



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE CIENCIAS

UNIVERSIDAD NACIONAL
AUTÓNOMA DE
MÉXICO

Fecundación Intergenérica entre
las Podostemáceas *Vanroyenella plumosa*
y *Marathrum rubrum*

T E S I S
QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE
B I Ó L O G O
P R E S E N T A
ALFREDO PASTOR VÁZQUEZ VÁZQUEZ

DIRECTORA DE TESIS: DRA. GUADALUPE JUDITH MARQUEZ GUZMÁN





Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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



UNIVERSIDAD NACIONAL
AUTÓNOMA DE
MÉXICO

FACULTAD DE CIENCIAS
Secretaría General
División de Estudios Profesionales

Votos Aprobatorios

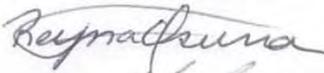
ACT. MAURICIO AGUILAR GONZÁLEZ
Jefe de la División de Estudios Profesionales
Facultad de Ciencias
Presente

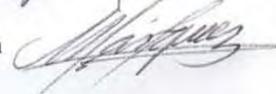
Por este medio hacemos de su conocimiento que hemos revisado el trabajo escrito titulado:

Fecundación Intergénica entre las Podostemaceas Vanroyenella plumosa y Marathrum rubrum

realizado por **Vázquez Vázquez Alfredo Pastor** con número de cuenta **4-0403900-6** quien ha decidido titularse mediante la opción de tesis en la licenciatura en **Biología**. Dicho trabajo cuenta con nuestro voto aprobatorio.

Propietario Dra. Sonia Vázquez Santana 

Propietario Dra. Helia Reyna Osuna Fernández 

Propietario Dra. Guadalupe Judith Márquez Guzmán 
Tutora

Suplente M. en C. Karina Jiménez Durán 

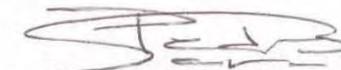
Suplente Biól. Raúl Luna Ramos 

Atentamente,

“POR MI RAZA HABLARÁ EL ESPÍRITU”

Ciudad Universitaria, D. F., a 26 de marzo de 2010

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.

Agradezco a la Dirección General de Asuntos del Personal Académico por el apoyo brindado para la realización de esta Tesis que forma parte del proyecto PAPIIT IN 206-107.

Esta tesis fue realizada dentro del taller “Biología Reproductiva, Propagación y Fisiología de Plantas de ambientes contrastantes” de la Facultad de Ciencias, U.N.A.M.

DEDICO ESTA TESIS:

A RAQUEL VÁZQUEZ RIVERA, MI MAMÁ, POR SU APOYO, SU ESPÍRITU DE LUCHA, SU ENERGÍA, SU CARIÑO, LOS BUENOS MOMENTOS Y SU PACIENCIA, SIN SUS LECCIONES NO SERÍA QUIEN SOY HOY.

A LUIS ALFREDO VÁZQUEZ BÁRCENA, MI PADRE, PORQUE DESDE PEQUEÑO ME ENSEÑO EL APRECIO POR EL ESTUDIO DE LA NATURALEZA ASÍ COMO LOS FENÓMENOS QUE EN ELLA OCURREN, POR SUS ENSEÑANZAS, SU APOYO, SU PACIENCIA Y SU CARIÑO; NO HAY PALABRAS PARA AGRADECERLE.

A MARTÍN POR TODOS LOS MOMENTOS, SU BUEN HUMOR Y OCURRENCIAS QUE SIEMPRE ME HAN ANIMADO.

A LA MEMORIA DE LETY EUROPA, MIGUEL ÁNGEL BLANCO Y RICARDO GONZÁLEZ "Koyote"; D.E.P. HERMANOS, NUNCA LOS OLVIDARE.

A MI ABUELITA LOLA, A MI ABUELITO BETO D.E.P., A MI MA' ESTELITA Y A MI PA' JUANO D.E.P., POR TODOS SUS MIMOS, SUS ENSEÑANZAS, SU CARIÑO Y SU APOYO BRINDADOS DESDE QUE ERA PEQUEÑO.

A GUADALUPE VILLEGAS POR SU INCONMENSURABLE AMOR, SU PACIENCIA, SUS OCURRENCIAS Y SU COMPAÑÍA EN LAS BUENAS Y EN LAS MALAS.

Agradecimientos

A la Dra. G. Judith Márquez Guzmán por su gran apoyo desde el inicio del proyecto, su amistad y sus consejos.

A los integrantes del jurado por la revisión de esta Tesis así como por sus comentarios los cuales ayudaron a mejorarla.

A mis compañeros de campo, “Podosteam”, Biol. Diana Guzmán Merodio, M. en C. Ricardo Wong y M. en C. Raúl Luna. Gracias por su ayuda, los consejos y el buen humor.

A mi amigos Antonio Ruiz “Lic.”, Alejandro Puente “Palmera”, Rodrigo Arce, David González “Bar vader”, Héctor Máximo, Gerardo Pantoja “Plinio”, Pedro Landaverde, Juan Carlos Andrade, Rafael Serrano, Javier González, Oswaldo Flores, Rich Careaga, Efraín Flores, Isaac Pérez, Damaris Flores, Regina González, Paola Flores, Alba Medina, Anahíd García, Ana Rodriguez, Luna Luisa, Andrea Campuzano, Daniela Gonzalez, Diana Romero, Miguel Portillo “Screecho”, Natalia Farías, Rodrigo Hernández, Omar Bautizta “Hoxxi”, Francisco Navas “El Ancestro”, Oscar Navas “Kobre”, Yumiko Bautizta, Diana Guzmán, Silvia Guzmán, Raúl Luna y Alfonso Troyo.

A los compañeros del Laboratorio de Desarrollo en Plantas: Eliza, Paty, Juan, Juan Carlos, Rocío, Aldebaran, Saúl, Magali, Ixchel, Amelia, Dulce y Alma. ¡¡¡Pura Buena Onda!!!

A la familia Vázquez Lagunas, a la Familia Vázquez Barcena y a la familia Villela Trejo por su apoyo y ayuda así como por los buenos momentos, en especial a: Beto, Javi, Oscar, Héctor, Pavel, Vladi, Laura, Brenda, Toño, Gaby, Lupe, Clau, Tía Beti, Tío Javo, Tío Pepe, Tía China, Tío Juan y Tía Jackie.

Agradezco el apoyo técnico en el presente trabajo a:

Biol. Yolanda Hornelas en la observación de las muestras al Microscopio Electrónico de Barrido.

Biol. Patricia Olguin por la asesoría en el uso de las cámaras de germinación.

M. en C. Alejandro Martínez Mena por las fotografías en el Apotome.

Al M. en C. Ricardo Wong y Mónica Karina Pérez Pacheco por la asesoría en la microtecnia.

