia adentro y en espiral, con papilas unicelulares. Presentan tres estigmas, aunque Judd *et al.* (2002) mencionan que son seis, alargados, torcidos o enrollados, amarillos y fuertemente papilosos. Óvulos numerosos en cada lóculo. Ausencia de nectarios. Fruto alado, ocasionalmente una baya. Semillas diminutas, producidas en grandes cantidades (Smith y Schubert, 1941; Hickey y King, 1981; Thompson y Thompson, 1981; Heywood *et al.*, 1993; Rzedowski y Rzedowski, 2001; Judd *et al.*, 2002; Página en red: UF, 2003; Matthews y Endress, 2004).

La clasificación de *Begonia* ha cambiado abruptamente. Cerca de 50 géneros han sido puestos en sinonimia. En 1855 Klotzsch incluyó 194 especies, De Candolle (1859) 371, Bentham y Hooker (1867) 350, mientras que Rendz (1925) señaló más de 400; Bailey (1922) entre 400 y 500 especies; Irmscher (1925) menciona 750. Incluso en 1855 Klotzsch, dividió el género *Begonia* en 41 nuevos géneros, basado en combinaciones de los caracteres florales. Pero años más tarde De Candolle (1859) sólo acepta tres géneros (*Casparya*, *Mezierea* y *Begonia*) y dentro de cada uno varias secciones. En 1925, Irmscher los unifica en un solo género (*Begonia*) y crea 60 secciones para Asia, América y África (Gauthier, 1950; Lange y Bouman, 1999; Plana, 2003).

La mayoría de las especies del género *Begonia* se encuentran en América (600) y Asia (650), con sólo cerca de 140 en África (Forrest y Hollingsworth, 2003). El género se encuentra ampliamente distribuido en áreas húmedas de los trópicos y subtropicos del Viejo y Nuevo Mundo y muy pocas especies en lugares secos, con cerca de 1400 especies clasificadas en 78 secciones (aunque algunos autores señalan que son 66 y otros 63) -cada sección se restringe a un solo continente, excepto las secciones *Begonia* y *Knesebeckia* que tienen una distribución Americana-Asiática, aunque este número puede variar dependiendo del autor, ya que el subsecuente descubrimiento de muchas especies intermedias ocasiona que algunos límites de las secciones no puedan ser bien establecidos (Smith y Schubert, 1941; Gauthier, 1950; Thompson y Thompson, 1981; Hoover, 1986; Heywood *et al.*, 1993; Lange y Bouman, 1999; Tebbitt y Dickson, 2000; Oginuma y Peng, 2002; Shui *et al.*, 2002; Forrest y Hollingsworth, 2003; Tebbitt, 2003; Clement *et al.*, 2004; Plana *et al.*, 2004; Ye *et al.*, 2004; Forrest *et al.*, 2005; Jacques y Mamede, 2005; Xing *et al.*, 2005; Ma y Li, 2006).

El género *Begonia* está representado en México y Centro América por cerca de 144 especies, de las cuales 100 están en nuestro país y 74 son endémicas, mientras que sólo 66 especies con 39 endémicas están registradas en todo

Centro América (Burt-Utley, 1990; Caballero, 2002). En México, el género se distribuye desde los estados del norte fronterizos con los Estados Unidos hasta la zona sur del país (Burt-Utley, 1990).

Lange y Bouman (1999) señalan que en contraste a la opinión general de que el tipo predominante de dispersión de las semillas es por viento, la mayoría de las especies africanas son dispersadas por animales que comen los frutos o por que se adhieren a su cuerpo o incluso por el agua de lluvia.

El número de cromosomas que presentan varían desde $2n=16$ hasta $2n=104$, sugiriendo que existe una alta poliploidía y aneuploidía en el género, por lo que el número base es desconocido y las descripciones cariomorfológicas son escasas (Oginuma y Peng, 2002).

Dentro de los pocos estudios embriológicos existentes para Begoniaceae se encuentran los realizados para *B. dichroa* y *B. anamalaya*. Para *B. dichroa* se describe que la degeneración de la antera y del polen en diferentes etapas del desarrollo es bastante común, mientras que para *B. anamalaya* se detecta que la formación de los granos de polen es anormal debido a la degeneración de las células madres de las microsporas (Maheswari *et al.*, 1982; Johri *et al.*, 1992). Las tétradas de microsporas son tetraédricas (Davis, 1996), aunque Maheswari *et al.* (1982) mencionan que para *B. dichroa* las tétradas pueden ser tetraédricas, decusadas e isobilaterales.

En general se observa que la antera es tetrasporangiada y posee cuatro capas (epidermis, endotecio, capas medias y tapete) con dehiscencia lateral o poricida, óvulo anátropo, bitégmico y crasinucelado. Aunque Swamy y Parameswaran, 1960, así como Maheswari *et al.*, 1982, indican que existen especies con óvulos tenuinucelados, mientras que Matthews y Endress (2004) señalan que son ligeramente crasinucelados (con una capa celular parietal). También se menciona que el micrópilo es en zigzag y formado por dos tegumentos biestratificados, que el saco embrionario es de tipo Polygonum y que la placenta puede ser parietal o axial (Smith y Schubert, 1941; Smith y

Schubert, 1958; Corner, 1976; Lecocq, 1977; Hickey y King, 1981; Maheswari *et al.*, 1982; Johri *et al.*, 1992; Davis, 1996; Tebbitt y Maciver, 1999; Judd *et al.*, 2002; Matthews y Endress, 2004; Peng *et al.*, 2006).

Algunos autores mencionan que el endospermo puede estar ausente en la semilla madura (Hickey y King, 1981; Heywood *et al.*, 1993; Judd *et al.*, 2002; Rojo y Rodríguez, 2002), mientras que otros señalan que el desarrollo del endospermo es nuclear y al celularizarse forma una capa de aleurona, rodeada por una testa delgada. Asimismo se diferencia una hipostasa (Swamy y Parameswaran, 1960; Corner, 1976; Johri *et al.*, 1992; Davis, 1996).

Las semillas de Begoniaceae presentan un anillo transversal (collar) en la zona hilo-micropilar que durante la germinación se separa como un opérculo. La semilla de las begonias muestra diversidad en tamaño, forma y micromorfología. Los frutos son capsulares y la embriogénesis tipo onagráceo (Swamy y Parameswaran, 1960; Johri *et al.*, 1992; Davis, 1996; Lange y Bouman, 1999; Judd *et al.*, 2002; Forrest y Hollingsworth, 2003; Matthews y Endress, 2004; Forrest *et al.*, 2005).

***Begonia gracilis* HBK**

Begonia gracilis HBK pertenece a la sección *Knesdeckia*. Es conocida comúnmente como ala de ángel, carne de doncella, hierba de doncella, sangre de doncella y totoncaxoxocoyolin (Lange y Bouman, 1999; Rzedowski y Rzedowski, 2001; Rojo y Rodríguez, 2002). Es una hierba perenne, caulescente, erecta, carnosojugosa, con inflorescencias compuestas por flores masculinas y femeninas, de color rosa y sin aroma aparente al olfato humano. Comúnmente glabra, con bulbo subterráneo. De distribución desde México hasta Guatemala, habita en comunidades xerofíticas y bosques templados, prefiriendo lugares sombríos, con frecuencia entre rocas; está bien distribuida en el Valle de

México, en altitudes entre 2300 y 3250 m.s.n.m. Está formada por un solo eje rojizo de aproximadamente 60 cm de altura, que en ocasiones produce ramas en la base del tallo. Presenta yemas en las axilas de las hojas, que pueden dar origen a nuevos individuos. Con estípulas persistentes, a veces coloreadas, oblongas, agudas, aserrado-ciliadas. Pecíolos de 1 a 10 cm de largo. Láminas foliares insertas por la base, asimétricas, ovadas a elípticas, de 3 a 12 cm de largo por 1 a 7 cm de ancho, ápice agudo a acuminado, borde doblemente crenado o aserrado o más o menos lobulado, base oblicua, cordada. Produce dos o tres nudos vegetativos iniciales, seguidos de los nudos reproductivos, en donde cada nudo produce una inflorescencia sobre pedúnculos de 0.5 a 3 cm de largo, con 2 brácteas opuestas, persistentes, a veces coloreadas, anchamente elípticas, aserradas; pedicelos de 0.5 a 3 cm de largo. Como máximo se pueden producir 12 inflorescencias por planta.

Las flores masculinas de *B. gracilis* tienen cuatro tépalos en dos verticilos glabros de color rosa, son más longevas que las femeninas, apareciendo primero en la floración. Las flores masculinas producen polen como recompensa para los visitantes que incluyen abejas (*Apis mellifera* y *Halictidae* sp.), moscas (*Syrphidae*) y mariposas (*Lycaenidae*). Los dos tépalos exteriores son ovados u oblongos, aserrados a enteros, de 1 a 2 cm de largo por más o menos otro tanto de ancho; los dos interiores obovados, enteros, más pequeños. El androceo está formado por un gran número de estambres que se unen por la base, de tal forma que las anteras forman una densa cabezuela color amarillo brillante.

Las flores femeninas constan de cinco tépalos semejantes morfológicamente a los de las masculinas, los dos exteriores mayores que los tres interiores. Gineceo formado por tres estigmas de un color amarillo intenso aunque Rzedowski y Rzedowski, 2001, mencionan que son tres estilos bífidios, pero no hacen referencia al número de estigmas. Placentación axilar y bilamelar. El fruto es una cápsula trilocular de 1.5 a 2.5 cm de largo por 1.5 a 3 cm de ancho, con los estigmas persistentes; ala mayor de 1 a 1.5 cm de ancho,

triangular, las otras dos son más estrechas y redondeadas. La probabilidad de formar semillas es más alta durante el primer día de anthesis de las flores femeninas. Las semillas globosas de color café amarillento, son pequeñas (1.4 x 0.7 mm) y numerosas, ásperas y sin endospermo. Longitud media de la semilla de 300 μ m, con ornamentación de la testa principalmente granular. Se dispersan pasivamente alrededor de la planta madre, propiciando que las plantas crezcan muy juntas, por lo que esta especie suele ser localmente abundante. Síndrome de dispersión esporocoria. Florece de junio a septiembre y fructifica de octubre a diciembre. El pico de floración se alcanza alrededor del día 45, a partir de que aparecen las primeras flores. Durante la estación seca carece de partes aéreas y los individuos sobreviven subterráneamente por medio de bulbos (Smith *et al.*, 1986; Castillo, 1999; Lange y Bouman, 1999; Rzedowski y Rzedowski, 2001; Caballero, 2002; Castillo *et al.*, 2002a; Rojo y Rodríguez, 2002; López y Domínguez, 2003; López, 2004; Castillo *et al.*, 2007).

Los estudios de la biología reproductiva de *Begonia gracilis* dejaron en claro que las flores estaminadas son visitadas por abejas recolectoras de polen y que los estigmas de las flores femeninas imitan (mimetizan) a las anteras de las flores estaminadas, y de esta manera por “error” también atraen a los polinizadores, resultando en una polinización “por engaño”, puesto que estas últimas flores no producen ningún tipo de recompensa. También se menciona que el “engaño” está basado en la variación del tamaño de las flores, es decir, los polinizadores parecen elegir en función del tamaño relativo de los órganos reproductores (área del androceo gineceo / área de la corola; Hickey y King, 1981; Ågren y Schemske, 1991; Schemske y Ågren, 1995; Schemske *et al.*, 1996; Le Corff *et al.*, 1998; Castillo, 1999; Castillo *et al.*, 1999; Jiménez, 2000; Caballero, 2002; Castillo *et al.*, 2002a; Judd *et al.*, 2002; López, 2004).

Las polinizaciones cruzadas y autopolinizaciones, llevadas a cabo por Castillo (1999), indican que esta especie es autocompatible y no hay producción de semillas apomícticas.

El estudio del desarrollo embriológico de *B. gracilis* HBK ayudará a incrementar el escaso conocimiento y a dilucidar controversias embriológicas existentes. Asimismo se busca información con respecto a la estricta unisexualidad floral o si existe aborto de alguno de los órganos reproductores de acuerdo al patrón de desarrollo de flores unisexuales que Mitchell y Diggle (2005) establecen.

OBJETIVOS

Objetivo general:

Describir el desarrollo floral y embriológico de *Begonia gracilis* HBK.

Objetivos particulares:

1. Describir la morfología y patrón de desarrollo de las flores unisexuales masculinas y femeninas de *B. gracilis*.
2. Estudiar el desarrollo de la antera de *B. gracilis*.
 - a. Describir el patrón de desarrollo de la pared de la antera.
 - b. Describir el desarrollo y morfología del grano de polen.
3. Estudiar el desarrollo del gineceo de *B. gracilis*.
 - a. Desarrollo del ovario, estilo y estigma.
 - b. Desarrollo de óvulo.
 - c. Desarrollo del saco embrionario.
4. Describir el desarrollo de la semilla.

ZONA DE ESTUDIO

Las flores de *Begonia gracilis* fueron colectadas de diversos individuos que se encontraban creciendo naturalmente en los terrenos del Jardín Botánico Exterior de la UNAM, que forma parte de la Reserva Ecológica del Pedregal de San Ángel (Fig. 1, decretada así en septiembre de 1983 y localizada al suroeste de la Ciudad de México, en la Delegación Coyoacán), dentro de Ciudad Universitaria. Se ubica específicamente entre los 19° 13' 45" y 19° 20' 33" de latitud norte y los 99° 08' 26" y 99° 14' 37" de longitud oeste, a una altura de 2250 m.s.n.m. en la parte inferior y a los 3100 m.s.n.m. como cota superior (Álvarez *et al.*, 1989; Caballero, 2002; Castillo *et al.*, 2002b; Castillo *et al.*, 2007).

El clima presente en la zona es templado subhúmedo, con régimen de lluvias en verano [Cb(w 1)w] sin una estación fría pronunciada; la temperatura media anual es de 15.5 °C, la precipitación promedio anual es de 870 mm, la distribución de la precipitación es muy desigual, dividiendo el año en una temporada lluviosa de junio a octubre y otra seca de noviembre a mayo (Castillo *et al.*, 2002b; Página en red: Reserva Ecológica Pedregal de San Ángel, 2007).

El Pedregal de San Ángel, también conocido como malpaís, por ser resultado de un derrame de lava y basalto de aproximadamente 80 km² producido por el volcán Xitle y conos adyacentes con una antigüedad de 2000 a 2500 años. Esta zona reviste un importante valor en términos de biodiversidad, ya que la superficie topográficamente accidentada, con sitios planos y abruptos, promontorios rocosos, grietas y hondonadas, ofrece una gran variedad de macro y microambientes en donde se pueden

desarrollar diversas especies con diferentes requerimientos ambientales (Álvarez *et al.*, 1989; Caballero, 2002; Castillo *et al.*, 2002b; Castillo *et al.*, 2007; Página en red: Reserva Ecológica Pedregal de San Ángel, 2007).

La flora de esta reserva pertenece a la Provincia de la Altiplanicie de la Región Xerofítica Mexicana del Reino Neotropical, de ahí que la vegetación haya sido clasificada como matorral xerófilo de alta elevación, la cual se presenta en condiciones de aridez y se puede encontrar un drenaje deficiente con suelos salinos, alcalinos y yesosos. En el caso particular de este sitio, la escasez de suelo y la composición basáltica del sustrato son los factores que explican su presencia en un sitio templado subhúmedo (Rzedowski, 1988; Castillo *et al.*, 2002b; Castillo *et al.*, 2007; Página en red: Reserva Ecológica Pedregal de San Ángel, 2007). En esta reserva se han encontrado cerca de 350 especies de plantas, de las cuales aproximadamente una centena de ellas tienen importancia por su valor medicinal y ornamental. La comunidad vegetal que domina es conocida como matorral de palo loco (*Pittocaulon praecox*) y varias especies endémicas del Pedregal (Castillo-Argüero *et al.*, 2004; Página en red: Reserva Ecológica Pedregal de San Ángel, 2007). En los años cincuenta, la comunidad vegetal del matorral de palo loco ocupaba algo más de 40 Km², pero la urbanización de la zona la ha reducido a menos de 3 Km², no obstante, el área de la reserva ecológica se ha incrementado de 124.5 ha que tenía en 1983 a 237.3 ha (Fig. 1; Álvarez *et al.*, 1989; Castillo *et al.*, 2007; Página en red: Reserva Ecológica Pedregal de San Ángel, 2007).



Fig. 1. Zona de colecta de *B. gracilis* en el Jardín Botánico Exterior de la UNAM, dentro de la Reserva Ecológica del Pedregal de San Ángel.

MATERIALES Y MÉTODOS

Colecta del material y procesamiento para el análisis histológico y morfológico

Se colectaron botones florales en distintas etapas de desarrollo y flores en anthesis de *B. gracilis*. Una parte del material se fijó en FAA (formol, ácido acético, etanol al 96 % y agua 2:1:10:7), mientras que otra se fijó en una solución de sulfato ferroso, formol y agua (0.2:1:9) y lo restante se destinó para algunas de las pruebas histoquímicas en fresco (vainillina, Alexander). Posteriormente los botones florales se separaron de acuerdo a su longitud y se establecieron diversas etapas de desarrollo.

De igual forma, se tomaron algunas anteras de material de herbario para llevar a cabo la técnica de acetólisis de los granos de polen (López *et al.*, 2005).

Prueba de viabilidad de polen (Alexander, 1980)

Se aplicó para conocer el porcentaje de viabilidad del polen. Con la ayuda de una aguja de disección se tomó una muestra de polen de varias anteras de diferentes flores y se colocó sobre un portaobjetos. Después se agregó una gota del reactivo de Alexander y se mezcló cuidadosamente. Se colocó un cubreobjetos y se observó en el momento. Los componentes del reactivo de Alexander permiten ver las paredes del polen en color verde, y si el polen es viable, el citoplasma se tiñe de magenta o rosa y los no viables sólo de color verde.

Deshidratación

El fijador (FAA) de las muestras, fue lavado con agua para posteriormente deshidratarlas en una serie de etanol gradual (50%, 70%, 85%, 96%, 100% y 100%) de 1:00 a 1:30 h en cada uno. Una parte del material se incluyó en LR-White y otra parte en Paraplast plus. Adicionalmente algunas muestras se prepararon para ser observadas en el microscopio electrónico de barrido.

Inclusión en LR-White

Después de la deshidratación los tejidos se pasaron por una mezcla de LR-White-Etanol 100% en proporción 1:1, durante 24 h, después se impregnaron en LR-White puro durante 24 h. La polimerización se llevó a cabo en cápsulas de gelatina en una estufa a 56 °C en ausencia de oxígeno. Se realizaron cortes de entre 1-2 µm de grosor en un ultramicrotomo (RMC MT 998) con cuchillas de vidrio de acuerdo con la técnica de López *et al.* (2005). Algunos de los cortes se tiñeron con azul de toluidina y otros se destinaron para las pruebas histoquímicas.

Inclusión en Paraplast plus

El material incluido en Paraplast se infiltró inicialmente con Paraplast-Xilol en proporción 1:2 y 1:1 y en Paraplast puro durante 24 h en cada uno a 56 °C aproximadamente y posteriormente se incluyeron en moldes metálicos. Los cortes de entre 8-15 µm de grosor, se obtuvieron mediante el uso de un microtomo de rotación (American Optical 820). Algunos de los cortes se desparafinaron y se tiñeron con safranina-verde rápido en metilcelosolve de acuerdo con la técnica de López *et al.* (2005); otros se destinaron para las pruebas histoquímicas. Las laminillas obtenidas mediante Inclusión en LR-White o Paraplast fueron observadas por microscopía de luz y se obtuvieron fotomicrografías.