ÍNDICE

RESUMEN.....	6
ANTECEDENTES.....	7
ESPECIE BIOLÓGICA.....	7
BARRERAS PREAPAREAMIENTO.....	8
BARRERAS POSTAPAREAMIENTO PRECIGÓTICAS.....	9
BARRERAS POSTAPAREAMIENTO POSTCIGÓTICAS.....	10
HIPÓTESIS PARA EL ORIGÉN DEL AISLAMIENTO REPRODUCTIVO.....	11
FAMILIA PODOSTEMACEAE.....	12
GÉNERO <i>VANROYENELLA</i>.....	15
GÉNERO <i>MARATHRUM</i>.....	16
JUSTIFICACIÓN.....	18
OBJETIVOS.....	19
ZONA DE ESTUDIO.....	20
MATERIALES Y MÉTODOS.....	23
SELECCIÓN DE LAS FLORES.....	23
COLECTA DE MATERIAL EXPERIMENTAL.....	25
MICROTECNIA.....	26
DETECCIÓN DE TUBOS POLÍNICOS.....	26
MICROSCOPIA ELECTRÓNICA DE BARRIDO.....	27
GERMINACIÓN DE LAS SEMILLAS OBTENIDAS.....	27
RESULTADOS.....	28
ESTUDIOS DE POLINIZACIONES INTERGENÉRICAS AL MEB.....	28
MICROMORFOLOGÍA DE ESTIGMAS.....	28
RELACIÓN POLEN-ESTIGMA.....	28
OBSERVACIÓN DE TUBOS POLÍNICOS.....	29
ANÁLISIS HISTOLÓGICOS.....	29
APLASTADOS (SQUASH).....	30
DISCUSIÓN.....	39
CONCLUSION.....	42
BIBLIOGRAFIA.....	43

RESUMEN

Podostemaceae es la familia de plantas acuáticas más grande que existe; son plantas que crecen en corrientes rápidas de los ríos y en cascadas. Se diferencian del resto de las plantas acuáticas por su alta reproducción sexual. Presentan adaptaciones tan radicales que no se puede hacer una comparación con el modelo típico de las angiospermas como por ejemplo el aplanamiento del tallo y raíz, así como estructuras de fijación como las ápteras, sin embargo han sido muy poco estudiadas por las dificultades que se presentan debido a su hábitat. Estudios previos sobre barreras reproductivas reportan que la fecundación interespecífica es posible, por lo que se propuso evaluar estas barreras en una cruce intergenérica.

En este trabajo se estudió la polinización entre *Marathrum rubrum* y *Vanroyenella plumosa*, especies endémicas de México, las cuales pertenecen a dos géneros de la subfamilia Podostemoideae y habitan en simpatría en el río “Los Horcones” en la localidad de “Las Juntas y Los Veranos”, en el sitio conocido como Chico’s Paradise en el estado de Jalisco, México. Se realizaron polinizaciones cruzadas entre 80 flores de diversos individuos *V. plumosa* x *M. rubrum* y viceversa. Las flores que fueron colectadas entre los cero minutos y 24 horas post-polinización, correspondieron a la tercera etapa del ciclo de floración. Se realizaron observaciones al MEB de los estigmas de las flores polinizadas y con azul de anilina se observó la presencia de tubos polínicos. La germinación de los granos de polen se produce en el estigma de ambas especies hora y media post-polinización. Mediante cortes de carpelos se observó la presencia de granos de polen germinando y de tubos polínicos creciendo a través del estigma y llegando hasta la placenta. En un solo óvulo fue posible la observación de un tubo polínico penetrando por el micrópilo. Como producto de las polinizaciones intergenéricas se obtuvieron seis plántulas.

Antecedentes

Especie biológica

La especie biológica es uno de los conceptos más ampliamente utilizados en Biología, sin embargo, la definición de especie está lejos de alcanzar un consenso.

Una especie es un conjunto de individuos presentes sobre una porción de la superficie terrestre y generalmente agrupado en poblaciones. El flujo génico une a esas poblaciones más o menos temporalmente y puede inducir, con el tiempo, otras morfologías (Grant, 1989).

La mayoría de los biólogos definen a las especies por el concepto de interfertilidad (especie biológica) así, la especie es efectiva o potencialmente un grupo interfértil de poblaciones aisladas de otros grupos en términos reproductivos (Spichiger *et al.*, 2002).

El aislamiento biológico es esencial para la preservación de la integridad genética de las especies y consiste en la restricción o bloqueo del intercambio genético, por lo que, para que las especies biológicas se conserven deben existir barreras a la hibridización.

Estas barreras son conocidas como mecanismos de aislamiento y se clasifican en preapareamiento, postapareamiento precigóticas y postapareamiento postcigóticas, actuando muchas veces simultáneamente (Levin, 1971, 2001; Hall, 2008). Estas barreras reducen el flujo génico entre poblaciones, sean o no sean simpátricas y aceleran la formación de razas y especies. Son mecanismos que limitan la fecundación entre especies del mismo género o entre la misma especie,

siendo las barreras interespecíficas las encargadas de mantener la identidad genética de las especies (Liedl y Anderson, 1993).

Barreras preapareamiento

Son barreras producidas por las diferencias entre las especies de plantas, se clasifican por su ecología en: temporales y florales; asimismo la autofecundación está considerada como una barrera reproductiva (Levin, 1971, 2001; Hall, 2008).

El aislamiento temporal se observa cuando en una comunidad de plantas filogenéticamente cercanas y que estén en simpatria presentan su floración en diferentes momentos del año (Ej. *Phlox* o *Salix*) o del día (Poaceae), lo que evita el contacto entre los verticilos sexuales, aunque sí se realizan polinizaciones artificiales la producción de híbridos es posible (Judd *et. al.*, 2002)

El aislamiento floral es la consecuencia de las adaptaciones de las plantas a los síndromes de polinización, las cuales se ven reflejadas, por ejemplo, en la producción de diferentes fragancias que atraen diversos polinizadores. Esta atracción puede ser tan especializada que provoca la “fidelidad” de un polinizador a esta especie, aunque haya otras especies disponibles (Ej. *Antirrhinum*). Asimismo las flores pueden producir esencias que atraen abejas y avispas machos, quienes al llegar a la flor se ven estimulados por la textura y la forma de la flor, lo que activa sus instintos de apareamiento y así polinizan las flores. El aislamiento floral también puede presentarse cuando dos poblaciones de especies con dos o más polinizadores en común se encuentran en simpatria provocando que la morfología floral cambie especializándose en un sólo polinizador (Ej. *Fuchsia*). Otra forma en la que se manifiesta esta barrera es a través de la producción de polinios (Ej.

Asclepias), los cuales son insertados en la parte dorsal del polinizador y posteriormente son colocados en una abertura del estigma de otra flor, por lo que la precisión en el tamaño del polinio es importante. Los polinios difieren en el tamaño por lo que es muy difícil que haya hibridización (Judd *et. al.*, 2002).

Otra barrera que se presenta antes del apareamiento entre las especies es la autofecundación, ya que puede pasar que aunque llegue polen de otra especie a un estigma los óvulos de esta flor ya estén fecundados, para esto se requiere que la autoincompatibilidad sea reemplazada por la autocompatibilidad, lo cual conlleva ciertos cambios como una reducción en la cantidad de polen, corolas y lóbulos de la corola más pequeños, lóbulos estigmáticos pequeños y una proximidad espacial entre las anteras y el estigma, la cual facilita la autofecundación. Estas flores son menos atractivas a los polinizadores. El desarrollo de la autofecundación podría estar provocado por la falta de polinizadores aunque se ha visto que en especies que desarrollan tolerancia a los metales pesados la polinización cruzada con individuos sin tolerancia reduce esta característica. Asimismo muchas especies de flores cleistogamas eliminan la polinización cruzada completamente (Judd *et. al.*, 2002).

Barreras postapareamiento precigóticas

Son aquellas donde se presenta un desajuste fisiológico entre el polen o el tubo polínico y el pistilo; puede ser producida por la presencia de algún sistema de autoincompatibilidad en una o en las dos especies. Se ha visto que si el donador de polen es una especie autocompatible y el receptor es autoincompatible el grano de polen o el tubo polínico es rechazado, pero al realizar la crucea recíproca se observa que el tubo polínico generalmente puede llegar hasta el ovario y formar un

híbrido (Muntzing, 1930, Watkins; 1932, Valentine, 1954; Nishiyama e Inomata, 1966, 1978; Johnston *et al* 1980; Liedl y Anderson, 1993).

Las especies que poseen sistemas de autoincompatibilidad tienen uno de dos tipos de estilos, “huecos” y “sólidos” (Liedl y Anderson, 1993). Brewbaker (1957) hipotetizó que en estilos huecos los tubos polínicos incompatibles podrían crecer más de lo esperado que en estilos sólidos y podrían fecundar los óvulos, por lo que el óvulo o el ovario tendrían que rechazar estos tubos polínicos, sin embargo esto ha sido difícil de probar ya que no se sabe si el rechazo ocurre exactamente en el micrópilo, en el ovario o en el óvulo además cuando ha sido observado este fenómeno, el rechazo no se ha manifestado en todas las repeticiones (Stout y Chandler, 1933; Sears, 1937; Brock, 1954; Brewbaker y Gorrez, 1967; Spiss, 1969; Dobrofsky y Grant, 1980). Asimismo se ha observado que en algunas especies, en el momento de la fusión de los gametos femenino y masculino, ocurre una falla (Cope, 1939, 1940, 1958, 1962; McKay, 1942; Knight y Rogers 1953, 1955; Bouhartmont, 1960; Taroda y Gibbs, 1982). Kenrick *et al.* (1985) reporta que en *Acacia* spp. el sitio del rechazo se da en el tejido nucelar.

Barreras Postapareamiento Postcigóticas

El rechazo, también puede ocurrir debido a un fuerte desbalance genético o una anomalía cromosómica del embrión (incongruencia unilateral) (Liedl y Anderson, 1993).

En cruza inter e intraespecíficas de especies con ploidía, igual o diferente, se puede presentar una falla en el desarrollo de las semillas, provocada por una malformación del endospermo y podría producirse por las diferencias genéticas de las especies parentales o por incompatibilidad genómica o por la asociación de las diferentes ploidías que se presentan en los tejidos maternos, embrionarios

y del endospermo en estas cruzas (Muntzing, 1930; Watkins, 1932; Valentine, 1954; Nishiyama e Inomata, 1966, 1978; Johnston *et al* 1980; Liedl y Anderson, 1993).

La debilidad o esterilidad híbrida ocurre en la F1, F2 o generaciones posteriores, se presenta como plantas de lento y débil crecimiento, baja fertilidad, clorosis y desarrollo vegetativo anormal (Weeden y Robinson, 1986; Haghghi y Ascher, 1988) así como fallas en la producción de gametos viables debido al apareamiento de números diferentes de cromosomas durante la meiosis (Dobzhansky, 1970; Judd *et. al.*, 2002).

El aislamiento floral híbrido es otra barrera la cual se caracteriza por la producción de flores que no pueden ser polinizadas debido a la ausencia de polinizadores efectivos.

Hipótesis para el origen del aislamiento reproductivo

Judd *et. al.* (2002) propone tres hipótesis para el origen del aislamiento reproductivo:

A) La primera sugiere que como dos especies divergen de un ancestro común, los cambios genéticos acumulados frecuentemente disminuyen la probabilidad de una reproducción exitosa entre ellos. Recordando que el aislamiento no siempre es la consecuencia de la especiación.

B) La segunda hipótesis propone que el aislamiento preapareamiento puede ser resultado de selección contra el “desperdicio” de gametos en cruzas con otras especies, es decir un individuo con polen y óvulos exclusivos para cruzas intraespecíficas tendrá más descendencia que uno que utiliza sus gametos para hibridaciones inviables.

C) La tercer hipótesis plantea que la selección del aislamiento preapareamiento tiene como consecuencia la reducción por la competencia de polinizadores, por ejemplo especies cercanamente relacionadas frecuentemente presentan flores muy parecidas, lo que atrae polinizadores similares. En algunas especies, al no haber suficientes polinizadores la polinización cruzada se ve comprometida, por lo que atraer diferentes polinizadores puede incrementar la eficiencia y aumentar la adecuación.

Familia Podostemaceae

La familia Podostemaceae Rich Ex C Agardth (Magnoliopsida) es la más grande de todas las familias de angiospermas estrictamente acuáticas, con 49 géneros y 270 especies (Phillbrick y Novelo 1998). Las podostemáceas se encuentran comúnmente en ríos oligotróficos, son sensibles a la contaminación aunque algunas especies son capaces de soportar niveles de contaminación considerables (Ej. *Castelnavia*), particularmente en época de secas, aunque no se ha precisado por cuánto tiempo pueden soportar este tipo de estrés (Quiroz *et al.*, 1997; Bove comunicación personal). Las podostemáceas son rheophytas (Rutishauser, 1999) que se restringen a lugares en los que el resto de las angiospermas típicamente no crecen, en áreas en las que los rayos solares inciden directamente (Phillbrick y Novelo, 1993), en cascadas, ríos de corrientes rápidas, adheridas a rocas u otros objetos sólidos (Novelo y Phillbrick 1997), firmemente ancladas a los sustratos de rocas por medio de rizoides con forma de pelos radicales y apteras (Jäger-Zürn y Meinhard, 2000) y por sustancias adhesivas secretadas por cianobacterias asociadas a la planta (Rutishauser, 1997), ya que esta familia no presenta la raíz típica de las angiospermas (Phillbrick y Novelo 1993). Debido a estos ambientes extremos, hay etapas del ciclo de vida de estas plantas que permanece sin

conocerse (Phillbrick y Novelo, 1994). Con base en su adherencia al sustrato rocoso, las podostemáceas se pueden considerar como haptófitas (plantas que se encuentran adheridas al sustrato pero que no lo penetran) de acuerdo con la clasificación propuesta por Luther (1949), categoría que comparten con algas, líquenes y briofitas (Sculthorpe, 1967). Las adaptaciones morfológicas de las podostemáceas al ambiente acuático han derivado en una organización poco ortodoxa, por lo que se les ha asociado a líquenes, algas y briofitas (Les *et al.*, 1997; Rutishauser, 1997).

Embriológicamente, la familia Podostemaceae, se caracteriza por la presencia de un plasmodio nucelar (pseudo saco embrionario), la ausencia de doble fecundación (Battaglia, 1987; Mohan-Ram y Shegal, 1992) y la ausencia de endospermo que es un carácter inusual en las angiospermas. Hay un considerable polimorfismo a distintos niveles morfológicos y aun entre individuos (ej. coloración de las hojas) (Murguía-Sánchez *et al.*, 2001), el polimorfismo vegetativo, inducido ambientalmente, que es común en las plantas acuáticas, permanece aún sin estudiar en Podostemaceae (Rutishauser *et al.*, 1999).