Pruebas Histoquímicas

- *Ácido Peryódico-Reactivo de Schiff (APS) (identificación de polisacáridos insolubles)*

Se utilizaron laminillas del material fijado en FAA e incluido en Paraplast y algunas incluidas en LR-White, las cuales se hidrataron gradualmente para aplicar ácido peryódico durante 15 min. Se lavaron con agua y se aplicó el reactivo de Schiff durante 15 min. Se lavó con agua y posteriormente con ácido acético al 2% durante 1 min. Se enjuagó con agua y se deshidrató hasta xilol para después montar en resina.

- *Vainillina 10% en etanol absoluto (identificación de taninos condensados)*

Algunas de las laminillas se desparafinaron durante 30 min a 56 °C en Xilol y se pasaron hasta etanol 100%. Posteriormente se agregó una gota de vainillina y una gota de HCl 6M sobre cada corte. Se colocó el cubreobjetos y se observó en el momento debido a que es una tinción temporal.

- *Fijación-Tinción para taninos oxidados*

El material fijado en la solución de sulfato ferroso, formol y agua destilada durante 48 h, se lavó con agua para posteriormente infiltrarlo en Paraplast plus. Se realizaron cortes de 8-10 μm , se desparafinaron y se montaron en resina.

- *Azul negro de naftol-APS (identificación de proteínas-polisacáridos insolubles)*

Se desparafinaron algunas de las laminillas del material fijado en FAA y se hidrataron gradualmente para aplicar ácido peryódico durante 15 min. Se lavaron con agua y se aplicó el reactivo de Schiff durante 15 min. Se lavó con agua y posteriormente con ácido acético al 2% durante 1 min. Se enjuagó con agua y se deshidrató hasta etanol 50%. Se aplicaron unas gotas de azul negro de

naftol durante 3 min. Se enjuagó con butanol y se pasó a xilol durante 3 min. Finalmente se montó en resina.

- *Lugol (identificación de almidón)*

Parte del material fijado en FAA e incluido en Paraplast plus se utilizó para aplicarle lugol durante 5 min para posteriormente observar en la misma solución.

Acetólisis de polen (López et al., 2005)

Se disectaron anteras de flores en anthesis herborizadas y se maceraron en seco en un tubo de vidrio. Después se agregó la mezcla acetólica (anhídrido acético y ácido sulfúrico 9:1) cubriendo el macerado. El tubo se mantuvo a baño maría alrededor de 65 a 70 °C de 8 a 9 min agitando continuamente. Para detener la reacción se agregó ácido acético y se centrifugó a 2500 rpm durante 5 min. Se decantó y se agregó ácido acético y se centrifugó a 2500 rpm durante 5 min. Se decantó y se añadió agua para volver a centrifugar a 2500 rpm durante 5 min. Se tamizó el contenido y se colocó en un tubo limpio. Se centrifugó a 2500 rpm durante 7 min para obtener un concentrado, el cual finalmente se montó en un portaobjetos con gelatina. Se homogeneizó sobre una plancha y se colocó un cubreobjetos. Una vez seca la preparación se selló con esmalte de uñas transparente.

Preparación del material para ser observado por Microscopía Electrónica de Barrido (MEB)

Para conocer la organogénesis floral se disectaron botones y flores de todas las etapas posibles, tanto masculinas como femeninas, removiendo principalmente las unidades del perianto. Después de deshidratarlas en etanoles graduales (30%, 50%, 70%, 85%, 96%, 100%) se procesaron en una secadora de punto crítico con CO₂ (Emitech K850). Posteriormente se montaron en portamuestras metálicos y se cubrieron con oro por medio de

una ionizadota (Emitech K550), para después ser observadas en un microscopio electrónico de barrido (Hitachi S-2460N; (Vázquez y Echeverría, 2000). Del material observado se tomaron fotomicrografías. La metodología utilizada se representa en el diagrama de flujo 1.

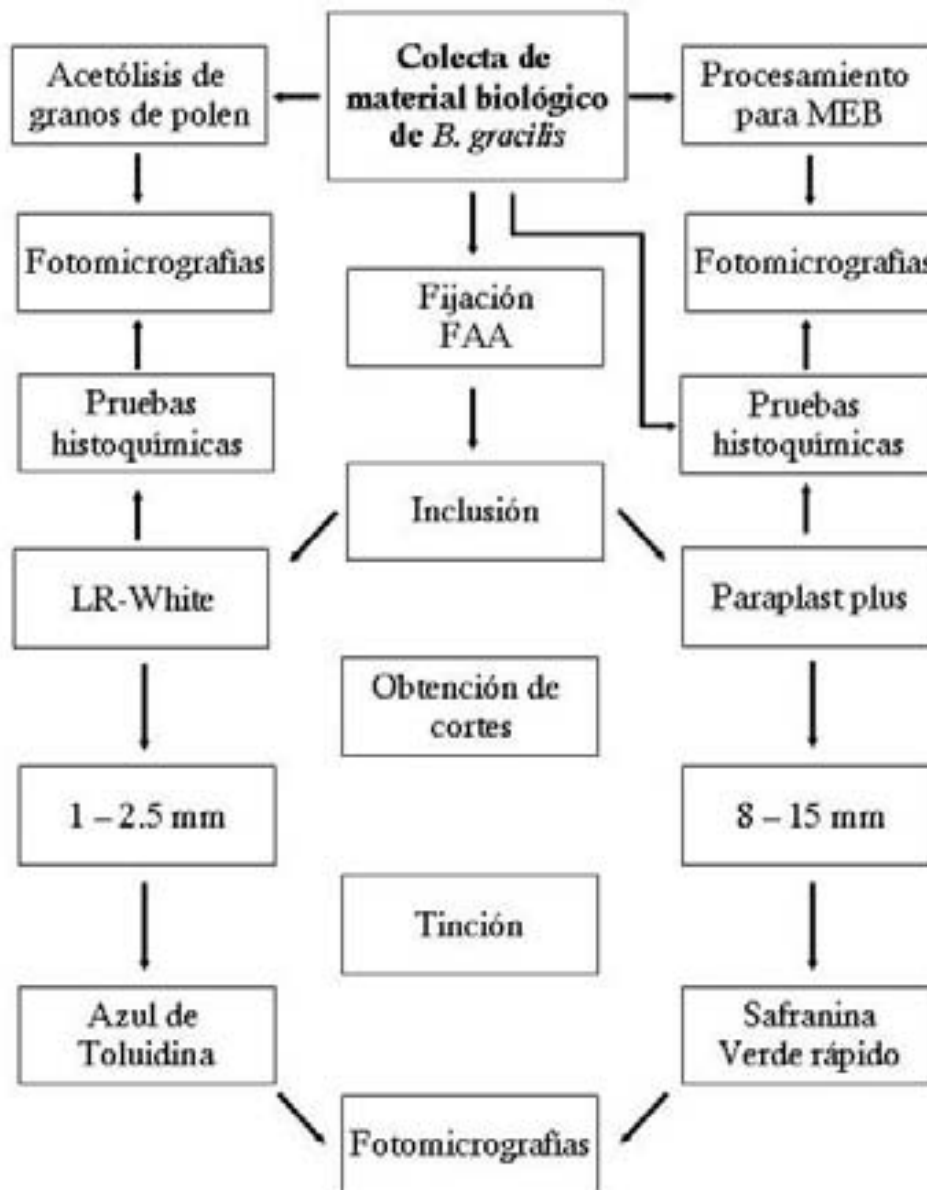


Diagrama de flujo 1. Metodología empleada para el procesamiento de muestras biológicas de *Begonia gracilis*.

RESULTADOS

Micromorfología

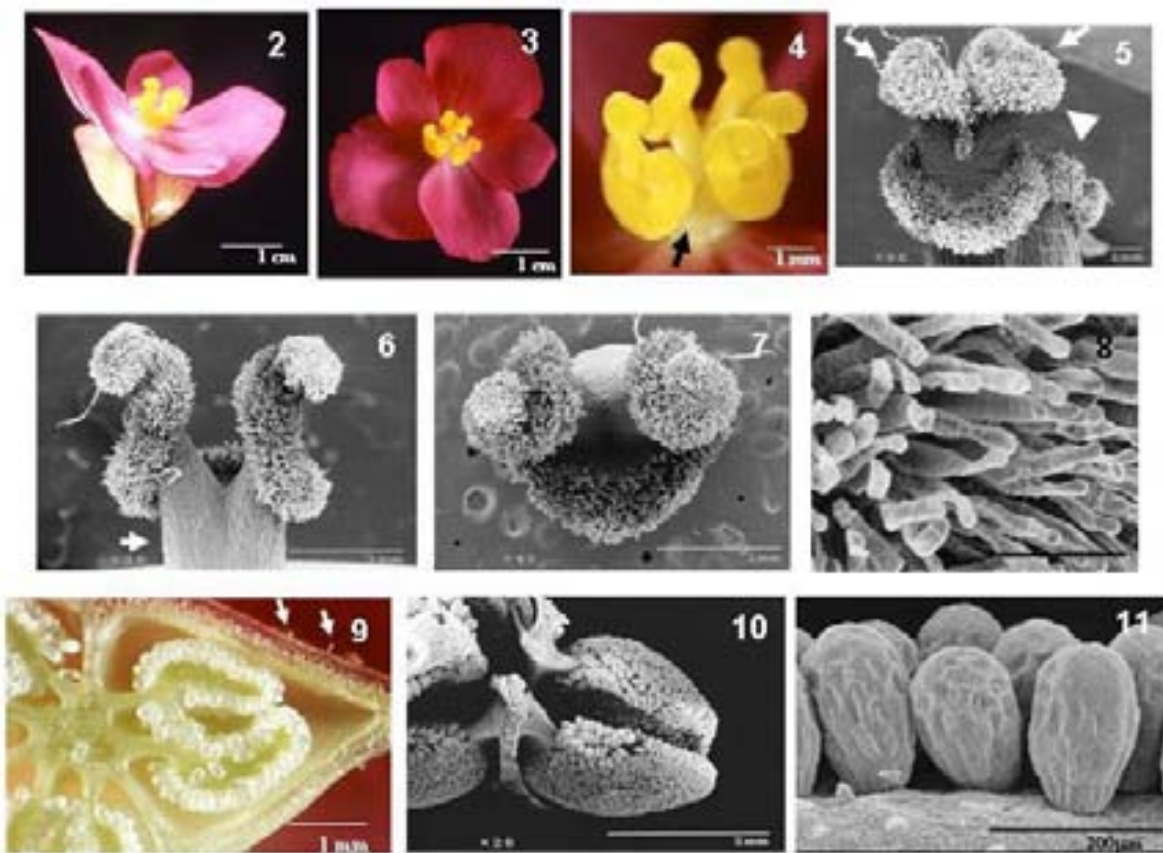
Micromorfología de la flor femenina

Las inflorescencias de *Begonia gracilis* están compuestas por flores masculinas y flores femeninas (Fig. 12).

La flor femenina en antesis de está formada por cinco tépalos ovados de color rosa, los dos exteriores son mayores que los tres interiores (Figs. 2-3). Las partes del perianto están fusionadas a lo largo del ovario y forman en la parte distal de éste un cuello estrecho. El gineceo está formado por tres carpelos. Hay tres estilos amarillos, fusionados en la base (Figs. 4-5), pero en el ápice se separan y cada uno termina en un estigma amarillo y bifurcado (Figs. 6-7).

Los estigmas son de tipo seco ya que no muestran secreción aparente al momento de la antesis. Son bilobulados y cada lóbulo se encuentra enrollado de forma helicoidal (Figs. 4-7) y lleno de papilas, las cuales son abundantes, unicelulares y alargadas (Fig. 8).

El ovario es ínfero y está conformado por tres carpelos que forman tres lóculos, posee un ala mayor (prolongación del carpelo), de tamaño también variable y triangular, las otras dos alas, de los otros carpelos, son más pequeñas y redondeadas (Fig. 2). En cada lóculo hay una placenta axial y bilamelar (Figs. 9-10) a la que están unidos numerosos óvulos con funículo corto (Fig. 11). Asimismo se observa la presencia de numerosos tricomas glandulares pluricelulares en la epidermis externa (Fig. 9).



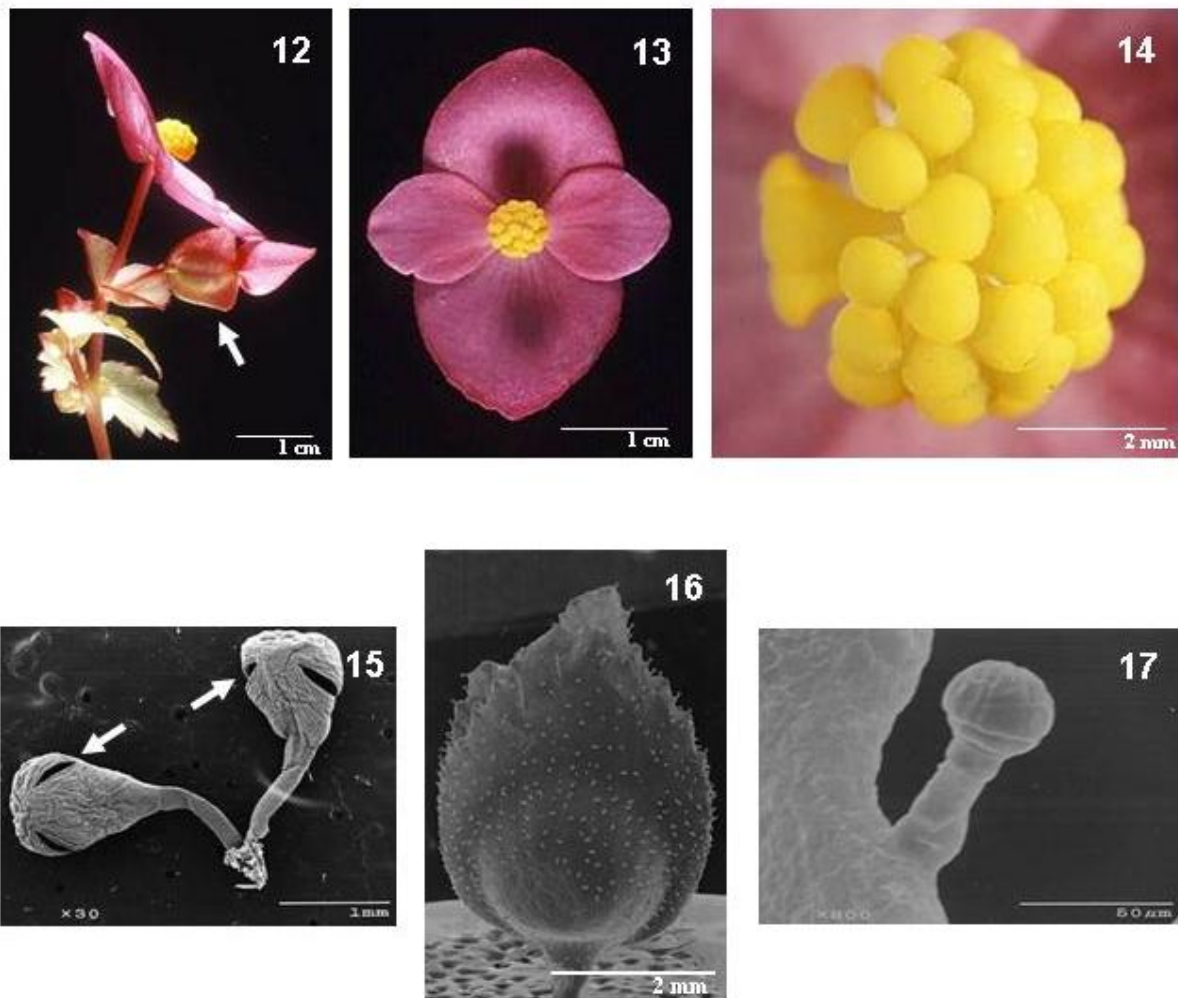
Figuras 2-11. Morfología de la flor femenina. 2. Flor femenina en antesis vista lateralmente. 3. Flor femenina de frente. 4. Acercamiento de los estigmas. Se observa la base del estilo (flecha). 5. Acercamiento del estigma con sus dos lóbulos estigmáticos (flechas) llenos de papilas (cabeza de flecha). 6. Estigma bilobulado, en vista lateral, en una etapa más avanzada de desarrollo sobre un estilo en su parte libre (flecha). 7. Estigma bilobulado en vista frontal. 8. Acercamiento de papilas estigmáticas. 9. Acercamiento de un lóculo de un ovario maduro. Se observan algunos tricomas (flechas). 10. Placenta bilamelar de un lóculo. 11. Acercamiento de óvulos maduros.

Micromorfología de la flor masculina

La flor masculina en antesis consta de cuatro tépalos semejantes en forma y color, a los de las femeninas y se encuentran en dos verticilos, en uno están los dos más grandes y externos y en el otro los pequeños e internos (Fig. 13).

El androceo está conformado por aproximadamente 36 estambres (Figs. 13-14). Las anteras son basifijas, bilobuladas y tetrasporangiadas, asimismo, cada lóbulo tiene una marcada línea de dehiscencia longitudinal. El filamento en etapa de antera madura se alarga (Fig. 15).

Los tépalos y sus pedicelos presentan tricomas glandulares pluricelulares (Figs. 16-17).



Figuras 12-17. Morfología de la flor masculina. 12. Flor masculina (en antesis) y botón de flor femenina vistas de perfil. Se puede ver la diferencia en tamaños entre ambas flores y el ovario ínfero (flecha). 13. Vista frontal de flor masculina con dos verticilos de tépalos, los más internos son más pequeños. 14. Acercamiento de las anteras. 15. Anteras maduras con dehiscencia longitudinal (flechas). 16. Botón floral masculino. Se observan tricomas en la epidermis abaxial de los tépalos. 17. Tricoma pluricelular glandular uniseriado sobre un tépalo de flor masculina.

Desarrollo del gineceo

Desarrollo del ovario

Las flores femeninas tienen un ovario tricarpelar. La placenta axial y bilamelar se diferencia desde etapas muy tempranas de desarrollo del ovario (Fig. 18). Conforme los carpelos se cierran para formar un ovario trilocular, algunas de las células de la epidermis interna comienzan a secretar sustancias ergásticas taniníferas y en la epidermis externa ya se observan tricomas en desarrollo. Las células de la protodermis y de la subprotodermis que corren a lo largo de la placenta comienzan a dividirse anticlinalmente. El tejido de células subprotodérmicas se divide en varios planos aumentando en estratos y se van formando ligeras protuberancias (Figs. 19-20).