Esta familia, en contraste con la mayoría de las angiospermas acuáticas, presenta una alta producción de flores, frutos y semillas, y muy probable ausencia de reproducción vegetativa (Phillbrick y Novelo, 1997). La época de floración de las podostemáceas se produce cuando el nivel de agua de los ríos desciende, debido a que la época de lluvias concluyó (noviembre-mayo) (Luna 2006, 20010, Guzmán, 2006). El número de flores que pueden observarse en una visita al campo varía de acuerdo con la cantidad de precipitación. El conocimiento de la citotaxonomía de esta familia y los números cromosómicos conocidos de esta familia se reducen al 16% de los géneros y el 3.3% de las especies de Podostemaceae (Magnus, 1913; Gaiser, 1930; Chiarugi, 1933; Darlington

y Wylie, 1955; Okada, 1991; Les y Phillbrick, 1993; Uniyal and Mohan Ram, 1994). Los números cromosómicos reportados para las especies de la subfamilia Podostemoideae Americanas es de $2n=28$, $n=14$ para las especies *Apinagia imthurnii*, *Marathrum rubrum*, *M. schiedeanum*, *M. tenue*, *Oserya coulteriana* y *Vanroyenella plumosa* (Gaiser, 1930; Oropeza et al. 1998, 2002).

Las especies de esta familia que se distribuyen en América fueron estudiadas y clasificadas por primera vez en una gran monografía en el trabajo de Van Royen (1954), sin embargo de los ejemplares que él estudio no colectó ninguno, de tal manera que no existen ejemplares de respaldo, ni tampoco conoció las áreas donde estas plantas se distribuían, esto aunado a una deficiente técnica de herborización arrojó como resultado una gran lista de morfoespecies, es decir una especie determinada únicamente por caracteres morfológicos (Phillbrick, comunicación personal) que se ha ido reduciendo a través del trabajo de investigación que se ha hecho desde entonces. La investigación se ha enfocado en la taxonomía del grupo teniendo como resultado la reducción del número de géneros e incluso de especies. Un ejemplo es el trabajo de Novelo y Phillbrick (1997) en el cual reducen las especies de *Marathrum* presentes en México de 6 a 4.

El 60% de las especies de la familia, representadas en 20 géneros, se distribuye en el Nuevo Mundo (Phillbrick y Novelo, 2004). En México la familia se distribuye principalmente en ocho provincias fisiográficas de acuerdo con la clasificación de Rzedowsky (1988): Planicie Costera Noroccidental, Sierra Madre Oriental, Eje Volcánico Transversal, Planicie Costera Nororiental, Depresión del Balsas, Sierra Madre del Sur, Sistema Montañoso en la región norte de Oaxaca y en la Planicie Costera Suroriental y está representada por cinco géneros *Marathrum* Humb. & Bompl., *Oserya* Tul. & Wedd., *Podostenum* Michx., *Tristicha* Du petit.Thouars y *Vanroyenella* Novelo & Phillbrick (Novelo y Phillbrick, 1997). *Vanroyenella* es un género monotípico con un eje postrado de 8 cm de diámetro y

hojas de 4 a 12 cm de longitud, lo que hace más fácil distinguir individuos. *Marathrum* se distingue por sus hojas amplias y laminares, además de sus estambres deciduos después de la antesis.

Se considera una familia antigua debido a que han encontrado fósiles que datan del Eoceno superior (aproximadamente hace 40 millones de años), aunado a que poseen traqueidas con engrosamientos anulares o espirales ampliamente espaciados (Murguía-Sánchez, 2003).

Género *Vanroyenella*

El género *Vanroyenella* fue descubierta en 1993 durante los trabajos de campo de Philbrick y Novelo; es un género monotípico ubicado en dos localidades en México, una en Oaxaca y otra en Jalisco, ambas ocurren en la vertiente del Pacífico entre los 200 y los 800 msnm (Novelo y Philbrick, 1997).

Presentan raíces de 8 mm de diámetro, hojas de 1-5, 4-12 cm de largo y 0.8-1 cm de grosor; la base del pecíolo es 3 veces más ancha que el pecíolo que va de 1-3 cm; el ápice de la hoja es agudo o redondo, las divisiones más pequeñas son de 6 mm a 0.1 mm de grosor, enteras ó 1-3 divididas (Fig.3 A). Pedúnculo reducido. La espátela crece de 5-10 mm. Presentan tépalos de 1.8 a 2.2 mm de largo. Las flores son hermafroditas zigomórficas, desarrolladas en una delgada y clavada espátela, crecen en fascículos, presentan 2 estambres libres y alternados con los tépalos, confinadas en un solo lado de la flor, anteras sagitadas, basifijas, con dehiscencia longitudinal con dos aberturas laterales, miden 1-1.5 mm de longitud y tienen filamentos de 3.5 – 5mm de longitud, son subulados, aplanados, se elongan durante la antesis, después se endurecen y continúan en costillas en el fruto (Fig.3 C). Ovario súpero, bilocado, dos estigmas cónicos de 0.6-1.3 mm de longitud, numerosos óvulos con placenta axilar. Cápsulas biloculares de 3.5-4.2 mm de longitud y 1.2-1.7 mm de

diámetro, márgenes de sutura engrosados, con dos valvas, cada una con tres costillas, persistente. Número de semillas por cápsula 333 (SD 261, $n=38$) y son obovoides (Novelo y Philbrick, 1997). Su número cromosómico es de $2n=28$ (Oropeza *et al.*, 2002). *Vanroyenella plumosa* frecuentemente crece junto con especies de *Marathrum*, *Tristicha trifaria* y *Oserya coulteriana*. Sin embargo *V. plumosa* está restringida a áreas donde la corriente es más rápida y crece más alto, en una roca dada, que otras podostemáceas. *Vanroyenella plumosa* está caracterizada por las divisiones filamentosas de las hojas que se elevan dicotómicamente de la parte media sumergida y que la hacen parecer una “hoja plumosa”, las flores en fascículos y los filamentos que se endurecen durante la antesis y permanecen unidos, incluso cuando los frutos están maduros (Novelo y Philbrick, 1993b).

Género *Marathrum*

Marathrum está compuesto por 25 especies que se distribuyen en ríos rápidos y cascadas tropicales. Es uno de los géneros más extendidos de Podostemaceae del nuevo mundo, localizándose desde las indias occidentales y México, a través de Centroamérica hasta llegar a la parte noreste de Sudamérica (van Royen, 1951). Es el género más ampliamente distribuido en México (Novelo y Philbrick, 1997), con cuatro especies que incluyen *Marathrum rubrum*, *M. schiedeanum*, *M. tenue* y *M. trichoporum*. *M. schiedeanum* comparte con *M. rubrum* un apéndice extendido del pedicelo y poseen cinco o más estambres acomodados alrededor del ovario. *M. tenue* y *M. trichoporum* no tienen el apéndice expandido del pedicelo y sólo poseen de 2 a 3 estambres que salen de un solo lado del ovario.