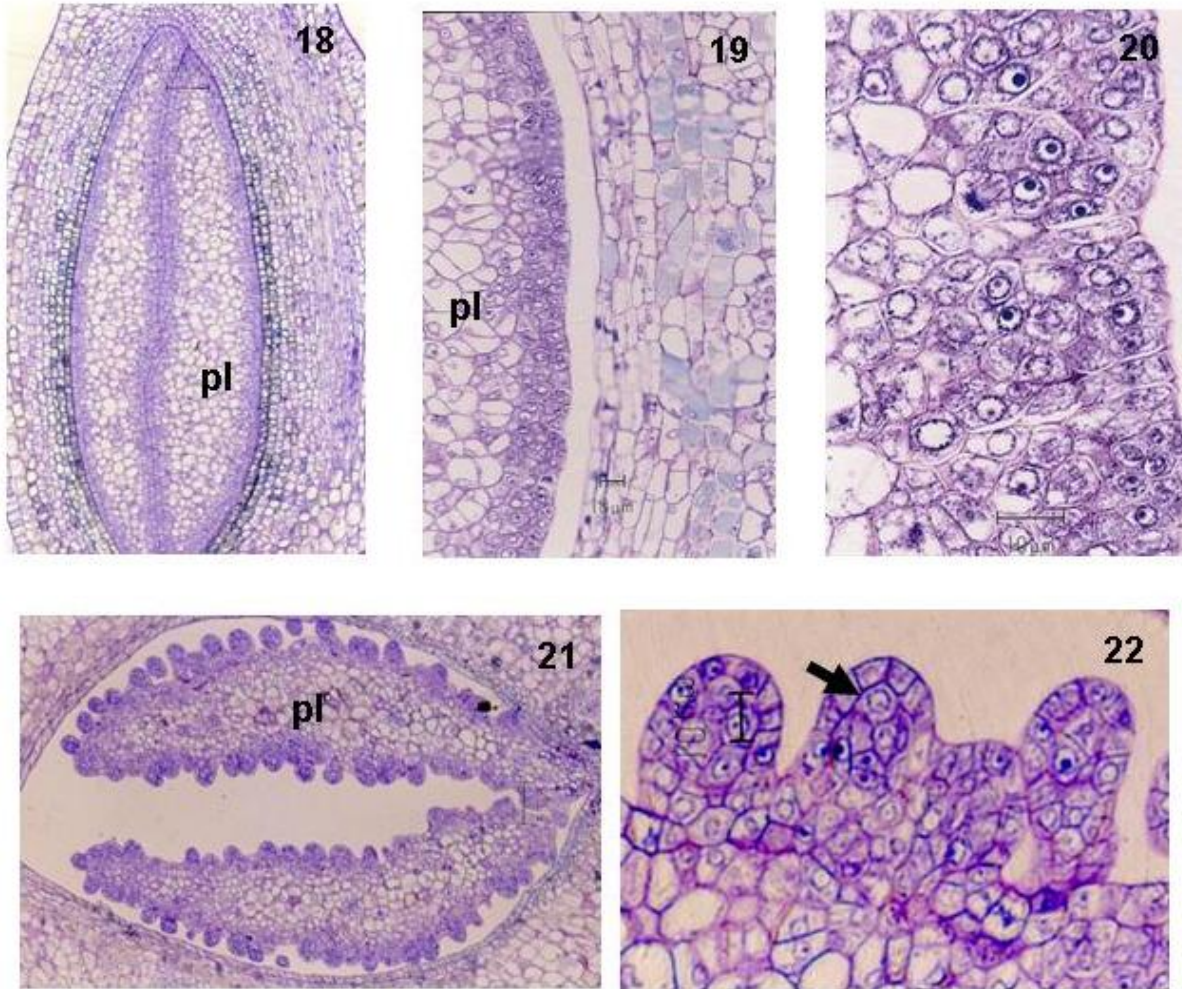
En cada primordio placentario se distingue una protodermis uniestratificada y células parenquimáticas en división (Fig. 20). La iniciación de los óvulos se da a lo largo de la placenta de cada uno de los lóculos (Fig. 21). Cada primordio ovular se distingue por una protodermis y bajo ella se forma una célula arquesporial (Fig. 22). Los primordios ovulares comienzan a curvarse porque empieza un crecimiento diferencial del primordio nucelar y surge el primordio del tegumento interno, a partir de divisiones en la subprotodermis y protodermis (Fig. 23).

Posteriormente y conforme el óvulo en desarrollo aumenta su curvatura, en la parte dorsal de todo el óvulo la células epidérmicas aumentan considerablemente de tamaño y aparece el primordio del tegumento externo, siendo mayor su diferenciación en la parte dorsal y más alejada del funículo (Fig. 24). Cada primordio de tegumento es biestratificado (Fig. 25). El tegumento externo crece rápidamente y cubre al tegumento interno.

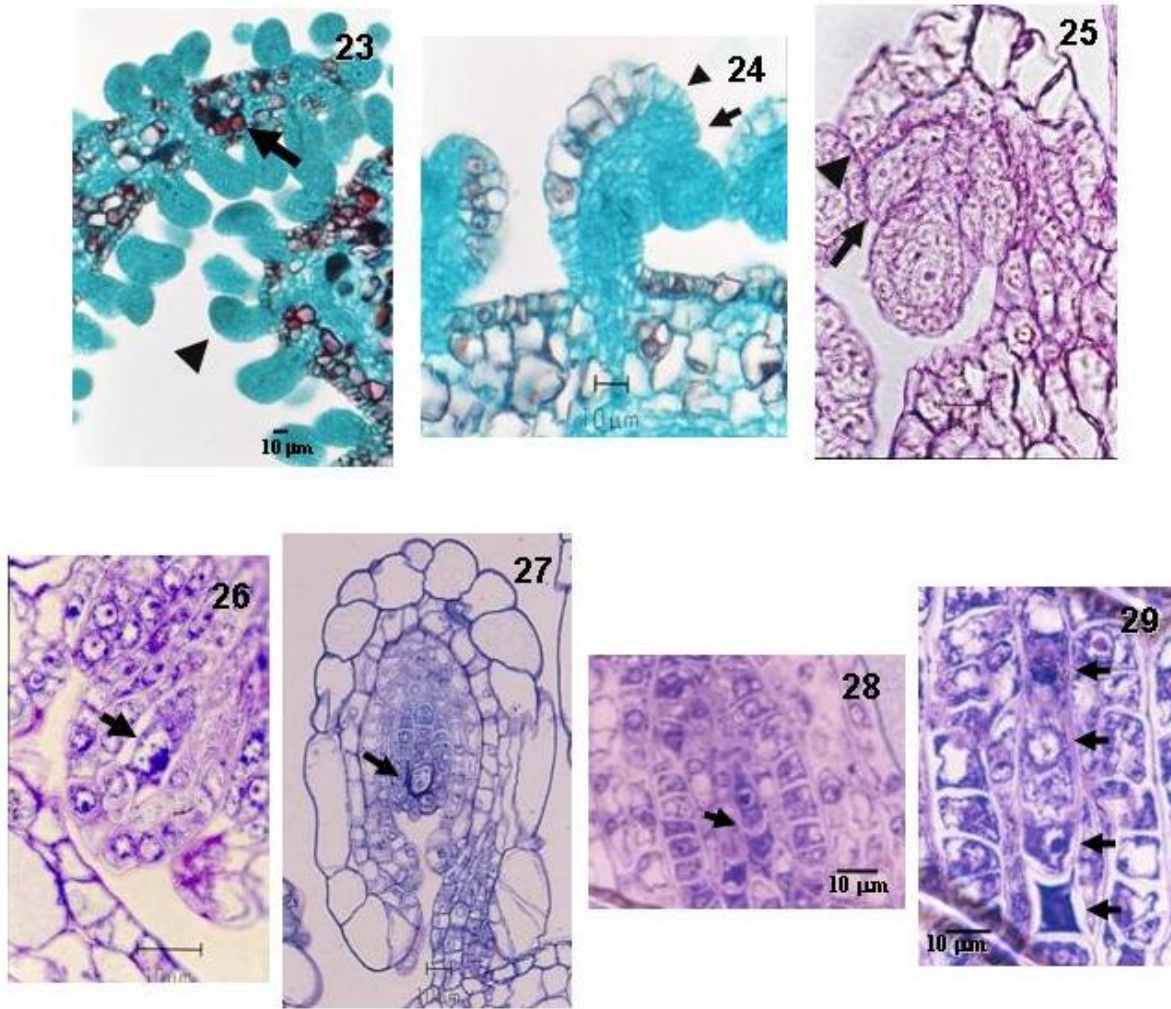
La nucela rodea a la célula arquesporial, la cual se divide y forma a una célula parietal en posición subepidérmica y una célula madre de la megaspora,

sin embargo, en esta etapa el tegumento interno no cubre a la nucela (Fig. 26), lo hace cuando la nucela forma varias células alrededor de la célula madre de la megaspora (Fig. 27).

El tegumento externo presenta dos estratos (tres o cuatro en la zona cercana al funículo), pero el estrato externo es de células grandes y globosas, sobre todo aquellas cercanas al funículo, mientras que las de su epidermis interna, al igual que los dos estratos del tegumento interno son más pequeñas. El micrópilo comienza a formarse por ambos tegumentos (Fig. 27).



Figuras 18-22. Iniciación de óvulos. 18. Corte longitudinal de ovario joven al centro la placenta. 19. Acercamiento de la placenta. 20. Iniciación de primordios ovulares. 21. Corte transversal de lóculo de ovario mostrando una placenta axial bilamelar. 22. Acercamiento a primordios ovulares con células arquesporiales (flecha). *pl*, placenta.



Figuras 23-29. Desarrollo del óvulo y megasporogénesis. **23.** Acercamiento de la placenta con varios primordios ovulares (cabeza de flecha), algunos comenzado a curvarse y placenta llena de células con taninos (flecha). **24.** Corte longitudinal de un óvulo. Se puede observar la epidermis que rodea al funículo e iniciación del tegumento interno (flecha) y externo (cabeza de flecha). **25.** Corte longitudinal de óvulo. Tegumento externo señalado por la cabeza de flecha y el interno por la flecha. **26.** División de la célula arquesporial (flecha) para formar una célula parietal pequeña en posición subepidérmica y una célula grande madre de la megaspora. **27.** Célula madre de la megaspora (flecha). **28.** Meiosis I de la célula madre de la megaspora (flecha). **29.** Meiosis II. Se observa una tétrada lineal de megasporas (flechas).

Megasporogénesis y megagametogénesis

Ocurre la meiosis I de la célula madre de la megaspora (Fig. 28) y la meiosis II formando una tétrada lineal de megasporas rodeada de dos estratos nucelares (Fig. 29).

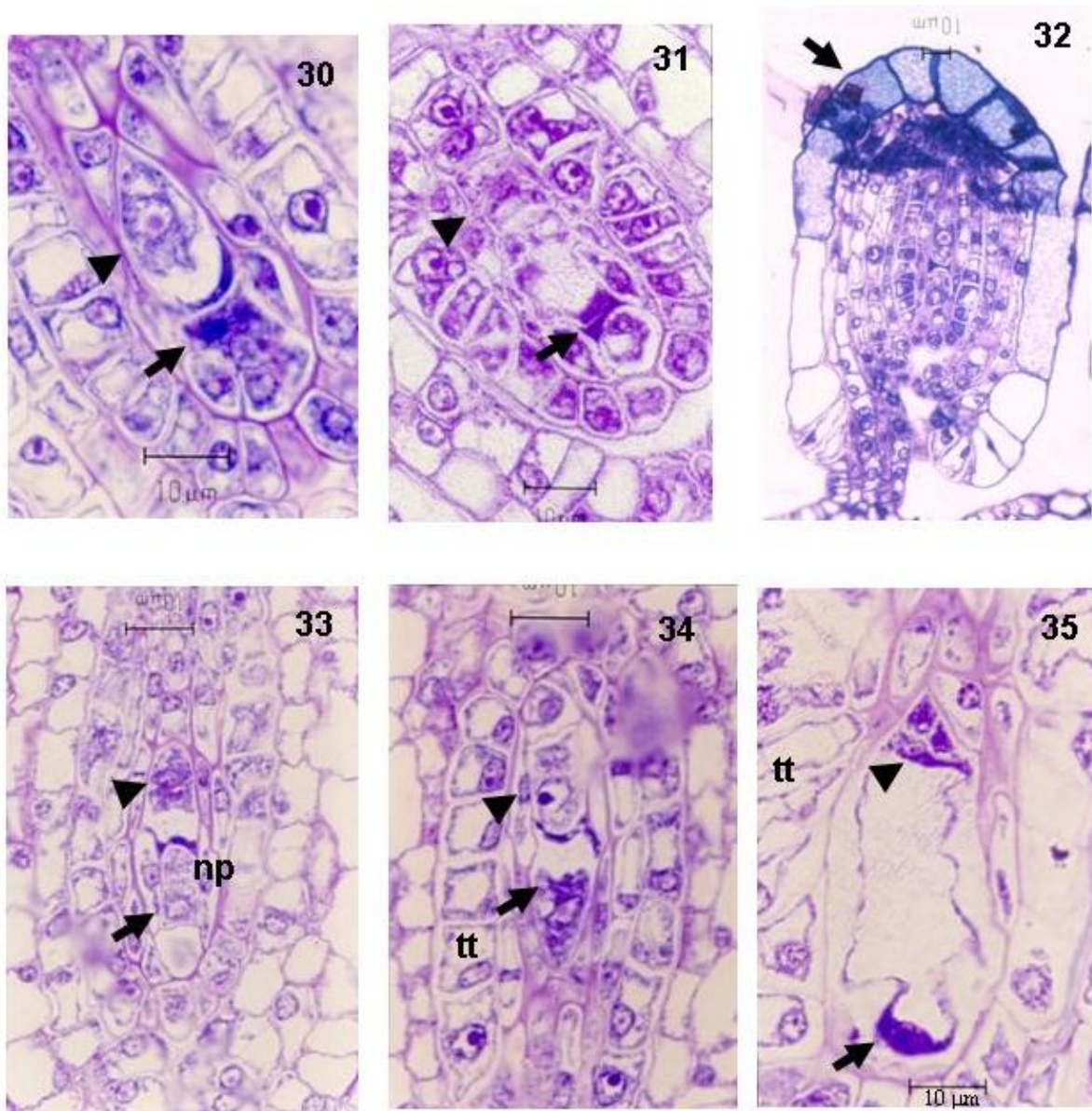
La megaspora funcional es la calazal y entra en mitosis I para iniciar la formación del saco embrionario tipo *Polygonum*, mientras que las tres microsporas micropilares degeneran (Figs. 30-31). El óvulo se ha curvado completamente convirtiéndose en anátropo (Fig. 32).

El saco embrionario maduro es heptacelular y octanucleado. Como no se ubican todas las células en un mismo plano, fue difícil obtener en un solo corte las siete células, pero sí se tienen evidencias de ellas por separado. Se pudieron observar las tres antípodas, la célula central binucleada, la ovocélula y las dos sinérgidas en diferentes cortes histológicos (Figs. 33-35). En esta etapa, uno de los dos estratos de la nucela casi degenera y los tegumentos siguen biestratificados.

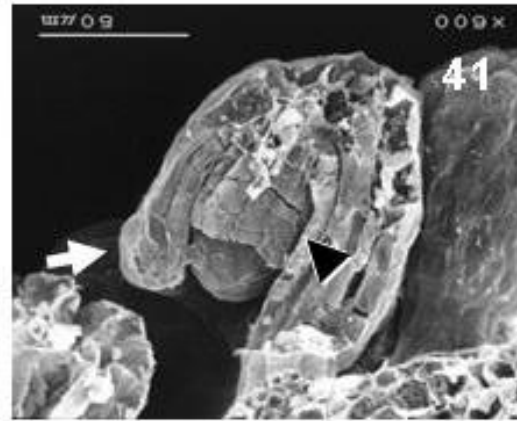
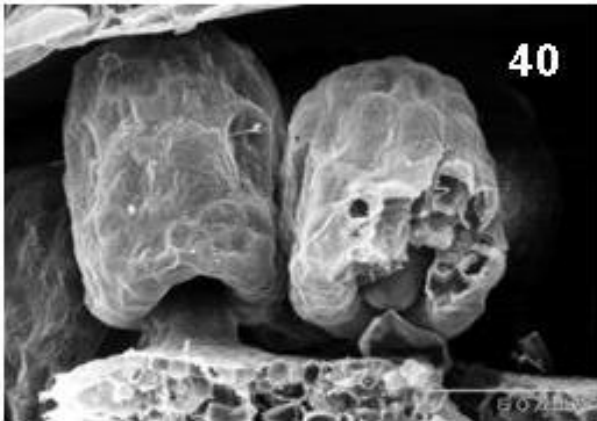
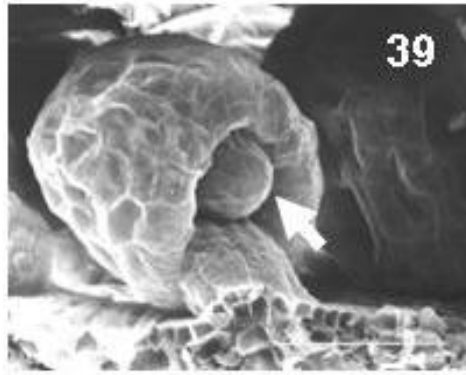
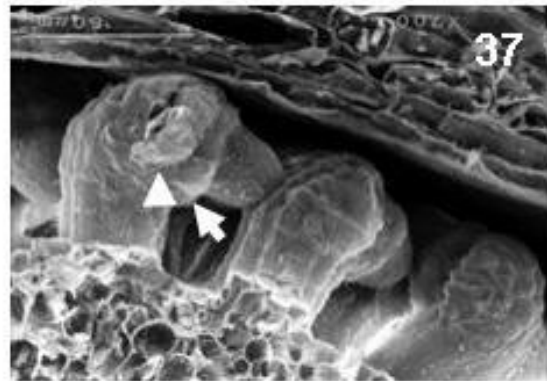
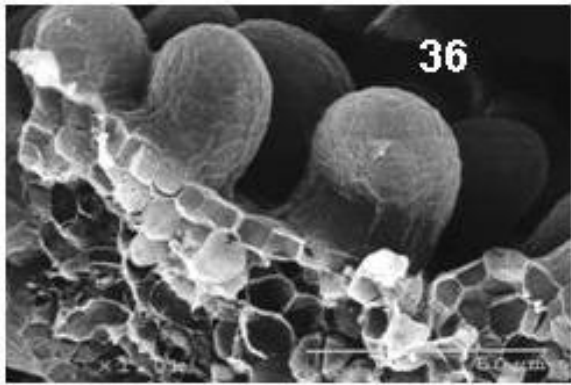
Las etapas de desarrollo anteriores también se aprecian externamente en la secuencia de desarrollo de los óvulos observados al microscopio electrónico de barrido, en ellos se distingue desde el surgimiento de los primordios ovulares, el inicio de la curvatura de cada óvulo (Fig. 36), el poco alargamiento del funículo, el surgimiento del primordio del tegumento interno y del tegumento externo (Figs. 37-38), así como la elongación del tegumento externo para cubrir al tegumento interno (Figs. 39-40); aunque en esta etapa al disectar el tegumento externo se nota que el tegumento interno no ha cubierto a la nucela (Fig. 41), lo cual ocurre posteriormente. El óvulo maduro es casi sésil ya que el funículo es corto (Fig. 11).

Antes de la fecundación se observa un endotelio o tapete tegumentario formado por la epidermis interna del tegumento interno (Figs. 34-35), sus células se alargan un poco radialmente al saco embrionario. El micrópilo es

anfistomo ya que lo forman ambos tegumentos (Figs. 27, 32). De acuerdo a los patrones de desarrollo, el óvulo maduro se describe como crasinucelado, anátropo y bitégmico. Las células de ambos tegumentos a la altura del micrópilo forman un collar que posteriormente funcionará como un opérculo (Figs. 27, 32, 64).



Figuras 30-35. Saco embrionario. 30 y 31. Megaspora funcional (cabeza de flecha) y degeneración de las tres microsporas micropilares (flecha). 32. Óvulo completamente curvado (anátropo). La flecha indica la presencia de taninos. 33 Saco embrionario donde se observan las antípodas (cabeza de flecha), los núcleos polares y la ovocélula (flecha). 34. Saco embrionario en el cual se observan las antípodas (cabeza de flecha) y los núcleos polares (flecha). 35. Saco embrionario maduro en el que se observan las antípodas degenerando (cabeza de flecha) y la ovocélula (flecha). *np*, núcleos polares; *tt*, tapete tegumentario.



Figuras 36-41. Desarrollo de óvulos. 36. Inicio de la curvatura de los óvulos. 37 y 38. Surgimiento del primordio del tegumento interno (cabeza de flecha) y externo (flecha). 39 y 40. El tegumento externo comienza a cubrir al interno y a la nucela (flecha). 41. Vista lateral. Se observan los dos tegumentos en desarrollo (cabeza de flecha y flecha). La nucela aún no está cubierta.

Desarrollo de los estilos y los estigmas

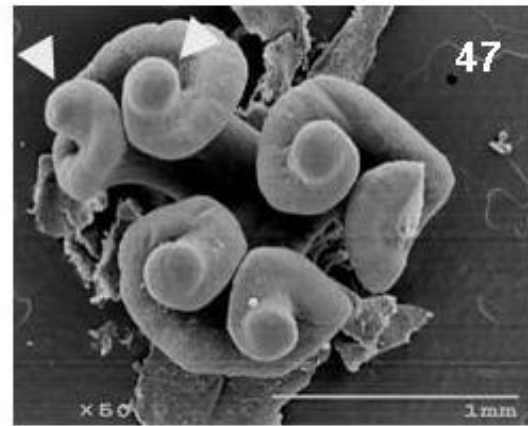
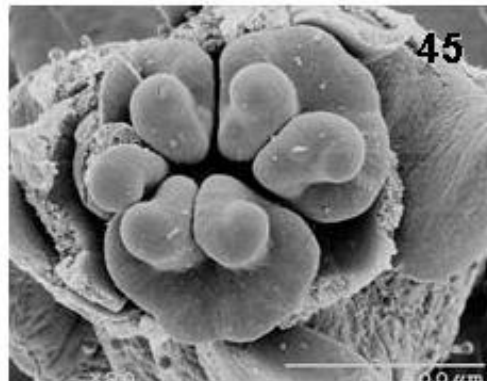
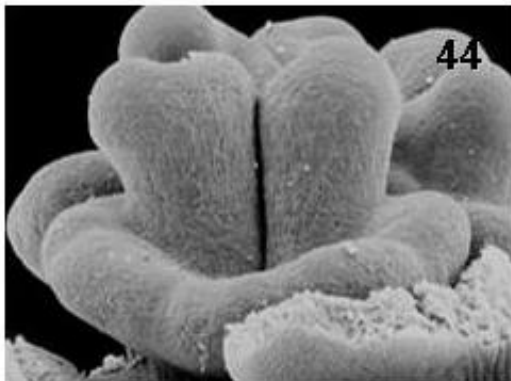
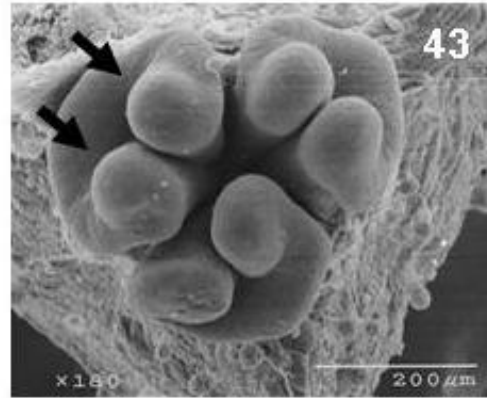
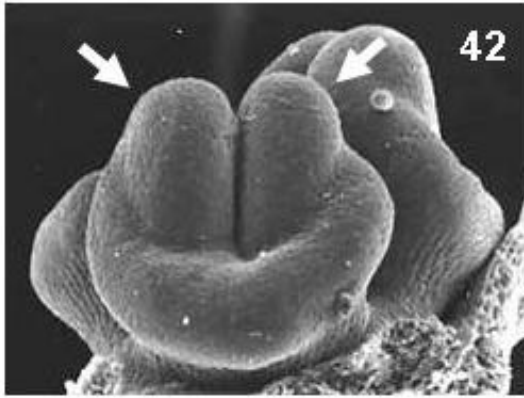
El ovario ínfero de *Begonia gracilis* se encuentra fusionado con el perianto y receptáculo. Una vez que se forma el ovario (que coincide con la activación de la placenta para permitir la iniciación de los primordios de los óvulos), surge un estilo corto formado por los tres carpelos fusionados, pero en la parte apical están libres, distinguiéndose su independencia a la altura en que se insertan los estigmas (Fig. 42).

El surgimiento y desarrollo de los estigmas tienen una secuencia compleja. Cada estigma se bifurca tempranamente doblándose sobre sí mismo, al mismo tiempo que sus extremos forman dos lóbulos, que a su vez se enrollan siempre hacia adentro (Figs. 42-43). De esta manera, en vista frontal, uno de los lóbulos se enrolla en dirección a las manecillas del reloj y el otro lóbulo en sentido opuesto. Cada bifurcación formará un lóbulo en forma de hélice desde etapas tempranas del desarrollo (Figs. 44-47), lo cual se puede observar en la secuencia de diferenciación y enrollamiento de los lóbulos estigmáticos en vista frontal y lateral en el microscopio electrónico de barrido (Figs. 42-47). Conforme se termina el enrollamiento, surgen de la epidermis interna del carpelo múltiples papilas unicelulares (Figs. 5-8).

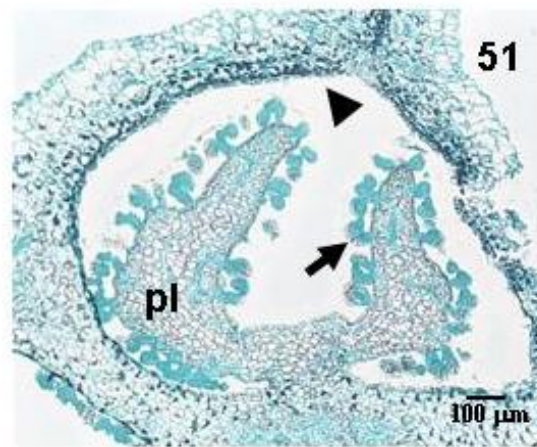
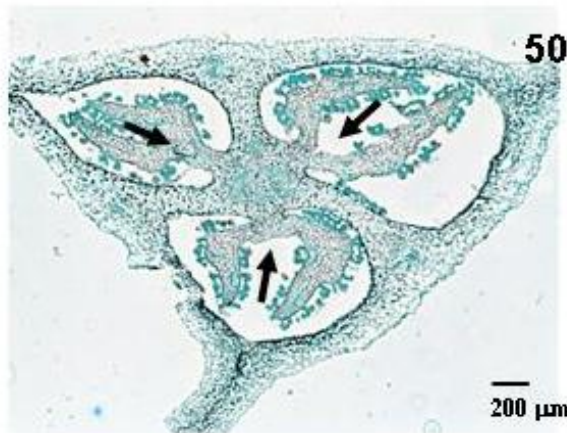
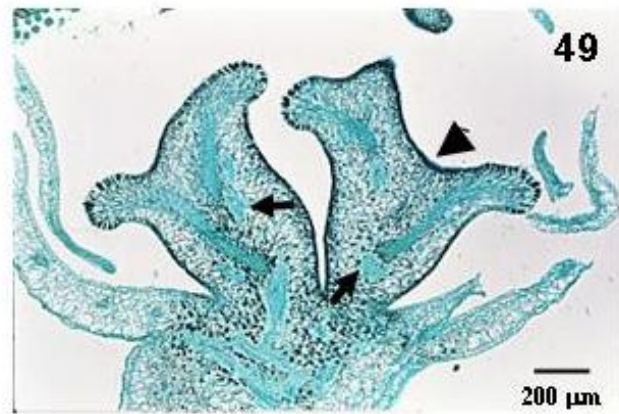
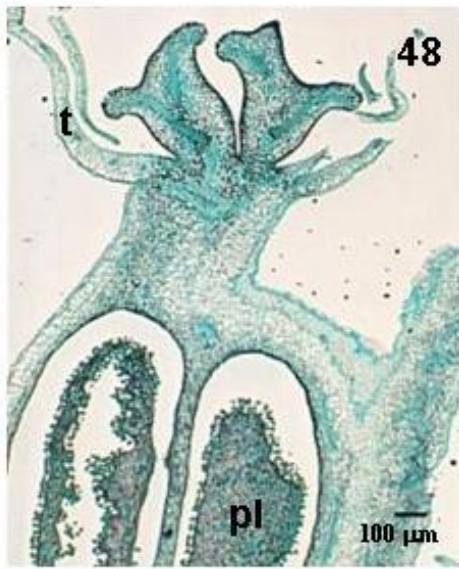
Los estigmas son de tipo seco porque no se distingue secreción alguna al momento de la antesis. Aunque al hacer cortes histológicos estas células tienen apariencia secretora y el citoplasma se observa denso. El tejido de transmisión sale del centro de las placentas hacia la parte superior del ovario y penetra a la base del estilo y en el ápice se bifurca hacia cada uno de los tres estilos independientes (Figs. 48-49).

Se observaron sustancias ergásticas taniníferas en algunas células de los estigmas y estilos en formación (Figs. 48-49), las cuales al inicio son pequeñas. Asimismo, la epidermis interna del ovario tiene células pequeñas con taninos y

almidón mientras que la epidermis externa tiene células grandes y sin sustancias ergásticas (Figs. 50-51).



Figuras 42-47. Estilos y estigmas en desarrollo. 42 y 43. Vista lateral y frontal de estigmas jóvenes. Se inicia la bifurcación de cada lóbulo estigmático (flechas). **44 y 45.** Vista lateral y frontal de estigmas jóvenes en estado de desarrollo intermedio. **46 y 47.** Vista lateral y frontal de estigmas jóvenes, se observa la parte libre de cada estilo (flecha) y el inicio del enrollamiento de cada uno de los lóbulos estigmáticos (cabezas de flecha).



Figuras 48-51. Anatomía de la flor femenina. 48. Corte longitudinal de botón floral. Se pueden observar dos de los tres lóculos, así como las placentas con numerosos primordios ovulares y el tejido de transmisión de los estigmas y estilos en desarrollo. 49. Acercamiento de los estigmas. La epidermis de los estigmas conteniendo taninos (cabeza de flecha). También se observa el inicio de las papilas estigmáticas y el tejido de transmisión (flechas). 50. Corte transversal de ovario. Se pueden observar claramente las placentas bilamelares en cada lóculo (flechas). 51. Acercamiento de uno de los lóculos del ovario. La flecha indica los óvulos y la cabeza de flecha los taninos. *pl*, placenta; *t*, tépalo.

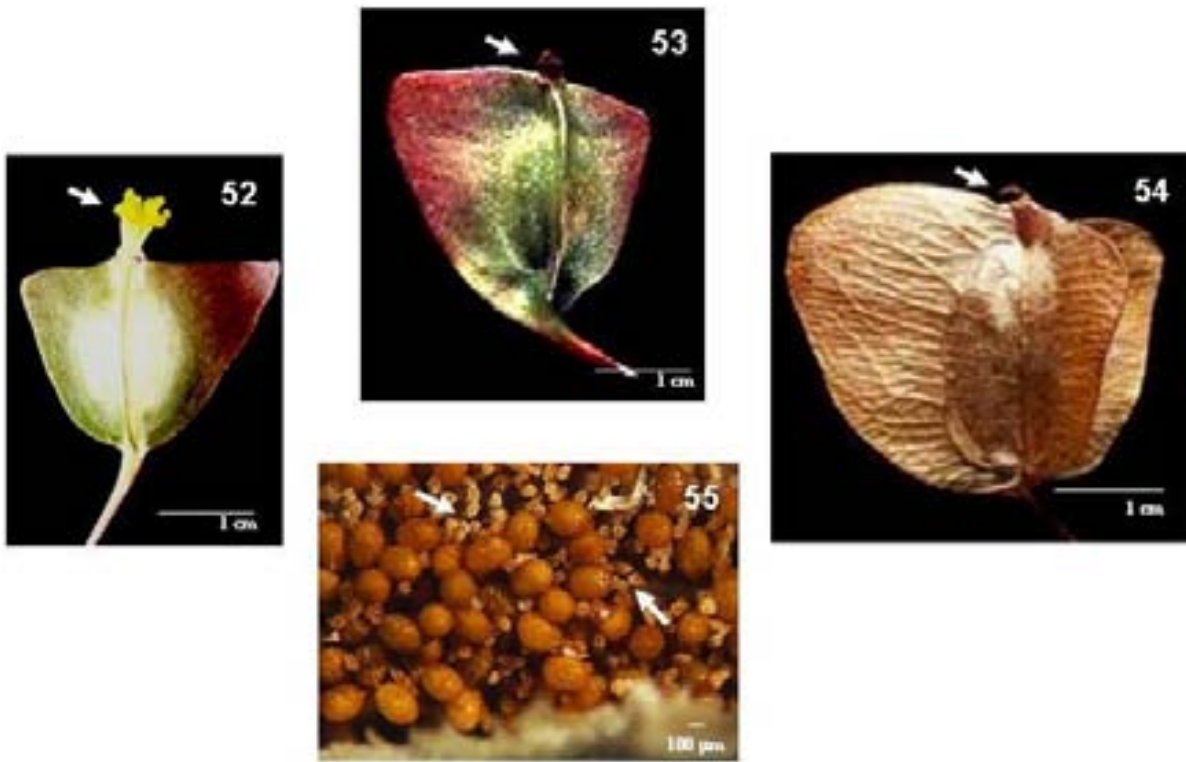
Desarrollo de la semilla

El fruto es una cápsula trilocular dehiscente, de tamaño variable, con el estigma persistente y muchos de sus óvulos sin fecundarse (Figs. 52-55).

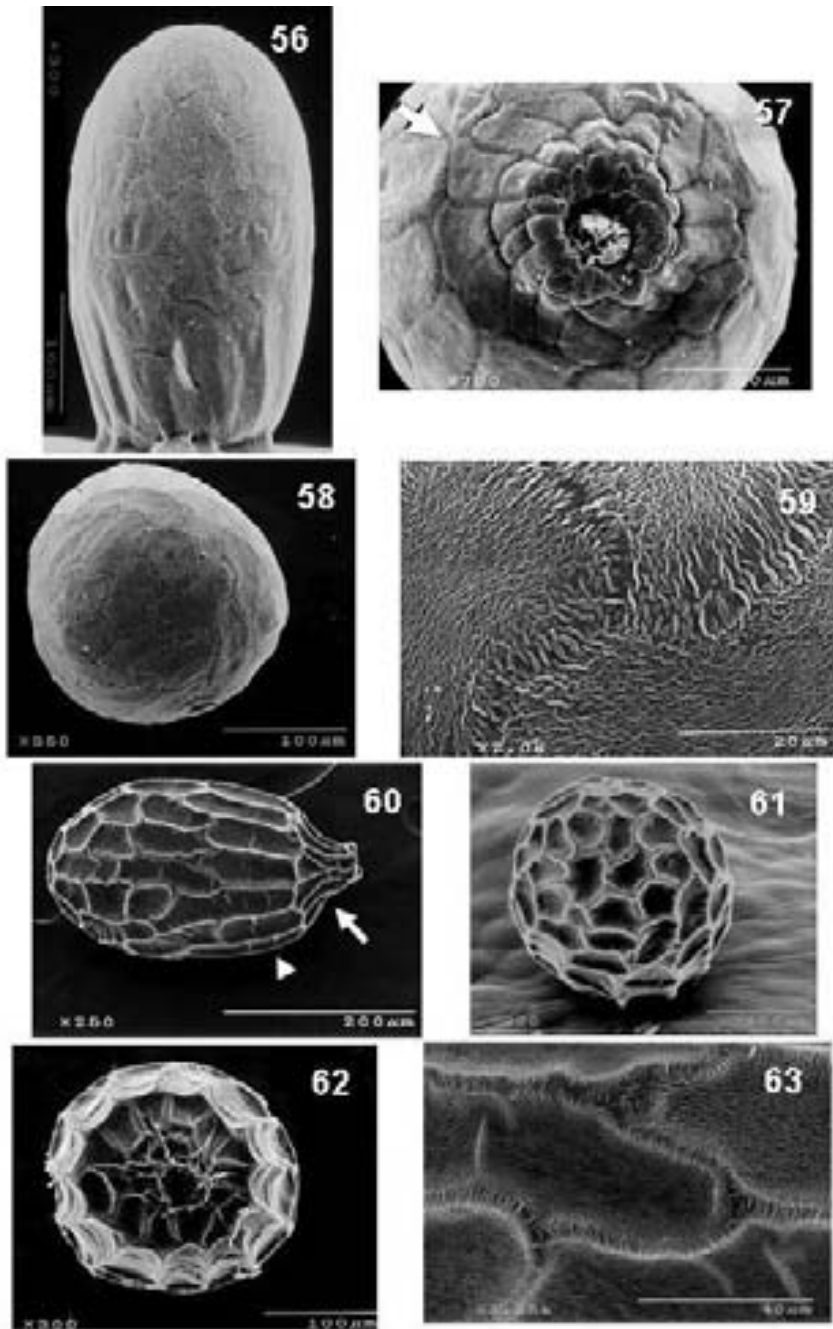
Las semillas son numerosas, ovoides y de color pardo claro con un opérculo formado por las células del tegumento externo de la región hilo-micropilar y con un anillo de células del collar, que son células alargadas en la testa entre el opérculo y las células de la zona calazal (Figs. 60, 62). Este anillo ocupa casi un tercio de toda la cubierta seminal.

La exotesta cuando joven posee células globosas (Figs. 56-59), pero en las semillas maduras estas células se deshidratan (Figs. 60-63).

La ornamentación de la exotesta es rugoso-estriada (Fig. 63).



Figuras 52-55. Frutos y semillas. 52-54. Frutos de perfil en etapas joven, intermedia y madura. Se nota la diferencia entre los tamaños de las alas y la persistencia del estigma (flecha). 55. Semillas maduras y óvulos abortivos (flechas).



Figuras 56-63. Semillas 56. Vista lateral de semilla joven. 57. Vista micropilar de semilla joven. Se nota el opérculo (flecha). 58. Vista calazal de semilla joven. 59. Acercamiento de la cubierta de semilla joven. 60. Vista lateral de semilla madura. Las células de la cálaza son más cortas y redondeadas que las células alargadas del collar (cabeza de flecha) cercanas a las del opérculo (flecha). 61. Vista calazal de semilla madura. 62. Vista micropilar de semilla madura. 63. Acercamiento de la testa de semilla madura.

La fecundación de *Begonia gracilis* es porógama. Debido a la gran cantidad de óvulos contenidos en el ovario también son muchos los tubos polínicos que llegan a él por el tejido de transmisión desde las papilas estigmáticas, estilos y placentas. Se observaron tubos polínicos creciendo en la epidermis de la placenta (Figs. 64-65) y entrando por el micrópilo (Figs. 64, 66-67).

Al momento de la fecundación las células del tegumento interno se alargan hasta ponerse en contacto con la epidermis placentaria para permitir la entrada del tubo polínico al micrópilo (Fig. 64). Sólo un tubo polínico ingresa al micrópilo y descarga en una de las sinérgidas, la otra comienza a degenerar un poco antes (Fig. 67).

Los núcleos polares se fusionan previamente a la fecundación, formando un núcleo que se une con uno de los núcleos espermáticos del tubo polínico formando el núcleo primario del endospermo, que se presume triploide (Fig. 68). El otro núcleo espermático se une con la ovocélula para formar el cigoto (Figs. 66-68).