Novelo y Philbrick (1997) redujeron el número de especies de *Marathrum* en México propuestos por Van Royen (1951), fusionando 3 especies que habían sido reconocidas por caracteres morfológicos de las hojas (*M. elegans*, *M. haenkeanum* y *M. schiedeanum*) en una sola especie, *M. schiedeanum*.

Este género incluye especies anuales y perennes (Murguía-Sánchez, 2003). Son hierbas pequeñas o grandes, postradas, aplanadas, con raíces alargadas. Su tallo es postrado, alargado y grueso. En el género el polen se libera en mónadas. El ovario es bilocular. No presenta estilo. Tiene dos estigmas libres o basalmente fusionados, cónicos, los óvulos son numerosos. La placenta es axilar. Las cápsulas son biloculares, con valvas iguales, persistentes, cada una con tres o cuatro costillas y márgenes de la sutura engrosados y contiene numerosas semillas (Fig. 3 D) (Novelo y Philbrick, 1997).

Marathrum rubrum es una hierba perenne cuyo carácter distintivo son sus hojas, ya que presentan divisiones capiliformes (únicas en la familia) además de un distintivo color rojo tanto en la parte adaxial como en la abaxial; otras especies de *Marathrum* presentan esta coloración sólo en la parte abaxial de las hojas (Fig. 3 B) (Novelo y Philbrick, 1993).

Marathrum rubrum es endémica de las partes bajas de la costa del Pacífico de México. Ha sido recolectada sólo en algunos ríos de Jalisco y Guerrero, donde puede encontrarse junto con *O. coulteriana*, *T. trifaria* y *V. plumosa* (Novelo y Philbrick, 1993).

Justificación

En este trabajo se plantea la pregunta sobre la probabilidad de flujo génico entre dos especies pertenecientes a géneros distintos de la familia Podostemaceae (*Vanroyenella plumosa* y *Marathrum rubrum*) que crecen en simpatría. Se propuso estudiar cual o cuales de los procesos de la fecundación se desarrollan en esta cruce intergenérica una vez que el polen de un género arriba al estigma de otra especie de un género diferente ya que estudios previos que han demostrado compatibilidad interespecífica en Podostemaceae, con formación de semillas viables entre dos especies del mismo género (*Marathrum schiedeanum* y *Marathrum rubrum*) que comparten un mismo río, indicando que para esas dos especies en particular, no existen barreras que impidan la formación de semillas interespecífico.

Objetivos

General:

- Evaluar la compatibilidad reproductiva *Vanroyenella plumosa* y *Marathrum rubrum*, dos géneros de Podostemáceas con distribución simpátrica analizando los procesos desde el arribo del grano de polen hasta la formación de semillas.

Particulares

- 1.- Determinar si existe adhesión, hidratación y penetración de la superficie estigmática del grano de polen en cruas intergenéricas recíprocas.
- 2.- Determinar la presencia de tubos polínicos en el estigma, placenta y óvulos en cruas recíprocas intergenéricas.
- 3.- Determinar la formación y la germinación de semillas así como la formación de plántulas.

Zona de Estudio

El trabajo de campo fue realizado en el río Los Horcones (20°, 27', 45'' N 105°, 17', 15''O) a 18 kilómetros hacia el sur de Puerto Vallarta (Fig. 1). El río Los Horcones Quiroz *et. al.* (1997) lo reporta como un río oligotrófico poco contaminado con una temperatura de 24° C, bajas concentraciones de nitrógeno, fosforo, sodio, potasio, calcio y magnesio así como un pH cercano a 8. (Fig. 2). Esta área reporta un clima muy húmedo (Aw), con invierno y primavera secos y cálidos, sin estación invernal definida, una temperatura media anual de 25.6° C y una precipitación media anual de 878.3 mm., con régimen de lluvias en los meses de junio a septiembre y vientos dominantes en dirección noroeste. (Gobierno del estado de Jalisco página en red <http://www.e-local.gob.mx/work/templates/enciclo/jalisco/mpios/14020a.htm>). La vegetación asociada en esta localidad es selva baja subperennifolia (Rzedowsky, 1988)