El cigoto entra en una etapa de letargo, mientras que el núcleo primario del endospermo por cariocinesis se divide y cada núcleo migra hacia los polos para posteriormente dividirse varias veces, antes de que se presente la primera división del cigoto, y acomodarse en la periferia (Fig. 69), de tal manera que el patrón de desarrollo del endospermo es nuclear.

Posteriormente, alrededor de cada núcleo se forman la pared y membrana celular, en un patrón casi centrípeto, ya que las primeras paredes en formarse son las de la periferia, y las del centro al final. Una vez que la capa más externa del endospermo se forma, sus células se dividen anticlinalmente, de tal manera que sólo se forma una capa llamada aleurona (Figs. 70, 72), mientras que el resto de las células del endospermo pueden seguirse dividiendo sin un patrón definido.

La primera división del cigoto es transversal, ocurriendo cuando el endospermo está formado por unos cuantos núcleos. Posteriormente la célula

apical, de las dos resultantes, se divide longitudinalmente y la basal transversalmente, como en un tipo de embriogénesis onagráceo.

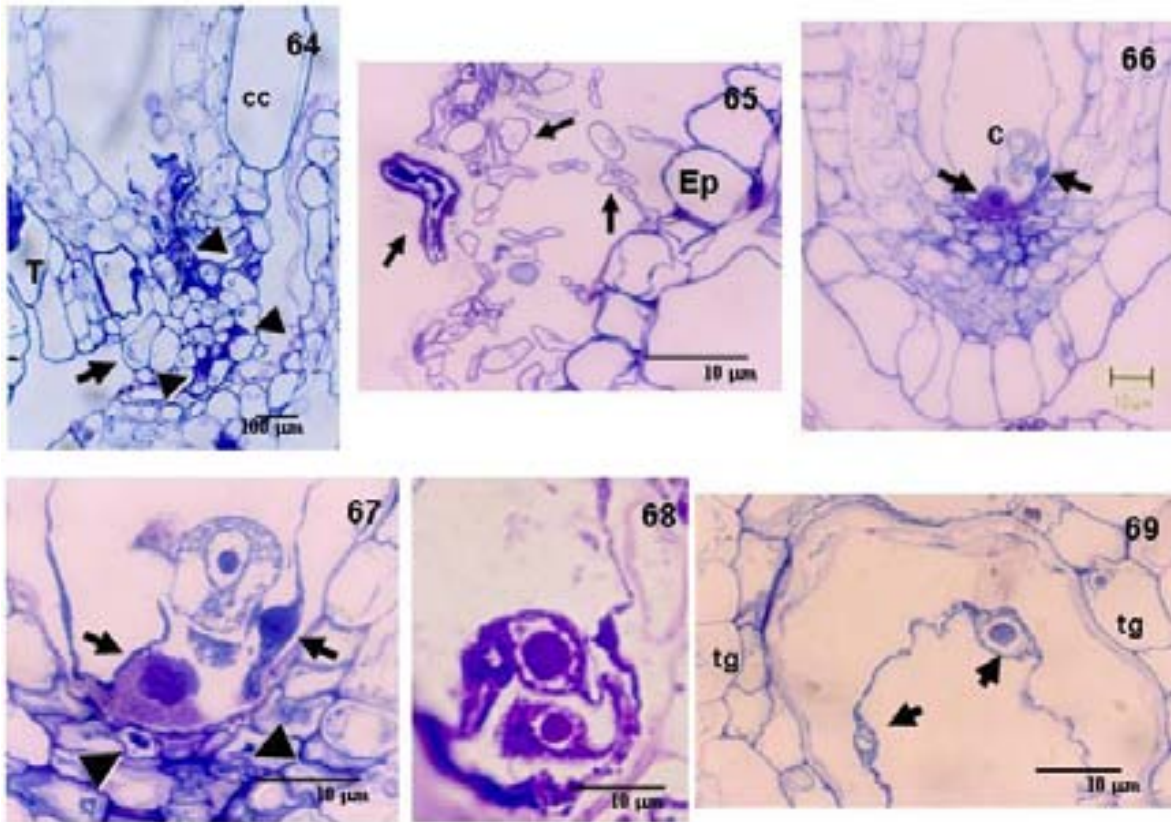
No se obtuvieron todas las etapas de desarrollo del embrión, pero sí se observó la etapa globular (Figs. 70, 72), de corazón y de torpedo (Fig. 73).

El eje embrionario es ensanchado, los cotiledones son cortos. Hay reservas almidonosas y proteínicas en los cotiledones (Fig. 73).

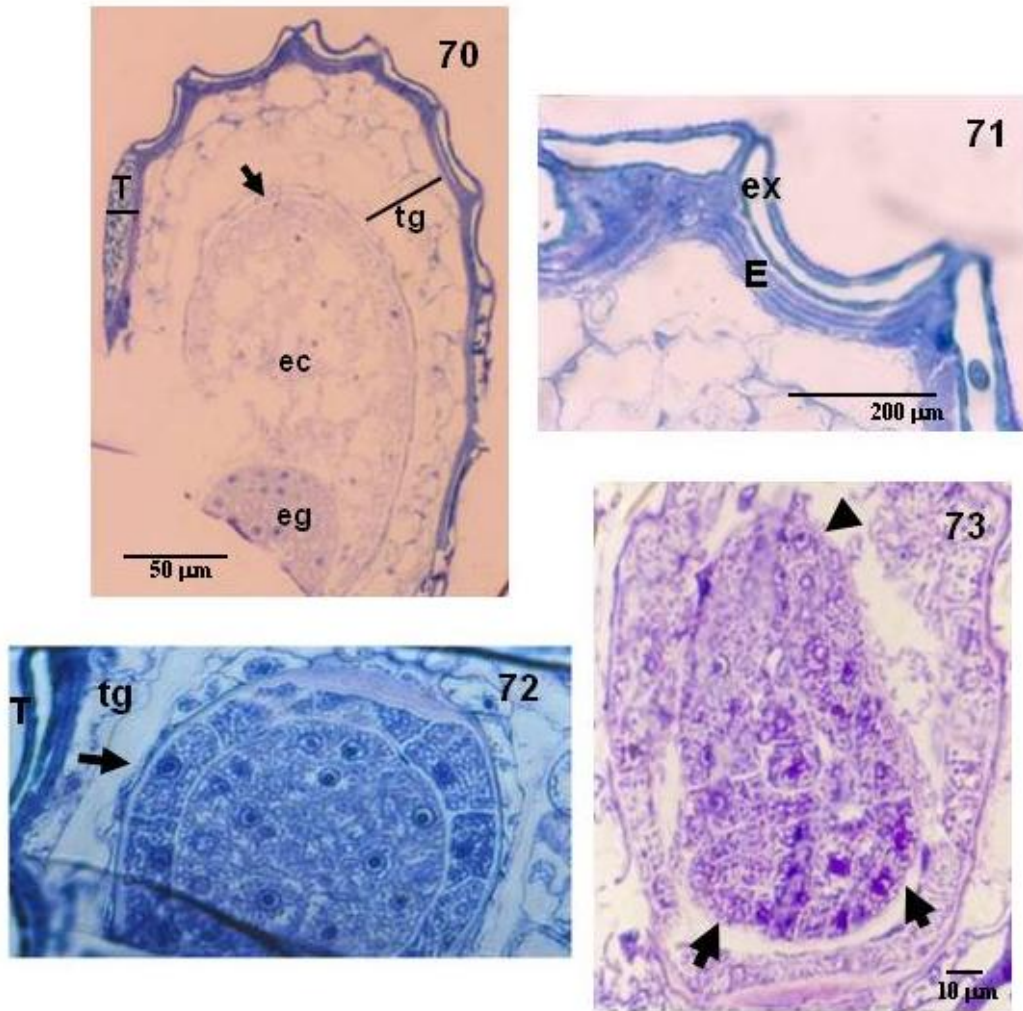
Cubierta de la semilla

Al momento de la doble fecundación la nucela que rodeaba al saco embrionario se ha degradado completamente y el tegumento interno, inicialmente biestratificado, ahora llamado tegmen comienza a colapsarse y a degradarse. Las células de los dos estratos de la testa comienzan a alargarse en sentido cálaza-micrópilo (Fig. 64) y un poco en sentido transversal debido al crecimiento y proliferación de las células del endospermo y del embrión. Las paredes periclinales internas y las anticlinales de las células de la endotesta comienzan a tener un engrosamiento secundario, siendo éste el estrato que da mayor rigidez a la semilla (Figs. 70-71).

En etapa madura la semilla consta de una cubierta seminal biestratificada, formada por una epidermis (o exotesta) de células inicialmente globosas, pero después deshidratadas y una endotesta rígida, el exotegmen y endotegmen desaparecen (Fig. 71). El endospermo tiene una capa de aleurona y varios estratos de células parenquimáticas con reservas de almidón.



Figuras 64-69. Desarrollo de la semilla. 64. Las células del tegumento interno (flecha) se ponen en contacto con la placenta. Las cabezas de flecha indican la presencia de tubos polínicos. 65. Tubos polínicos creciendo en la placenta (flechas) y entrando al micrópilo. 66 y 67. Corte longitudinal de un óvulo maduro. Se observa el cigoto, las sinérgidas degenerando (flechas) y tubos polínicos (cabezas de flecha). 68. Cigoto y núcleo primario del endospermo. 69. Acercamiento al endospermo nuclear (flechas). *c*, cigoto; *cc*, células del collar; *Ep*, Epidermis placenta; *T*, testa; *tg*, tegmen.



Figuras 70-73. Desarrollo de la semilla. 70. Semilla. Se observa el embrión globular, el endospermo celular joven, la capa de aleurona en formación (flecha) y almidón en la cubierta seminal. **71.** Acercamiento a la pared seminal. Se observan los engrosamientos de la pared. **72.** Capa de aleurona (flecha). **73.** Embrión cotiledonario. Las flechas indican los cotiledones y la cabeza de flecha la radícula. *E*, endotesta; *ec*, endospermo celular; *eg*, embrión globular; *T*, testa; *tg*, tegmen.

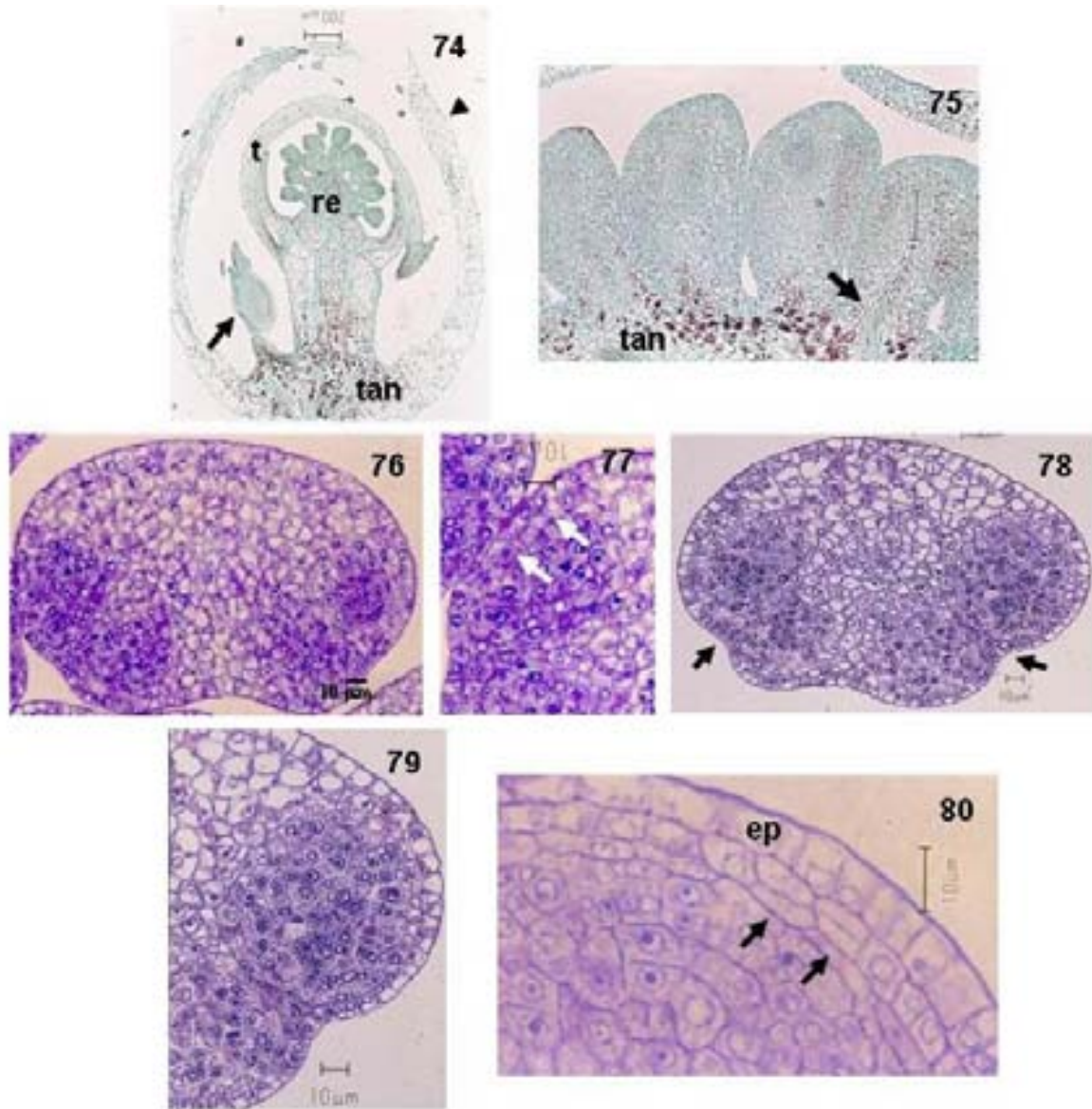
Desarrollo del androceo

En etapas tempranas del desarrollo los estambres surgen de un receptáculo muy ensanchado (Fig. 74) y los filamentos son cortos (Figs. 74-75). Las anteras aún no tienen la forma globosa característica de las anteras maduras y el tejido conectivo es abundante, sobre todo en la parte dorsal, por lo que los microsporangios se desplazan ligeramente hacia la parte ventral (Fig. 76).

En cada microsporangio joven se observan células arquesporales rodeadas por una protodermis. El tejido subprotodérmico se divide periclinalmente diferenciándose en tejido esporógeno y capa parietal primaria en posición subprotodérmica (Fig. 76).

Las células de la capa parietal primaria se dividen periclinalmente formando dos capas parietales secundarias, la externa e interna (Fig. 77). Ambas vuelven a dividirse formando hacia el interior el tapete y una capa media, la más externa forma al endotecio y otro estrato de la capa media, por lo tanto el desarrollo de la pared de antera es de tipo básico.

En esta etapa comienza a evidenciarse el haz vascular en el centro de la antera, y el conectivo prolifera. La antera toma ya una apariencia bilobulada y tetrasporangiada (Figs. 78-79). Posteriormente alguno de los estratos de la capa media se divide periclinalmente, de tal manera que tres estratos llegan a formar las capas medias (Fig. 80).



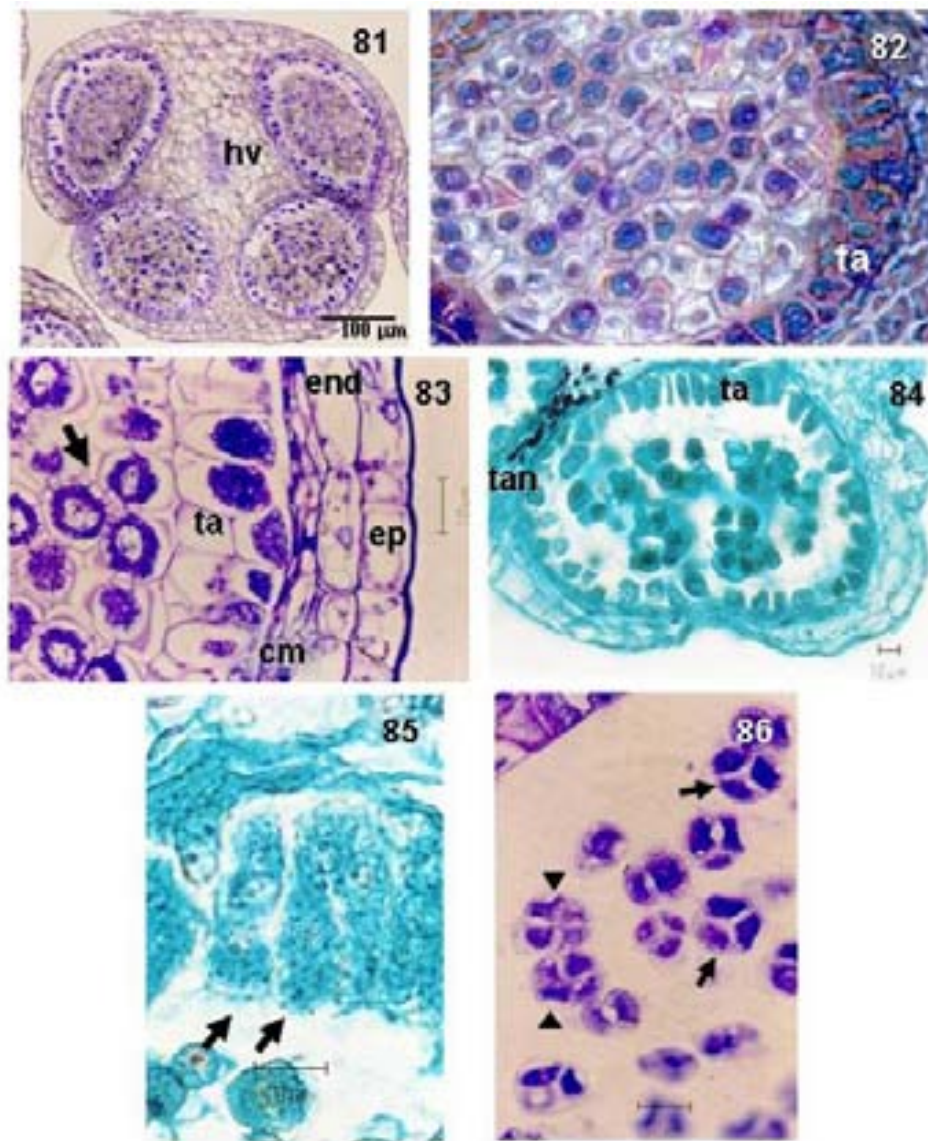
Figuras 74-80. Desarrollo de la pared de antera. **74.** Corte longitudinal de flor masculina y femenina. Se observa la flor femenina (flecha) y la masculina, así como la bráctea que las rodea (cabeza de flecha). **75.** Corte longitudinal de estambres jóvenes. Las anteras son ensanchadas y los filamentos comienzan a diferenciarse (flecha). **76.** Corte transversal de antera joven mostrando el tejido arquesporrial. **77.** Acercamiento de la pared y del tejido esporógeno. Se puede ver la división periclinal de las células parietales primarias (flechas). **78.** Corte transversal de antera. Se observan las líneas de dehiscencia (flechas). **79.** Acercamiento de uno de los esporangios. **80.** Acercamiento a un esporangio. Se observan las divisiones periclinales de las células parietales secundarias (flechas). *ep*, epidermis; *re*, receptáculo; *t*, tépalo; *tan*, taninos.

El tejido esporógeno también prolifera y sus células se convierten en células madres de las microsporas, las cuales están en íntimo contacto con el tapete, la capa más interna de la pared de la antera (Figs. 81-82).

Las líneas de dehiscencia van siendo más evidentes entre cada par de microsporangios (Figs. 76, 78-79, 81). En esta etapa la pared de la antera está formada por una epidermis uniestratificada, un endotecio uniestratificado, capa media triestratificada, cuyo estrato más interno comienza a colapsarse, y un tapete tipo secretor, cuyas células comienzan a alargarse radialmente. En el centro de cada microsporangio se encuentran las células madres de las microsporas, cada una rodeada por una pared de calosa, pero manteniéndose en contacto por medio de puentes citoplásmicos (Fig. 83).

El citoplasma del tapete comienza a hacerse denso y sus núcleos experimentan cariocinesis formando células binucleadas o trinucleadas (Figs. 84-85). Las células madres de las microsporas entran a meiosis I (Fig. 84), la cual es de tipo simultánea, es decir sin formación de paredes individuales, ya que éstas se forman al finalizar la meiosis II.

Se forman tétradas de microsporas tetraédricas e isobilaterales rodeadas individualmente de su propia pared y una pared de calosa (Fig. 86).



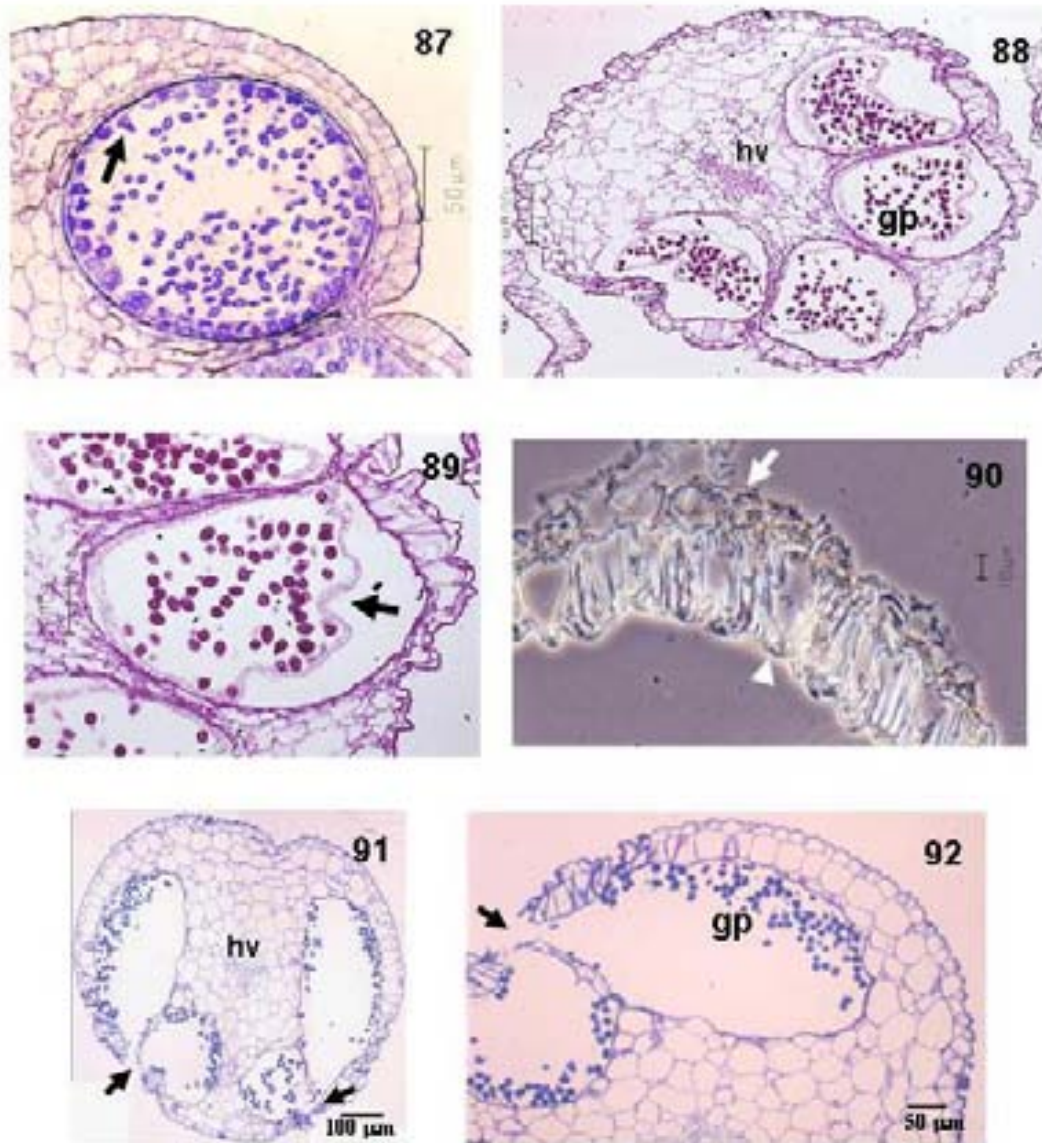
Figuras 81-86. Desarrollo de los granos de polen. 81 y 82. Corte transversal de antera y acercamiento de un lóculo; se puede ver a las células madres y a la pared formada por epidermis, endotecio, capa media y tapete. **83.** Acercamiento a un lóculo donde se observa la presencia de puentes citoplasmáticos entre las células madres de las microsporas (flecha). La pared de antera compuesta por epidermis, endotecio, capas medias y tapete uninucleado. **84.** Corte transversal de microesporangio. Se observa la meiosis I. **85.** Tapete con células bi- y tri-nucleadas alargadas radialmente (flechas). **86.** Acercamiento de tétradas de microsporas tetraédricas (flechas) e isobilaterales (cabezas de flecha). *cm*, capas medias; *end*, endotecio; *ep*, epidermis; *hv*, haz vascular; *ta*, tapete; *tan*, taninos.

Las microsporas (o granos de polen jóvenes y unicelulares) se liberan de la tétrada dentro de los microsporangios, los cuales están muy cercanos ya que el septo que contiene sustancias ergásticas se va adelgazando (Fig. 87).

La pared de la antera tiene una epidermis, un endotecio y un estrato de capa media; las paredes celulares de las células tapetales se van desintegrando para liberar su contenido (Figs. 88-89).

Posteriormente la pared de la antera madura, antes de la dehiscencia, está formada por una delgada epidermis y un endotecio, cuyas células engrosan sus paredes celulares en forma de barra (Figs. 88-90).

Al momento de la dehiscencia las anteras tienen apariencia redondeada (Fig. 91) y el estomio se rompe permitiendo la salida de los granos de polen (Fig. 92).



Figuras 87-92. Anteras y granos de polen. 87. Microsporas liberadas de la téttrada con tapete iniciando su degradación (flecha). **88.** Corte transversal de antera con tapete degenerando. **89.** Acercamiento de un esporangio. Se observan los granos de polen y reminiscencias del tapete (flecha). **90.** Pared de la antera formada por epidermis (flecha) y endotecio con engrosamientos lignificados (cabeza de flecha). **91.** Corte transversal de antera madura, los septos entre los microsporangios se han desintegrado. Las flechas indican el estomio. **92.** Acercamiento de dos esporangios. Se observan los granos de polen y la abertura del estomio (flecha). *gp*, granos de polen; *hv*, haz vascular.

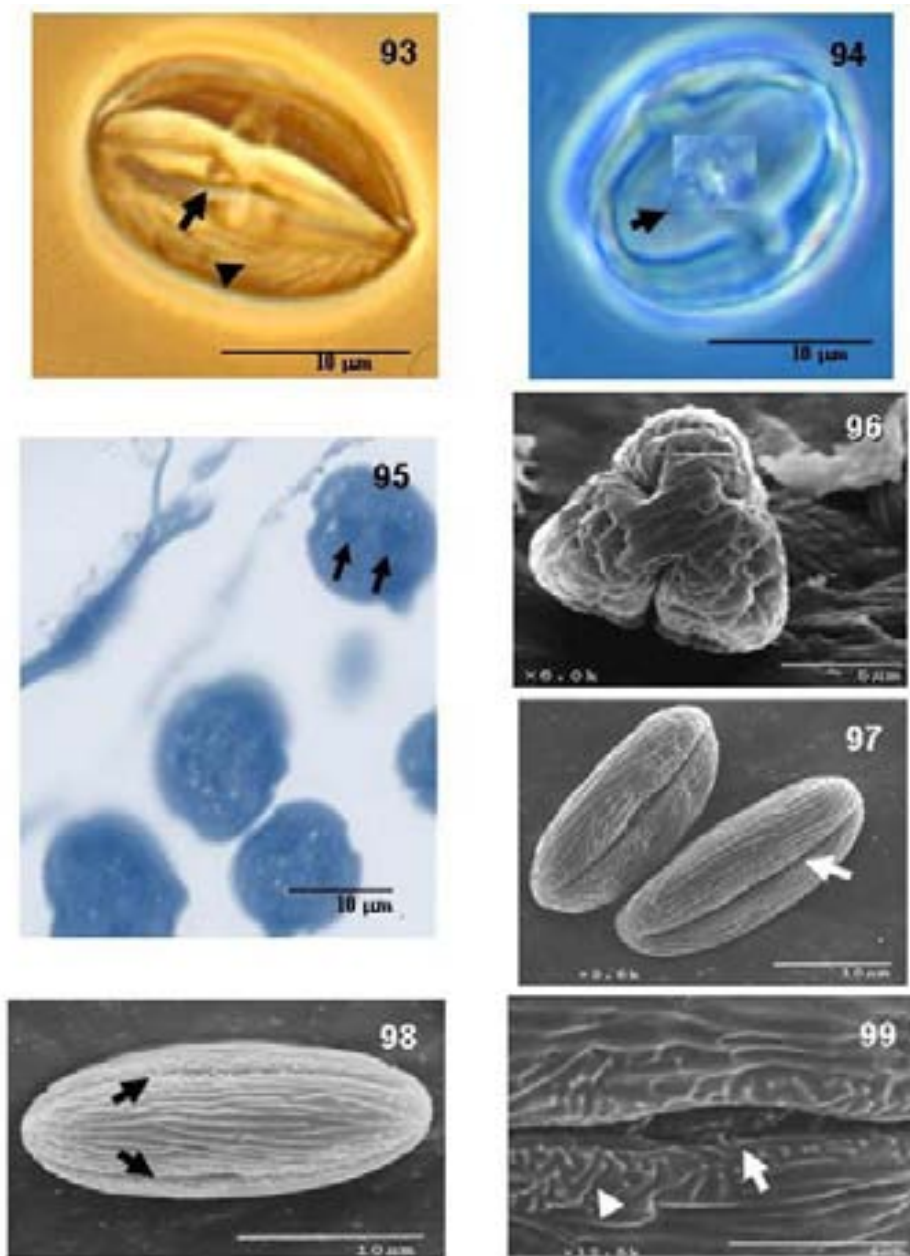
Los granos de polen se liberan en mónadas, son bicelulares y tricolporados, verrugados-estriados en la zona de las aberturas y con estrías paralelas a las aberturas en el resto de la exina (Figs. 93-99).

Los cambios morfológicos del androceo se pueden visualizar externamente desde etapas tempranas, cuando las anteras son globosas (Figs. 100-101) y basalmente se distingue un corto filamento para cada una de ellas (Fig. 100).

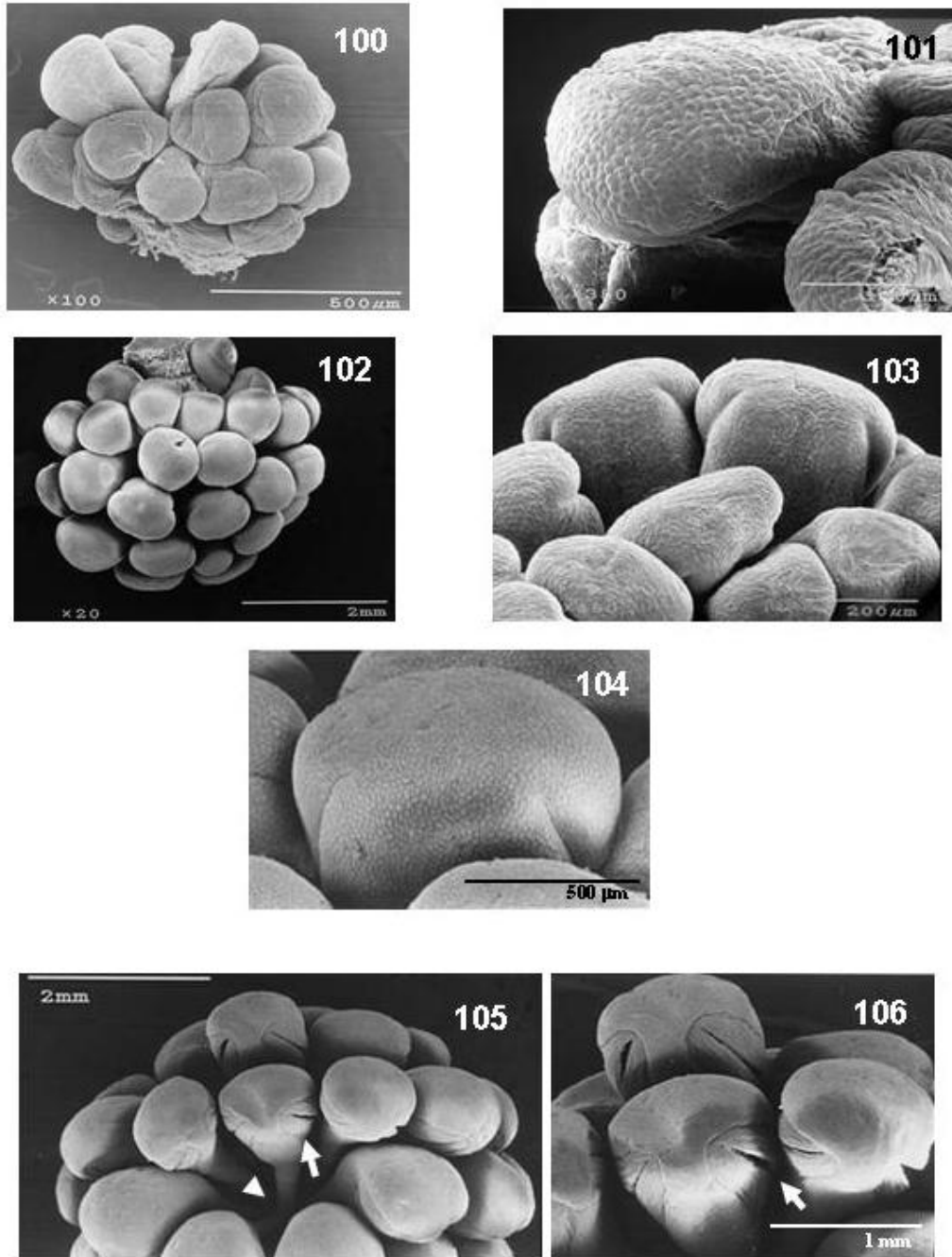
La parte dorsal de las anteras va creciendo y ensanchándose lateralmente (Fig. 101). Los estambres se distribuyen como en racimo desde el centro del receptáculo (Fig. 102) y comienza a hacerse evidente la línea de dehiscencia entre los microsporangios (Figs. 103-104).

En etapa madura los filamentos se observan alargados y sobre ellos descansan las anteras globosas y entre cada par de microsporangios se distinguen perfectamente las zonas de dehiscencia longitudinal debido al crecimiento diferencial de sus células (Figs. 105-106).

Se encontraron algunas características anómalas en las anteras de algunas plantas, como la presencia de granos de polen colapsados y vacíos y anteras con granos de polen germinados en el interior de los microsporangios (Fig. 107).



Figuras 93-99. Granos de polen. 93. Grano de polen acetolizado. Se observan las aberturas (flecha) y la ornamentación estriada (cabeza de flecha). **94.** Grano de polen acetolizado. Se observan las verrugas del poro (flecha). **95.** Granos de polen bicelulares (flechas). **96.** Vista polar de grano de polen maduro. **97 y 98.** Vista ecuatorial de granos de polen maduros (las estriás corren paralelas a las aberturas). Las flechas indican los colpos. **99.** Acercamiento del colpo y poro (flecha). La exina es verrugada-estriada (cabeza de flecha) en la zona de las aberturas, pero solo estriada en el resto de la pared.



Figuras 100-106. Androceo. 100 y 101. Estambres jóvenes. Los filamentos son cortos y las anteras globosas. **102-104.** Etapas intermedias del desarrollo de las anteras donde comienza a distinguirse la zona del estomio entre cada par de microsporangios. **105 y 106.** Etapas maduras del desarrollo de las anteras. Se notan las líneas de dehiscencia (flecha), lo expandido del conectivo y los filamentos (cabeza de flecha).

Pruebas histoquímicas

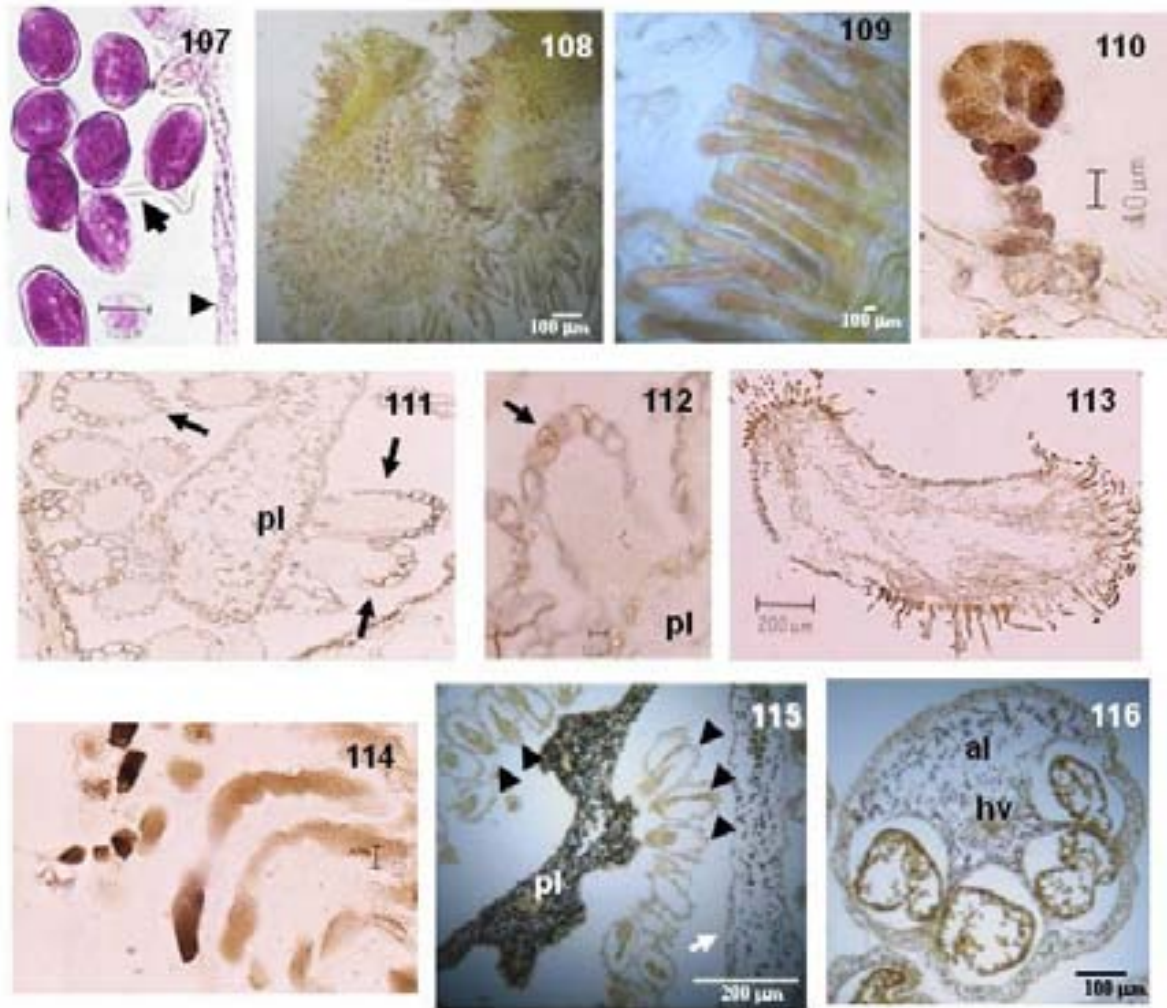
Con respecto a la prueba Ácido Peryódico-Reactivo de Schiff (polisacáridos insolubles) para Paraplast y LR-White, se observa la presencia de muchos amiloplastos en las células del conectivo y en los granos de polen (Figs. 88-89, 107). En las flores femeninas se observó su presencia en las placentas y en las paredes del ovario. En las semillas se observa gran cantidad de polisacáridos insolubles (celulosas y hemicelulosas) en las paredes de la testa.