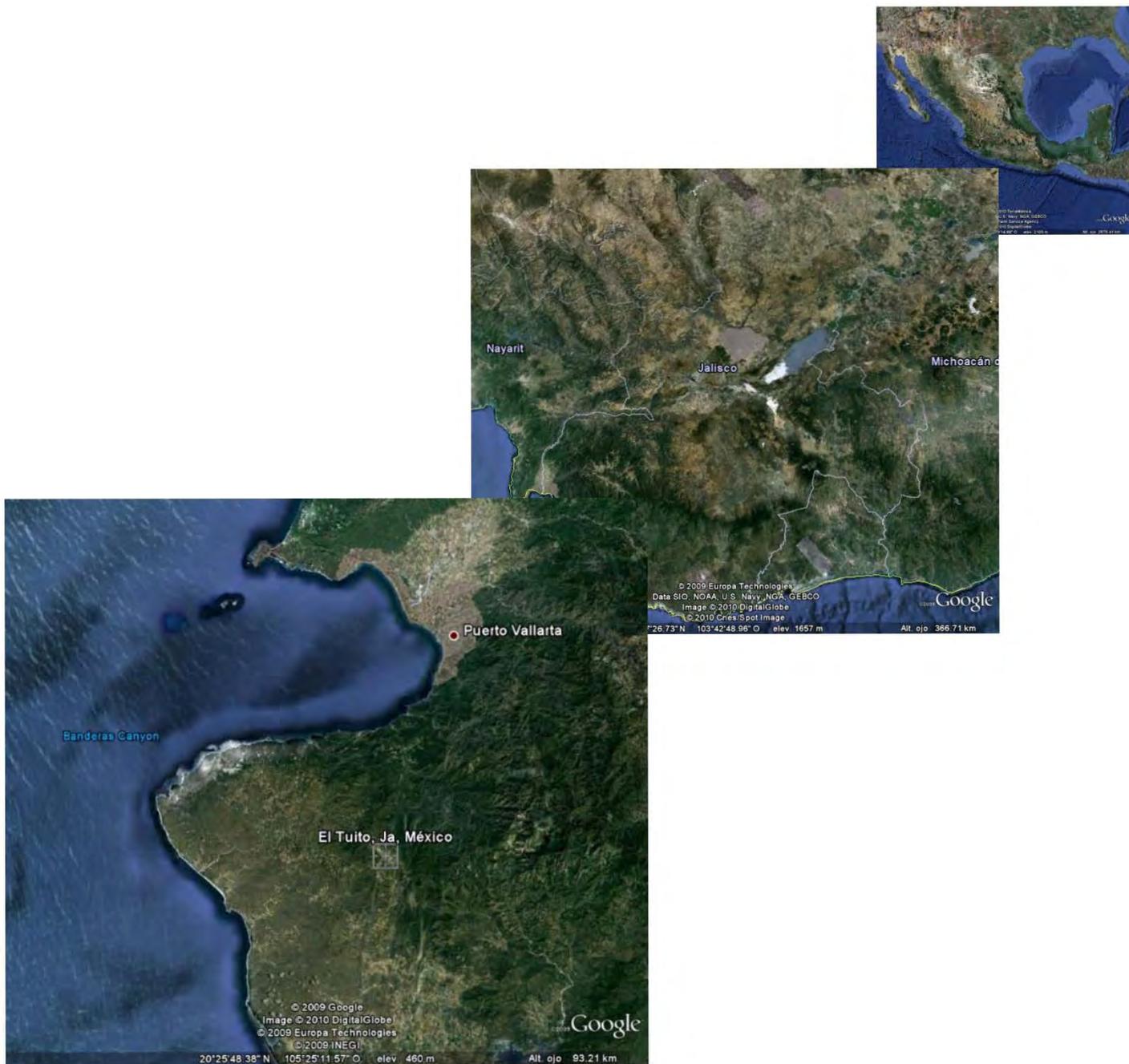


Fig. 1. Municipios del Tuito y Puerto Vallarta, Jalisco México



Localidad Rio Los Horcones, Jalisco



Localidad Chico's Paradise, Jalisco

Fig.2. Localización de la zona de distribución de *M. rubrum* y *V. plumosa* en Jalisco. Los ríos están señalados con círculos.

Materiales y Métodos

Selección de las flores

Se realizaron tres visitas al río Horcones, la primera en enero de 2008, la segunda en diciembre del mismo año y la tercera en diciembre de 2009.

Se siguió la caracterización morfoembriológica propuesta por Guzman (2006) para identificar distintas etapas de maduración floral en campo. Se buscaron flores que estuvieran en la tercera etapa de desarrollo la cual se caracteriza porque el pedicelo se ha elongado, causando que la espátela quede debajo del ovario o incluso más abajo sobre el pedicelo; de esta forma, las estructuras reproductoras se encuentran totalmente libres. Las anteras tienen forma de flecha, de color magenta y los filamentos rosas; los estigmas continúan juntos, de coloración púrpura. El ovario es magenta, de un tono más oscuro que el de las anteras. En esta etapa los verticilos sexuales aún no son receptivos (Guzmán, 2006; Luna, 2010). En la primera visita se trabajó con 50 flores de cada especie, en la segunda sólo se encontraron 30 flores de *Marathrum rubrum* para polinizar con diez flores presentes de *V. plumosa* y en la tercera se polinizaron 12 flores de *V. plumosa* con polen de 3 flores de *M. rubrum*.

En las tres visitas las flores de ambas especies fueron emasculadas y se embolsaron con una membrana de diálisis Spectra de 32 mm para evitar la llegada de polen indeseado ya que esta membrana permiten el intercambio gaseoso pero impiden el paso de partículas más grandes, tiene forma tubular y fue cortada cada 5 cm, uno de los extremos fue amarrado con un hilo de nylon y fue colocada encima de las flores a manera de capuchón, una vez colocada se amarró el otro extremo al

pedicelo, lo suficiente para soportar la bolsa pero no tanto como para dañar la flor (Phillbrick y Novelo, 1998).

Las flores fueron polinizadas manualmente 24 horas después del aislamiento con flores de la otra especie, cuyas anteras estaban dehiscentes, este tiempo es suficiente para que los estigmas estén receptivos (Guzmán, 2006; Luna 2006, 2010). Una vez polinizadas se reembolsaron para tener cruces controladas.

Las colectas se realizaron de acuerdo a la siguiente tabla

Muestra	Tiempo post-polinización	Número de flores por tiempo	
		<i>Vanroyenella plumosa</i>	<i>Marathrum rubrum</i>
0	0	5	10
1	30 minutos	5	10
2	1 hora	7	10
3	1:30 horas	5	10
4	2 horas	7	10
5	3 horas	7	10
6	4 horas	2	0
6	24 horas	5	8
7	48 horas	5	5
8	144 horas (6 días)	3	3

Tabla 1. Tiempos de colecta post-polinización

Colecta de material experimental

En la primera visita las flores fueron recogidas de cinco en cinco, la primera muestra se tomó instantes después de la polinización, las muestras 1, 2, 3 y 4 se realizaron con una diferencia de 30 minutos entre cada una, la muestra 5 se tomó a las 3 horas postpolinización, la muestra 6 se tomó a las 24 horas postpolinización, la muestra 7 fue tomada 48 horas postpolinización y la muestra ocho se tomó después de un lapso de seis días (Tabla 1), cuando las cápsulas estaban maduras, color café, costillas del fruto evidentes y un pedicelo endurecido (Phillbrick y Novelo, 1998). En la segunda visita sólo se obtuvieron muestras de hasta 24 horas y en la tercera solo de las primeras 4 horas.

Se prepararon dos fijadores y de las cinco flores que se recogieron por intervalo en la primera visita tres se fijaron en FAA (formol, ácido acético, etanol 96% y agua 2:1:10:7) para analizarlas a través de cortes histológicos y dos en glutaraldehído-paraformaldehído para su análisis al microscopio electrónico de barrido. En la segunda y en la última visita las flores sólo fueron fijadas en FAA. Sin embargo debido al ambiente en el cual crecen estas plantas no se pudieron recoger las cincuenta flores de la primera visita, por lo que las últimas plantas que se colectaron el sexto día fueron tres de cada cruza (6 en total) y se trasladaron al laboratorio sin ningún tratamiento posterior; ya que aunque parecen maduras Philbrick y Novelo (1998) reportan que las semillas no completan su maduración hasta 40 días postpolinización cuando las cápsulas poseen la morfología de frutos maduros.

Microtecnica

Las primeras y segundas muestras se deshidrataron a través de una serie de alcoholes graduales (35%,50%, 70%, 96% y 100% dos veces) por una hora y 15 minutos al vacío cada vez que se cambiaba el alcohol, posteriormente se colocaron las muestras en xilol puro durante 15 minutos para después pasarlas a una mezcla de xilol-paraplast en concentración 2:1,1:1 y 1:2 por 24 horas a 63°C cada uno. Finalmente las muestras se dejaron en paraplast puro por 24 horas. Las muestras incluidas se cortaron en un micrótopo de rotación American Optical 820 a un grosor de entre 8 µm y 10 µm. Los cortes obtenidos se desparafinaron colocándolos en un horno a 63° C y un tren de alcoholes graduales y xilol.

Detección de tubos polínicos

A los cortes desparafinados se les agregaron unas gotas de azul de anilina, que es una sustancia que se adhiere a la calosa de los tubos polínicos y que, al ser iluminados con luz ultravioleta en total oscuridad en un microscopio de fluorescencia, evidencia los tubos. A los cortes donde se observaron tubos polínicos se les tomaron microfotografías.

En cruces de *M. rubrum* x *V. plumosa* de la tercera visita se tomaron 3 flores en cada uno de los tiempos y se fijaron en FAA, y se sumergieron en una solución de NaOH 1N por 24 horas, se lavaron con agua destilada y después se dejaron 24 horas sumergidas en azul de anilina a 4° C en oscuridad. Posteriormente se colocó flor por flor en un portaobjetos, se les agregó azul de anilina y se aplastaron con un cubreobjetos y la goma de un lápiz y se selló la preparación con barniz de

uñas, para después ser observadas con microscopio de fluorescencia, buscar tubos polínicos y tomar microfotografías.