En cuanto a la realización de la prueba de vainillina 10% en etanol absoluto para taninos condensados, la técnica dio positiva para material fresco (estigmas) en donde se pudo distinguir claramente la presencia de taninos condensados en las papilas estigmáticas (Figs. 108-109).

Con respecto a la prueba para taninos oxidados, se observó la presencia de éstos en los tricomas (Fig. 110), en las placentas (Fig. 111), en el tegumento externo (Fig. 112), en la pared del ovario, en las papilas estigmáticas y en el tejido fundamental del estigma (Figs. 113-114) Asimismo en algunas de las células de la epidermis y del endotecio de las anteras. Además de que se detectaron numerosos cristales (drusas) en las anteras y en el ovario.

La prueba de lugol confirma la presencia de gran cantidad de almidón en las placentas y menor cantidad en las paredes del ovario y en el tegumento externo de flores en antesis (Fig. 117). En el caso de las flores masculinas, se observó almidón en todo el conectivo, en los septos y un poco en los filamentos (Fig. 118).

La prueba azul negro de naftol-APS, revela la presencia de proteínas en las placentas, y en las paredes del ovario. En las anteras se observan en el conectivo y en el endotecio en etapa de grano de polen joven.



Figuras 107-116. Pruebas histoquímicas. 107. Acercamiento de granos de polen germinados (flecha) dentro de un microsporangio de anteras aún cerradas. Se observa el tapete en degradación (cabeza de flecha) 108. Papilas estigmáticas. 109. Acercamiento de papilas estigmáticas unicelulares con taninos condensados. 110. Tricoma pluricelular de ovario lleno de taninos oxidados. 111. Placenta y óvulos con taninos oxidados (flechas). 112. Epidermis externa de óvulos con taninos oxidados (flecha). 113 y 114. Corte longitudinal de lóbulo estigmático y acercamiento a papilas estigmáticas. Se nota la gran cantidad de taninos oxidados presentes. 115. Acercamiento a un lóculo con granos de almidón en las placentas y en los septos del ovario (flecha). Las cabezas de flecha indican los óvulos. 116. Corte transversal de antera. Se observa la presencia de almidón en el conectivo y en los septos. *al*, almidón; *hv*, haz vascular; *pl*, placenta.

DISCUSIÓN

Teniendo en cuenta los resultados hasta ahora obtenidos, algunos de éstos concuerdan con lo ya descrito para otras especies de *Begonia* en cuanto a la embriología general (Maheswari *et al.*, 1892; Swamy y Parameswaran, 1960; Corner, 1976; Hickey y King, 1981; Johri *et al.*, 1992; Davis, 1996; Tebbitt y Maciver, 1999; Matthews y Endress, 2004). Asimismo para la morfología floral básica también de Begoniaceae mencionada parcialmente en cada uno de los trabajos por Smith y Schubert (1941), Lecocq y Dumas (1975), Thompson y Thompson (1981), Castillo (1999), Rzedowski y Rzedowski (2001), Caballero (2002), Castillo *et al.* (2002a), Judd *et al.* (2002), López (2004) y Castillo *et al.* (2007).

Sin embargo otras características son controversiales o no habían sido publicadas, como el tipo de desarrollo de pared de antera o la gran cantidad de taninos presentes en casi todos los tejidos de las flores femeninas y masculinas, ya que en la literatura sólo se menciona su presencia en partes vegetativas y en general en el gineceo y el androceo, pero no se habían descrito en *Begonia gracilis*. De igual forma destaca la presencia de numerosos gránulos de almidón en las placentas y septos y paredes del ovario.

El tipo de desarrollo de la pared de antera no fue encontrado en ningún trabajo para la familia Begoniaceae, ni para las especies de *Begonia*. Por lo tanto un aporte importante de esta tesis es que el desarrollo de la pared de antera es de tipo básico.

La presencia de almidón y taninos en las flores es descrito por Lecocq y Dumas (1975), Lecocq (1977), Matthews y Endress (2004) y por Judd *et al.* (2002), en los sépalos, las alas del ovario, el gineceo y el androceo; sin embargo no dan ninguna posible explicación a la presencia de ninguno de los dos tipos de sustancias ergásticas; no obstante se sabe que los taninos son un tipo de

sustancias que sirven como defensa contra herbívoros y patógenos (Swain, 1979; Feeny, 1992; Ayres *et al.*, 1997), que protegen al protoplasto contra la desecación y putrefacción, también pueden ser sustancias de reserva relacionadas de manera no determinada con el metabolismo del almidón, están asociados a la formación y transporte de azúcares, antioxidantes y coloides que mantienen la homogeneidad del citoplasma, además de tener propiedades antisépticas (Esau, 1976). En las hojas reducen la palatabilidad, mientras que en las semillas se han asociado con el mantenimiento de la latencia y con propiedades bactericidas. En la raíz actúan probablemente como barrera química a la penetración y colonización de patógenos. En el tallo juegan un papel en la regulación del crecimiento (Hidalgo, 1999).

Las células del tegumento externo con inclusiones de taninos, en la zona calazal del óvulo, sólo habían sido descritas para *B. incana* por Matthews y Endress (2004).

El desarrollo del saco embrionario parece ser de tipo Polygonum, debido a las observaciones hechas y a los reportes encontrados (Maheswari *et al.*, 1892; Swamy y Parameswaran, 1960; Johri *et al.*, 1992; Davis, 1996; Matthews y Endress, 2004). El micrópilo es anfistomo como se menciona para las escasas especies estudiadas de Begoniaceae (Maheswari *et al.*, 1892; Johri *et al.*, 1992; Davis, 1996).

Los núcleos polares se fusionan antes de la fecundación lo cual está de acuerdo con Swamy y Parameswaran (1960), Johri *et al.* (1992) y Davis (1996).

Entre la nueva información se tiene que la ornamentación de la testa es de tipo rugoso-estriada y no granular como lo mencionan Lange y Bouman (1999) para *B. gracilis*.

Los estambres no están unidos por la base como describe Castillo (1999) para esta especie, ya que cada antera tiene su propio filamento. Lo que si destaca en *B. gracilis* es el prominente receptáculo de las flores masculinas sobre el cual se insertan los numerosos estambres.

Las capas medias no son efímeras como lo reportan para la familia Begoniaceae Johri *et al.* (1992) y Davis (1996), ya que en *B. gracilis* persisten hasta que las microsporas se liberan de las tétradas.

En *B. gracilis* se forman tétradas de microsporas tetraédricas y también isobilaterales, lo cual sólo había sido descrito para *B. dichroa* por Maheswari *et al.* (1892).

En cuanto a la presencia de estilos algunos autores no los mencionan o no dejan clara su existencia. Incluso algunos los confunden con estigmas (Matzke; 1938; Hall B. A. 1949; Hickey y King, 1981; Thompson y Thompson, 1981; Davis, 1996; Johri *et al.*, 1992; Castillo, 1999; Rzedowski y Rzedowski, 2001; Judd *et al.*, 2002; Forrest *et al.*, 2005; Tebbitt y Dickson, 2000; Kiew, 2007). Sin embargo sí se mencionan para las siguientes especies: *B. tuberhybrida* (Lecocq y Dumas, 1975; Lecocq, 1977), *B. dregei* (Charpentier *et al.*, 1989), *B. gracilis* (Caballero, 2002), *B. incana* (Matthews y Endress, 2004) y *B. pulvinifera* (Peng *et al.*, 2006), además de Tebbitt y Maciver (1999) y de Heywood *et al.* (1993), lo cual concuerda con nuestros resultados ya que al hacer el estudio del desarrollo del gineceo se demuestra que en *B. gracilis* los carpelos en la base del estilo están fusionados formando una sola estructura, pero en el ápice se separan en tres y a partir de cada uno de estos estilos surge el estigma, bifurcado y enrollado de afuera hacia adentro y donde cada lóbulo forma una hélice llena de papilas.

En cuanto al patrón del desarrollo de las flores unisexuales últimamente se manejan dos posibles vías de formación (Mitchell y Diggle, 2005). Uno implica que existen reminiscencias de los órganos sexuales femeninos o masculinos en la flor masculina o femenina respectivamente como sucede en algunas especies de *Begonia* (*B. semperflorens*, *B. semperflorens* var. *gigantea*, *B. tuberhybrida*) e *Hillebrandia sandwicensis* (Dümmer, 1912; Matzke, 1938; Lecocq y Dumas, 1975; Matthews y Endress, 2004). En cuanto a *B. gracilis* no se encontraron restos de verticilos en ninguna flor examinada, tanto morfológica

como embriológicamente, se encontró evidencia de reminiscencias de más de un verticilo sexual con lo cual se acepta que el desarrollo de estas flores unisexuales es por supresión (formación de un solo verticilo sexual desde el inicio del botón floral), es decir, que la flor es desde un inicio unisexual.

Todo esto va de acuerdo con los reportes de Matthews y Endress (2004) en *B. incana*; aunque Matzke (1938) menciona que en *B. semperflorens* encontró los dos sexos en algunas flores al igual que Dümmer (1912) en *B. semperflorens* var. *gigantea*, sin embargo, Matthews y Endress (2004) consideran que los escasos reportes de la presencia de los dos sexos en una misma flor de esta especie se deben a teratologías ocasionales.

En *B. gracilis* raras veces se presentan anomalías en el desarrollo de los granos de polen, algunos se observan colapsados y vacíos, posiblemente sean abortivos ya que carecen de citoplasma. A pesar de esto la cantidad de polen producida y su viabilidad en *B. gracilis* es alta, lo cual contrasta con *B. coccinea*, una especie cultivada, cuyo porcentaje de viabilidad de polen es de aproximadamente un 50%, posiblemente por estar sujeta a propagación en invernaderos como planta de ornato. Algunas anteras de *B. gracilis* llegaron a presentar granos de polen germinados, con tubos polínicos largos en el interior de algunos escasos microsporangios, sin embargo desconocemos la implicación de ello.

Las placentas son axiales en *B. gracilis* como ciertos autores reportan para algunas especies de la familia o para la familia en general (Smith y Schubert, 1958; Hickey y King, 1981; Tebbitt y Maciver, 1999; Ma y Li, 2006; Peng *et al.*, 2006; Shui, 2007). Sin embargo hay quienes mencionan la presencia de placentas axiales y parietales para la familia Begoniaceae (Lecocq, 1977; Matthews y Endress, 2004).

Solo en algunas especies se menciona la presencia de tricomas glandulares en los tépalos (perianto) y en las paredes externas de los ovarios de las flores (Burt-Utley y Utley, 1987; Burt-Utley, 1990; Tebbitt y Dickson, 2000; Jacques y

Mamede, 2004; Ambrish y Amadudin, 2006) tal es el caso de *B. tuberhybrida* (Lecocq, 1977) y de *B. incana* (Matthews y Endress, 2004). En el caso de *B. gracilis* se observan tricomas en las paredes del ovario y en la epidermis de los tépalos, esto último se opone a lo mencionado por Castillo *et al.* (2007) y Rzedowski y Rzedowski (2001) quienes describen a los tépalos como glabros.

La presencia de granos de polen tricolporados sólo había sido descrita para algunas especies o por algunos autores (Maheswari *et al.*, 1892; Judd *et al.*, 2002; Matthews y Endress, 2004; Ma y Li, 2006), sin llegar a hacer una extensa descripción de su morfología. Los de *B. gracilis* también lo son, ya que se distinguen claramente el poro y el colpo.

Ciertos autores indican que los óvulos pueden ser crasinucelados (Davis, 1996; Matthews y Endress, 2004), tenuinucelados (Maheswari *et al.*, 1892, Swamy y Parameswaran, 1960; Corner, 1976) o escasamente crasinucelados (Maheswari *et al.*, 1892; Johri *et al.*, 1992; Matthews y Endress, 2004), para *B. gracilis* se encontró que son crasinucelados porque se observa por lo menos una capa subepidérmica en la nucela.

Algunos autores mencionan la presencia de endotelio o pseudo-endotelio para Begoniaceae (Johri *et al.*, 1992; Davis, 1996; Matthews y Endress, 2004), de una hipostasa (Johri *et al.*, 1992) y de una capa de aleurona (Johri *et al.*, 1992; Davis, 1996), y específicamente en el óvulo de *B. dichroa* (Maheswari *et al.*, 1892) y en el de *B. crenata* (Swamy y Parameswaran, 1960); nuestros resultados muestran la presencia del tapete tegumentario hasta antes de la fecundación y de la capa de aleurona en las semillas, sin embargo no se distingue hipostasa en ningún óvulo de *B. gracilis*.

Se menciona que el endospermo es nuclear (Swamy y Parameswaran, 1960; Corner, 1976; Johri *et al.*, 1992; Davis, 1996), o que puede estar ausente (Hickey y King, 1981; Heywood *et al.*, 1993; Judd *et al.*, 2002; Rojo y Rodríguez, 2002). En nuestros resultados se observa claramente la formación del endospermo y además se nota que al inicio de su desarrollo es de tipo

nuclear, pero después se celulariza e incluso se forma una capa de aleurona que permanece hasta semilla madura.

Swamy y Parameswaran (1960) y Davis (1996) hablan de tapete secretor y binucleado, en *B. gracilis* lo observamos con más de dos núcleos.

Asimismo Johri *et al.* (1992) señalan que el micrópilo se encuentra en zigzag para Begoniaceae, en *B. gracilis* es recto.

La meiosis es simultánea y el polen se libera en forma bicelular como se reporta para varias especies de la familia (Maheswari *et al.*, 1892; Swamy y Parameswaran, 1960; Johri *et al.*, 1992; Davis, 1996).

Solo algunos autores mencionan la presencia de cristales como cistolitos en sépalos y pecíolos (J. M. C., 1882; Rose y Hurd-Karrer, 1927; Judd *et al.*, 2002; Jacques y Mamede, 2004; Matthews y Endress, 2004); en *B. gracilis* no se encontraron cistolitos en ninguna estructura floral pero sí drusas en las anteras y en las paredes del ovario.

CONCLUSIONES

Las flores de *Begonia gracilis* son estrictamente masculinas y femeninas desde el inicio del desarrollo, por lo tanto no presentan reminiscencias del sexo opuesto, como ocurre en otras especies de *Begonia*.

El gineceo es tricarpelar y se determinó que sí existen tres estilos, los cuales están fusionados en la base, pero separados en el ápice y terminados cada uno en un estigma bifurcado papiloso, de tipo seco y enrollado en forma helicoidal.

Los óvulos maduros tienen un funículo corto, son crasinucelados, anátropos y bitégmicos, resaltando una gran cantidad de taninos en el tegumento externo. También se observó una gran cantidad de óvulos abortivos.

Al momento de la fecundación las células del tegumento interno se alargan hasta ponerse en contacto con la epidermis de la placenta para permitir la entrada del tubo polínico y los núcleos polares se fusionan antes de la fecundación.

El núcleo primario del endospermo se divide y cada uno migra hacia los polos para posteriormente dividirse varias veces antes de la primera división del cigoto. El patrón de desarrollo del endospermo es de tipo nuclear y la embriogénesis de tipo onagráceo. Hay formación de un tapete tegumentario y de una capa de aleurona.

En etapa madura la semilla consta de una cubierta seminal biestratificada, cuya exotesta y endotesta son rígidas. Las semillas presentan una ornamentación rugoso-estriada y no granular como había sido descrita para *B. gracilis*.

El androceo está conformado por numerosos estambres que surgen de un receptáculo prominente; los filamentos son libres y no están fusionados como se señala en la literatura para *B. gracilis*.

La capa media triestratificada persiste hasta etapa de grano de polen joven y las células del tapete pueden tener hasta tres núcleos.

Además de microsporas tetraédricas también hay isobilaterales. Los granos de polen se liberan en mónadas, son bicelulares, tricolporados, verrugados-estriados en la zona de las aberturas y estriados en el resto de la exina.

Se resaltan algunas anomalías encontradas en las anteras como la presencia de granos de polen colapsados y vacíos y anteras con granos de polen germinados en el interior de los microsporangios.

Asimismo se detectaron numerosas drusas en las anteras y en las paredes de los ovarios.

LITERATURA CONSULTADA

- Ågren J. y D. W. Schemske. 1991. Pollination by deceit in a Neotropical monoecious herb, *Begonia involucreta*. *Biotropica* 23 (3): 235-241
- Ågren J. y D. W. Schemske. 1995. Sex Allocation in the Monoecious Herb *Begonia semiovata*. *Evolution* 49 (1): 121-130
- Alexander M. P. 1980. A versatile stain for pollen, fungi, yeast and bacteria. *Stain Technology* 55: 13-18
- Álvarez J., J. Carabias, J. Meave, P. Moreno, D. Nava, F. Rodríguez, C. Tovar y A. Valiente. 1989. Cuadernos de Ecología. No. 1. Proyecto para la creación de una reserva en el Pedregal de San Ángel. Facultad de Ciencias, UNAM. 54 pp.
- Ambrish K. y M. Amadudin. 2006. Rediscovery of an endemic and endangered plant (*Begonia tessaricarpa* C.B. Clarke) from Arunachal Pradesh, India, after a century. *Current Science* 91 (8): 997-998
- American Begonia Society. Consulta: 2008. Página en red: <http://www.begonias.org>
- Arrázola R. S., Atahuachi M., Saravia E. y Lopez A. 2002. Diversidad florística medicinal y potencial etnofarmacológico de las plantas de los valles secos de Cochabamba – Bolivia. *Rev. Bol. Ecol.* 12: 53 - 85
- Ayres M. P., T. P. Clausen, S. F. MacLean, A. M. Redman y P. B. Reichardt. 1997. Diversity of structure and antiherbivore activity in condensed tannins. *Ecology* 78 (6): 1696-1712
- Barabé D., C. Lacroix y B. Jeune. 2007. Following the Initiation and Development of Individual Leaf Primordia at the Level of the Shoot Apical Meristem: The Case of Distichous Phyllotaxis in *Begonia*. *Annals of Botany* 99: 555-560
- Basurto-Peña F., D. Castro-Lara, y M. A. Martínez-Alfaro. 2003. Edible Begonias from the North of Puebla, México. *Economic Botany* 57 (1): 48-53
- Bouman H. y G. J. De Klerk. 2001. Measurement of the extent of somaclonal variation in begonia plants regenerated under various conditions. Comparison of three assays. *Theor Appl. Genet.* 102: 111–117
- Bowes B. G. y E. W. Curtis. 1991. Conservation of the British National *Begonia* Collection by micropropagation. *New Phytol.* 119: 169-181

- Burritt D. J. y D. W. M. Leung. 1996. Organogenesis in cultured petiole explants of *Begonia x erythrophylla*: the timing and specificity of the inductive stimuli. *Journal of Experimental Botany* 47 (297): 557-567
- Burritt D. J. y D. W. M. Leung. 2003. Adventitious shoot regeneration from *Begonia x erythrophylla* petiole sections is developmentally sensitive to light quality. *Physiologia Plantarum* 118: 289-296
- Burritt D. J. y S. Mackenzie. 2003. Antioxidant Metabolism during Acclimation of *Begonia x erythrophylla* to High Light Levels. *Annals of Botany* 91: 783-794
- Burritt D. J. 2008. Efficient cryopreservation of adventitious shoots of *Begonia x erythrophylla* using encapsulation–dehydration requires pretreatment with both ABA and proline. *Plant Cell Tiss. Organ. Cult.* 95: 209-215
- Burt-Utley K. y J. F. Utley. 1987. *Begonia lyman-smithii* (Begoniaceae), a New Species from Oaxaca, México. *Brittonia* 39 (1): 59-62
- Burt-Utley K. 1990. New and noteworthy species in *Begonia* Section Gireoudia (Begoniaceae) from Mexico. *Brittonia* 42 (1): 38-46
- Caballero A. H. 2002. El papel del mimetismo floral en la polinización por engaño: un estudio experimental en *Begonia gracilis* HBK (Begoniaceae). Tesis de Licenciatura (Biólogo), Facultad de Ciencias, UNAM. México, D. F. 36 pp
- Carlquist S. 1985. Wood Anatomy of Begoniaceae, with Comments on Raylessness, Paedomorphosis, Relationships, Vessel Diameter, and Ecology. *Bulletin of the Torrey Botanical Club* 112 (1): 59-69
- Castillo B. y M. A. L. Smith. 1997. Direct somatic embryogenesis from *Begonia gracilis* explants. *Plant Cell Reports* 16: 385-388
- Castillo R. A. 1999. Selección dependiente de la frecuencia en plantas: polinización por engaño en *Begonia gracilis* HBK (Begoniaceae). Tesis de Doctorado, Instituto de Ecología UNAM, México D. F. 95 pp
- Castillo R. A., C. Cordero y C. A. Domínguez. 1999. Ecología y evolución de la polinización por engaño. *Bol. Soc. Bot. Méx.* 64: 57-64
- Castillo R. A., C. Cordero y C. A. Domínguez. 2002a. Are reward polymorphisms subject to frequency- and density-dependent selection? Evidence from a

- monoecious species pollinated by deceit. *Journal of Evolutionary Biology* 15 (4): 544-552
- Castillo S., P. Guadarrama, Y. Martínez, P. Mendoza, O. Núñez, M. Romero y I. Sánchez. 2002b. Diásporas del Pedregal de San Ángel. Las Prensas de Ciencias. Facultad de Ciencias. UNAM. 204 pp.
- Castillo-Argüero S., G. Montes-Cartas, M. A. Romero-Romero, Y. Martínez-Orea, P. Guadarrama-Chávez, I. Sánchez-Gallén y O. Núñez-Castillo. 2004. Dinámica y conservación de la flora del matorral xerófilo de la Reserva Ecológica del Pedregal de San Ángel (D. F., México). *Bol. Soc. Bot. Méx.* 74: 51-75
- Castillo A. S., Y. Martínez O., M. A. Romero R., P. Guadarrama C., O. Núñez C., I. Sánchez G. y J. A. Meave. 2007. La Reserva Ecológica del Pedregal de San Ángel: Aspectos Florísticos y Ecológicos. UNAM. 294 pp.
- Charpentier A., L. Brouillet y D. Barabé. 1989. Organogénèse de la fleur pistillée du *Begonia dregei* et de *Hillebrandia sandwicensis* (Begoniaceae). *Can. J. Bot.* 67: 3625-3639
- Chlyah A. y M. Tran Thanh Van. 1975. Differential Reactivity in Epidermal Cells of *Begonia rex* Excised and Grown in vitro. *Physiol. Plant.* 35: 16-20
- Clement W. L., M. C. Tebbitt, L. L. Forrest, J. E. Blair, L. Brouillet, T. Eriksson, y S. M. Swensen. 2004. Phylogenetic position and biogeography of *Hillebrandia sandwicensis* (Begoniaceae): a rare Hawaiian relict. *American Journal of Botany* 91 (6): 905-917
- Corner E. J. H. 1976. The seeds of dicotyledons. Vol 1. Cambridge University Press. Great Britain. 311 pp.
- Cuerrier A., L. Brouillet y D. Barabé. 1990. Numerical taxonomic study of the Begoniaceae using the Mantel Test on Leaf Microcharacters. *Taxon* 39 (4): 549-560
- Davis G. L. 1996. Systematic Embryology of Angiosperms. John Wiley & Sons. New York. 528 pp.
- Denle G. S. 1961. Abnormal stomatal development in foliage leaves of *Begonia aridicaulis*. *American Journal of Botany* 48 (2): 129-133
- Dümmer R. A. 1912. A bisexual "gymnospermous" Begonia. *Annals of Botany* 26: 1123-1124

- Elsgaard L. y L. Andersen. 1998. Microbial ethylene consumption in peat-soil during ethylene exposure of *Begonia elatior*. *Plant and Soil* 202: 231-239
- Esau C. 1976. Anatomía vegetal. Omega. Barcelona, España. 779 p.
- Espino F. J., R. Linacero, J. Rueda y A. M. Vázquez. 2004. Shoot regeneration in four *Begonia* genotypes. *Biologia Plantarum* 48 (1): 101-104
- Feeny P. 1992. The evolution of chemical ecology: Contributions from the study of herbivorous insects. In: Rosenthal G. A. y M. R. Berenbaum. (Eds.). *Herbivores: Their interactions with secondary plant metabolites*. Vol II. Ecological and Evolutionary Processes. Academic Press, Inc. San Diego, California. p: 1-44
- Forrest L. L. y P. M. Hollingsworth. 2003. A recircumscription of *Begonia* based on nuclear ribosomal sequences. *Plant Syst. Evol.* 241: 193-211
- Forrest L. L., M. Hughes y P. M. Hollingsworth. 2005. A phylogeny of *Begonia* using nuclear ribosomal sequence data and morphological characters. *Systematic Botany* 30 (3): 671-682
- Gauthier R. 1950. The nature of the inferior ovary in the genus *Begonia*. *Contributions de l'Institut de Botanique, Université de Montréal* 66: 1-93
- Greyson R. I. 1994. *The development of Flowers*. Oxford University. New York. 314 pp.
- Hall B. A. 1949. The Floral Anatomy of *Drosera* and *Begonia* and its Bearing on the theory of Carpel Polymorphism. *American Journal of Botany* 36 (5): 416-421
- Hanisch ten Cate Ch. H., J. Van Netten, J. F. Dortland y J. Bruinsma. 1975. Cell Wall Solubilization in Pedicel Abscission of *Begonia* Flower Buds. *Physiol. Plant.* 33: 276-279
- Heywood V. H., V. Goaman, J. Dunkley y C. King (eds.). 1993. *Flowering plants of the world*. Oxford University. New York. 335 pp.
- Hickey M. y C. King. 1981. *100 Families of Flowering Plants*. Cambridge University Press. New York. 567 pp.
- Hidalgo A. G. A. 1999. Adaptación y validación de métodos cuantitativos para determinar nitratos y taninos en muestras vegetales. Tesis de Licenciatura (Química en alimentos), Facultad de Química, UNAM, México D. F. 128 pp

- Hoover W. S. 1986. Stomata and Stomatal Clusters in *Begonia*: Ecological Response in Two Mexican Species. *Biotropica* 18 (1): 16-21
- Jacques E. L. y M. C. H. Mamede. 2004. Novelties in *Begonia* (Begoniaceae) from the coastal forests of Brazil. *Brittonia* 56 (1): 75-81
- Jacques E. L. y M. C. H. Mamede. 2005. Notas nomenclaturais em *Begonia* L. (Begoniaceae) *Revista Brasil. Bot.* 28(3): 579-588
- Jiménez G. 2000. Biología reproductiva de una especie polinizada por engaño. Tesis de Maestría, Facultad de Ciencias, UNAM, México D. F. 74 pp
- J. M. C. 1882. The Compound Crystals of *Begonia*. *Botanical Gazette* 7 (1): 10-11
- Johri, B. M., K. B. Ambegaokar y P. S. Srivastana. 1992. Comparative embryology of Angiosperms. Vol 1. Springer-Verlag. New York. 614 pp.
- Judd W., C. Campbell, E. Kellogg, P. Stevens y M. Donoghue. 2002. Plant systematics. A phylogenetic approach. 2ª ed. Sinauer Associates, Inc. Massachusetts. 576 pp.
- Katz E. 1992. La cueillette des adventices comestibles au Mexique. *Ecologie Humaine* X (1): 25-41
- Kiew R. 2007. Notes on Vietnamese *Begonia* (Begoniaceae), including three new species. *Adansonia*, sér. 3, 29 (2): 229-238
- Kiyokawa S., Y. Kikuchi, H. Kamada y H. Harada. 1996. Genetic transformation of *Begonia tuberhybrida* by *Ri rol* genes. *Plant Cell Reports* 15: 606-609
- Lange A. de y E. Bouman. 1999. Seed Micromorphology of Neotropical Begonias. *Smithsonian Contributions to Botany* (90). Washington, D.C. 53 pp
- Le Corff J., J. Ågren y D. W. Schemske. 1998. Floral display, pollinator discrimination, and female reproductive success in two monoecious *Begonia* species. *Ecology* 79 (5): 1610-1619
- Lecocq M. 1977. Le gynécée du *Begonia tuberhybrida* et ses variations. *Can. J. Bot.* 55: 525-541
- Lecocq M. y C. Dumas. 1975. Histophysiologie des stigmas et des formations stimatoides chez *Begonia tuberhybrida*. I. Observations preliminaries. *Can. J. Bot.* 53: 1252-1258

- Leshem Y. y B. Lunenfeld. 1968. Gonadotropin Promotion of Adventitious Root Production on Cuttings of *Begonia semperflorens* and *Vitis vinifera*. *Plant Physiol.* 43: 313-317
- López S. y C. A. Domínguez. 2003. Sex choice in plants: facultative adjustment of the sex ratio in the perennial herb *Begonia gracilis*. *J. Evol. Biol.* 16: 1177-1185
- López S. 2004. La evolución en los ajustes facultativos en la proporción sexual en plantas: un estudio con *Begonia gracilis*. Tesis de Doctorado en Ciencias Biomédicas, Instituto de Ecología, UNAM, México, D. F.
- López C. L., J. Márquez y G. Murguía. 2005. Técnicas para el estudio del desarrollo en angiospermas. Las Prensas de Ciencias. Facultad de Ciencias. UNAM. 178 pp.
- Ma H. y H.-Z. Li. 2006. *Begonia guianiana* (Begoniaceae), a new species from China. *Ann Bot. Fennici* 43: 466-470
- Maheswari D. H., K. C. Naidu, V. A. Lakshmi, K. Manorama. 1982. Male and female gametophytes in *Begonia dichroa*. *Phytologia* 51: 299-301
- Mangat B. S., M. K. Pelekis y A. C. Cassells. 1990. Changes in the starch content during organogenesis in *in vitro* cultured *Begonia rex* stem explants. *Physiologia Plantarum* 79: 267-274
- Matthews M. L. y P. K. Endress. 2004. Comparative floral structure and systematics in Cucurbitales (Corynocarpaceae, Coriariaceae, Tetramelaceae, Daticaceae, Begoniaceae, Cucurbitaceae, Anisophylleaceae). *Botanical Journal of the Linnean Society* 145: 129-185
- Matzke E. 1938. Inflorescence patterns and sexual expression in *Begonia semperflorens*. *American Journal of Botany* 25 (7): 465-478
- McLellan T. 2005. Correlated evolution of leaf shape and trichomes in *Begonia dregei* (Begoniaceae). *American Journal of Botany* 92 (10): 1616-1623
- Mitchell C. H. y P. K. Diggle. 2005. The evolution of unisexual flowers: morphological and functional convergence results from diverse developmental transitions. *American Journal of Botany* 92 (7): 1068-1076
- Myster J., O. Junttila, B. Lindgard y R. Moe. 1997. Temperature alternations and the influence of gibberellins and indoleacetic acid on elongation growth and flowering of *Begonia x hiemalis* Fotsch. *Plant Growth Regulation* 21: 135-144

- Oden P. C. y O. M. Heide. 1989. Quantitative of gibberellins and indoleacetic acid in *Begonia* leaves: Relationship with environment, regeneration and flowering. *Physiologia Plantarum* 76: 500-506
- Oginuma K. y C. I. Peng. 2002. Karyomorphology of Taiwanese *Begonia* (Begoniaceae): taxonomic implications. *J Plant Res* 115: 225-235
- Ornek H., Y. Aysan, M. Mirik y F. Sahin. 2007. First report of bacterial leaf spot caused by *Xanthomonas axonopodis* pv. *begoniae*, on begonia in Turkey. *Plant Pathology* 56: 347
- Pastrana M. D. 1932. Sporogenesis and Sex Determination in *Begonia schmidtiana*. *American Journal of Botany* 19 (4): 365-384
- Peng C. I., W. C. Leong, S. M. Ku y Y. Liu. 2006. *Begonia pulvinifera* (sect. *Diploclinium*, Begoniaceae), a new species from limestone areas in Guangxi, China. *Botanical Studies* 47: 319-327.
- Plana V. 2003. Phylogenetic Relationships of the Afro-Malagasy Members of the Large Genus *Begonia* Inferred from trnL Intron Sequences. *Systematic Botany* 28 (4): 693-704
- Plana V., A. Gascoigne, L. Forrest, D. Harris, R. T. Pennington. 2004. Pleistocene and pre-Pleistocene *Begonia* speciation in Africa. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 31 (2): 449-461
- Reserva Ecológica Pedregal de San Ángel (REPSA). 2007. Página en red: http://www.cic-ctic.unam.mx:31101/reserva_ecologica
- Ribeiro L. F. C., A. P. Mello, I. P. Bedendo y R. Gioria. 2006. Phytoplasma associated with shoot proliferation in begonia. *Sci. Agric. (Piracicaba, Braz.)* 63 (5): 475-477
- Rojas G. y Holzmann. 2006. Estrategias de inversión energética para la producción de flores pistiladas en dos especies del género *Begonia* (Begoniaceae). En: *Ecología Tropical y Conservación 2006-2*. Universidad de Costa Rica (UCR) y Organización para Estudios Tropicales (OET). Gilbert Barrantes & María Clara Castellanos (Coordinadores). p: 94-97

- Rojó A. y J. Rodríguez. 2002. La flora del Pedregal de San Ángel. Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales. Instituto Nacional de Ecología. México, D. F. 95 pp.
- Rose D. y A. M. Hurd-Karrer. 1927. Differential staining of specialized cells in *Begonia* with indicators. *Plant Physiology* 2 (4): 441-453
- Rzedowski J. 1988. Vegetación de México. Limusa. México, D. F. 430 pp.
- Rzedowski G. y J Rzedowski. 2001. Flora Fanerogámica del Valle del México. Instituto de Ecología A. C. y Conabio. Pátzcuaro, Michoacán. 1406 pp.
- Schemske D. W. y J. Ågren. 1995. Deceit pollination and selection on female flower size in *Begonia involucreata*: an experimental approach. *Evolution* 49 (1): 207-214
- Schemske D. W., J. Ågren y J. Le Corff. 1996. Deceit pollination in the monoecious, neotropical herb *Begonia oaxacana*. En: Lloyd D. G. and S.C.H. Barrett (Eds.), *Floral Biology*. Chapman and Hall. p: 292-318
- Shui Y. M., C. I. Peng y C. Y. Wu. 2002. Synopsis of the Chinese species of *Begonia* (Begoniaceae), with a reappraisal of sectional delimitation. *Bot. Bull. Acad. Sci.* 43: 313-327
- Shui Y. M. 2007. *Begonia tetralobata* (Begoniaceae), a new species from China. *Ann. Bot. Fennici* 44: 76-79
- Smith L. B. y B. G. Schubert. 1941. Especies Argentinas del Género *Begonia*. *Darwiniana* 5: 78-117
- Smith L.B. y B. G. Schubert. 1958. Begoniaceae. In: Flora of Panama. Part VII. Fascicle I. *Annals of the Missouri Botanical Garden* 45 (1): 41-67
- Smith L. B., D. C. Wasshausen, J. Golding y C. Karegeannes. 1986. Begoniaceae. Pts I, II. *Smithsonian Contributions to Botany* 60: 1-584
- Swain T. 1979. Tannins and Lignins. In: Rosenthal G. A. y D. H. Janzen (Eds.). *Herbivores: Their interaction with secondary plant metabolites*. Academic Press, Inc. New York, USA. p: 657-682
- Swamy B. G. L. y N. Parameswaran. 1960. A contribution to the embryology of *Begonia crenata*. *Journal of the Indian Botanical Society* 39: 140-148
- Tebbitt M. C. y C. M. Maciver. 1999. The systematic significance of the endothecium in Begoniaceae. *Botanical Journal of the Linnean Society* 131: 203-221

- Tebbutt M. C. y J. H. Dickson. 2000. Amended descriptions and revised sectional assignment of some Asian begonias (Begoniaceae). *Brittonia* 52(1): 112-117
- Tebbutt M. C. 2003. Taxonomy of *Begonia longifolia* Blume (Begoniaceae) and related species. *Brinonia* 55 (1): 19-29
- Thompson M. L. y E. J. Thompson. 1981. *Begonias: The complete reference guide*. New York: Times Books. 356 pp.
- University of Florida (UF). Fibrous-rooted Begonias for Florida. 2003. Página en red: <http://edis.ifas.ufl.edu>
- Vázquez G. y O. Echeverría. 2000. Introducción a la microscopía electrónica aplicada a las ciencias biológicas. Facultad de Ciencias, UNAM y Fondo de Cultura Económica. México, D. F. 168 pp.
- de Weerd M., C. Zijlstra, I. R. van Brouwershaven, G. C. M. van Leeuwen, J. de Gruyter and L. F. F. Kox. 2006. Molecular Detection of *Fusarium foetens* in *Begonia*. *J. Phytopathology* 154: 694-700
- Wu P. L., F. W. Lin, T. S. Wu, C. S. Kuoh, K. H. Lee, y S. J. Lee. 2004. Cytotoxic and Anti-HIV Principles from the Rhizomes of *Begonia nantoensis*. *Chem. Pharm. Bull.* 52 (3): 345-349
- Xing F. W., F. G. Wang, H. F. Chen y K. C. Chau. 2005. *Begonia hongkongensis* (Begoniaceae), a new species from Hong Kong. *Ann. Bot. Fennici* 42: 151-154
- Ye H. G., F. G. Wang, Y. S. Ye y C. I. Peng. 2004. *Begonia coptidifolia* (Begoniaceae), a new species from China. *Bot. Bull. Acad. Sin.* 45: 259-266
- Zambrana-Torrel C. M., M. Villegas, C. Ureña-Aranda y M. Pacoricona. 2004. Variación de la folivoría en *Begonia parviflora* (Begoniaceae) con relación a la edad foliar y fenología de la planta. *Ecología en Bolivia*, 39 (1): 45-51