Microscopia electrónica de barrido

Las flores fijadas en glutaraldehído-paraformaldehído se deshidrataron con alcoholes graduales (35%, 50%, 70%, 96%, 100%). Después se deshidrataron hasta punto crítico con CO₂, se montaron en portamuestras y fueron cubiertas con oro a través de una ionizadora, se observaron con un microscopio electrónico de barrido para observar la interacción entre los granos de polen y el estigma, se tomaron microfotografías.

Germinación de las semillas obtenidas

Las 55 semillas obtenidas de los seis frutos de ambas cruza se colocaron en 3 cajas de Petri de 20 en 20 con ayuda de una aguja de insulina sobre una toalla de papel humedecida con agua embotellada, 6 ml aproximadamente, y rehumedecida cada dos días, se mantuvieron en las cámaras de ambientes controlados a una temperatura constante de 25°C con humedad relativa del 21% y un fotoperiodo 16/8 por seis días, se observaron diariamente; la germinación se determinó con la observación de los cotiledones y tejido fotosintético.

Resultados

Estudios de polinizaciones intergenéricas al MEB

Micromorfología de estigmas

Los estigmas de *V. plumosa* y *M. rubrum* fueron observados. *Vanroyenella plumosa* posee estigmas anchos desde la base hasta el ápice mientras que *M. rubrum* presenta estigmas que van de anchos en la base a delgados en el ápice con ambos estigmas separados (Fig. 4)

Relación polen-estigma

Se observaron las diferentes etapas de la relación polen-papila estigmática de las cruzas entre *M. rubrum* y *V. plumosa*. La primera fase consiste en la adhesión del grano de polen a las papilas del estigma (fig. 5A), la segunda es la hidratación del grano de polen (Fig. 5B), la tercera etapa es la germinación del grano de polen que se expresa en la salida del tubo polínico a través de uno de los colpos (Fig. 5C) y la cuarta etapa es la elongación del tubo polínico y su penetración en el estigma (Fig. 5D).

En cruzas de *M. rubrum* x *V. plumosa* desde el tiempo 0 al tiempo 2 los granos de polen se encuentran turgentes y bien adheridos a la superficie papilosa (Fig. 6A). En el tiempo 3 que corresponde una hora y media postpolinización los granos seguían adheridos al estigma y se observó en algunos de los granos de polen el surgimiento del tubo polínico a través de uno de los colpos (Fig. 6B), para el tiempo 5 que corresponde a tres horas postpolinización el tubo polínico que

salió por uno de los colpos ya ha penetrado en el estigma (Fig. 6C). Las muestras correspondientes a tiempos mayores muestran un número mayor de tubos polínicos ingresando en el estigma (Fig. 6D).

En cruza de *V. plumosa* x *M. rubrum* las flores colectadas correspondientes al tiempo 0 y hasta el tiempo 2 (1 hora postpolinización) muestran en el estigma granos de polen adheridos y turgentes (Fig. 7A). Las flores colectadas correspondientes al tiempo 3 (1 hora y media postpolinización) muestran a la mayoría de los granos de polen adheridos al estigma y turgentes. Algunos granos de polen han comenzado a germinar y muestran a los tubos polínicos emergiendo por los colpos (Fig. 7B). En el tiempo 4 (dos horas postpolinización) los tubo polínicos penetran a la papila estigmática, lo mismo sucede en el tiempo 5, que corresponde a las 3 horas postpolinización (Figs. 7C y D).

Observación de tubos polínicos

Análisis histológicos

En la cruza de *M. rubrum* x *V. plumosa* se observan granos de polen germinando sobre el estigma, interiorizándose en el tejido estigmático y creciendo a través de él (Figs. 8 A y B). A las 24 horas postpolinización en la cruza de *M. rubrum* x *V. plumosa* hay granos de polen y tubos polínicos de *M. rubrum* germinando y penetrando el tejido estigmático de *V. plumosa* y recorriendo el estigma (Figs. 8 C y D).

Aplastados (squash)

Se observaron tubos polínicos creciendo en el estigma, la placenta y se encontró un tubo penetrando el saco embrionario en cruza de *V. plumosa* x *M. rubrum* (Fig. 9).

Nota: Los resultados mostrados no incluyen todos los intervalos ya que por deficiencias de la metodología no se pudieron obtener resultados del todas los tiempos; sin embargo siempre que se observo polen este se encontraba en desarrollo.

Obtención de semillas

De la cruza de *M. rubrum* polinizadas con polen de *V. plumosa* se obtuvieron 30 semillas, mientras que de la cruza de *V. plumosa* polinizadas con polen de *M. rubrum* se obtuvieron 25 semillas.

Germinación de semillas

En el segundo día se observo la germinación de 3 semillas, 2 de la cruza de *V. plumosa* x *M. rubrum* y una de la cruza de *M. rubrum* x *V. plumosa*, al tercer día se observo la germinación de 3 semillas más, 2 de *M. rubrum* x *V. plumosa* y una de *V. plumosa* x *M. rubrum*, posteriormente ya no se observó más germinación, las plántulas fueron congeladas en N₂ (Tabla 2).

Cruza	# de semillas/fruto	Semillas Germinadas
<i>Marathrum rubrum</i> x <i>Vanroyenella plumosa</i>	10	0
<i>Marathrum rubrum</i> x <i>Vanroyenella plumosa</i>	12	2
<i>Marathrum rubrum</i> x <i>Vanroyenella plumosa</i>	8	1
<i>Vanroyenella plumosa</i> x <i>Marathrum rubrum</i>	8	0
<i>Vanroyenella plumosa</i> x <i>Marathrum rubrum</i>	10	3
<i>Vanroyenella plumosa</i> x <i>Marathrum rubrum</i>	7	0

Tabla 2. El número de semillas germinadas es muy reducido en comparación con el número de semillas por fruto



Figura 3. A. Partes vegetativas de *Vanroyenella plumosa* y *Marathrum rubrum* B. Parte vegetativa sumergida de *Marathrum rubrum*. C. Flores de *Vanroyenella plumosa* D. Flores de *Marathrum rubrum*

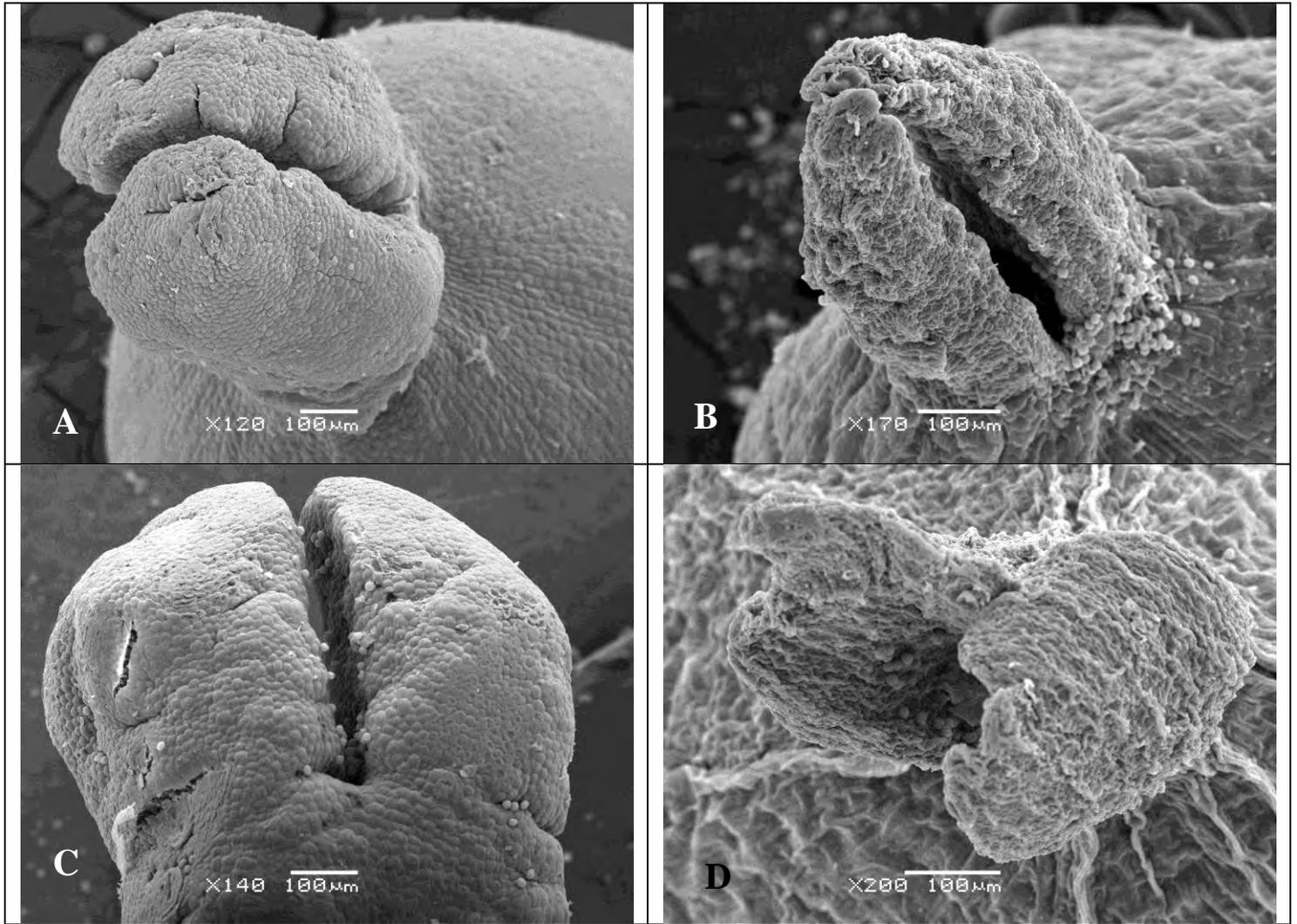


Figura 4. A y C: Micromorfología de los estigmas de *V. plumosa* son anchos desde la base hasta el ápice B y D Micromorfología de los estigmas *M. rubrum* son anchos de la base pero se adelgazan conforme se llega al ápice.

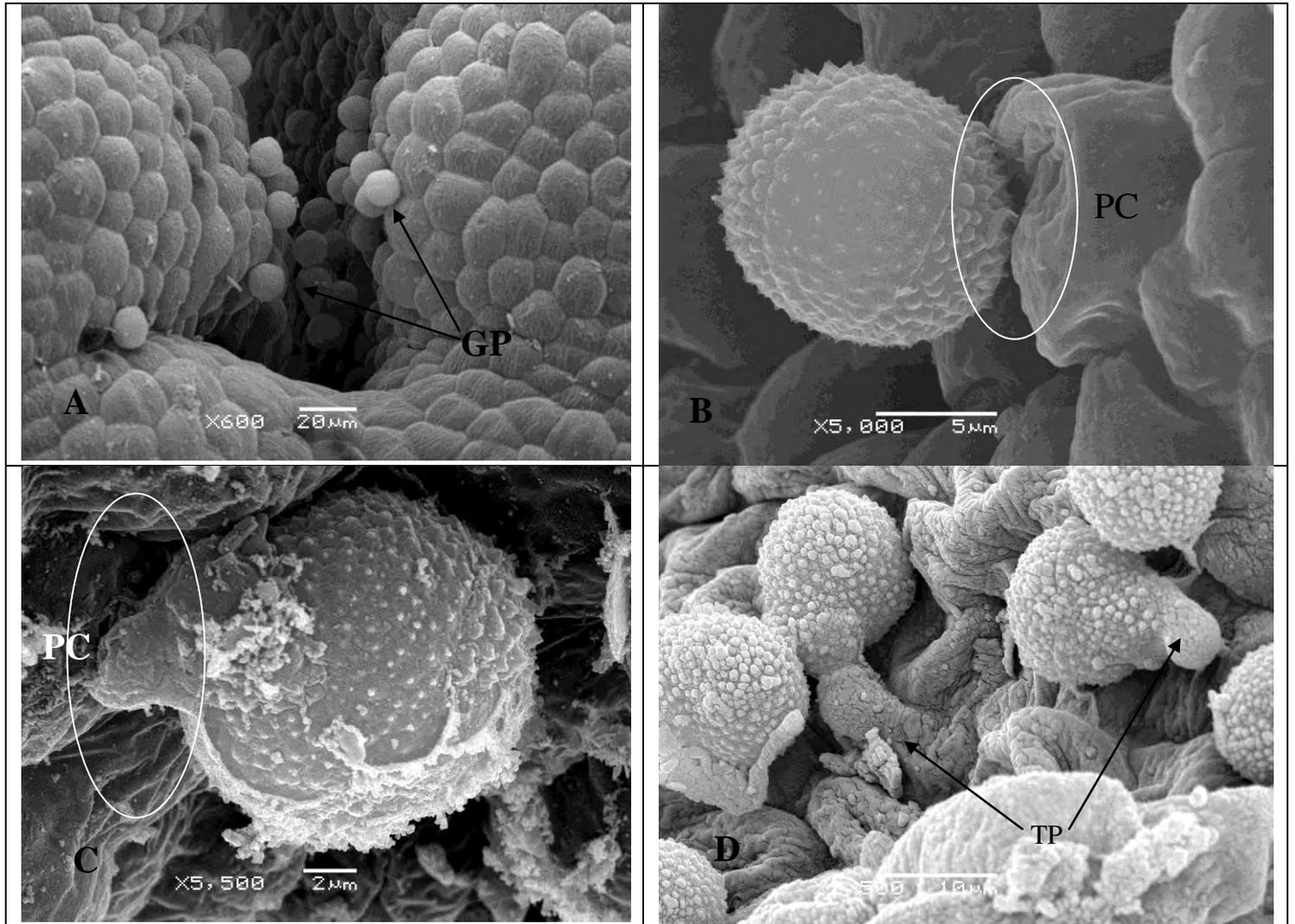


Figura 5. Diferentes etapas en la interacción grano de polen/papilas estigmáticas A. Adhesión del grano de polen al estigma. B Formación de una placa de contacto entre una de las aberturas del grano de polen y una papila estigmática . C. Germinación del grano de polen. D. Formación del tubo polínico GP: Grano de polen, TP: Tubo polínico, PC: Placa de contacto.

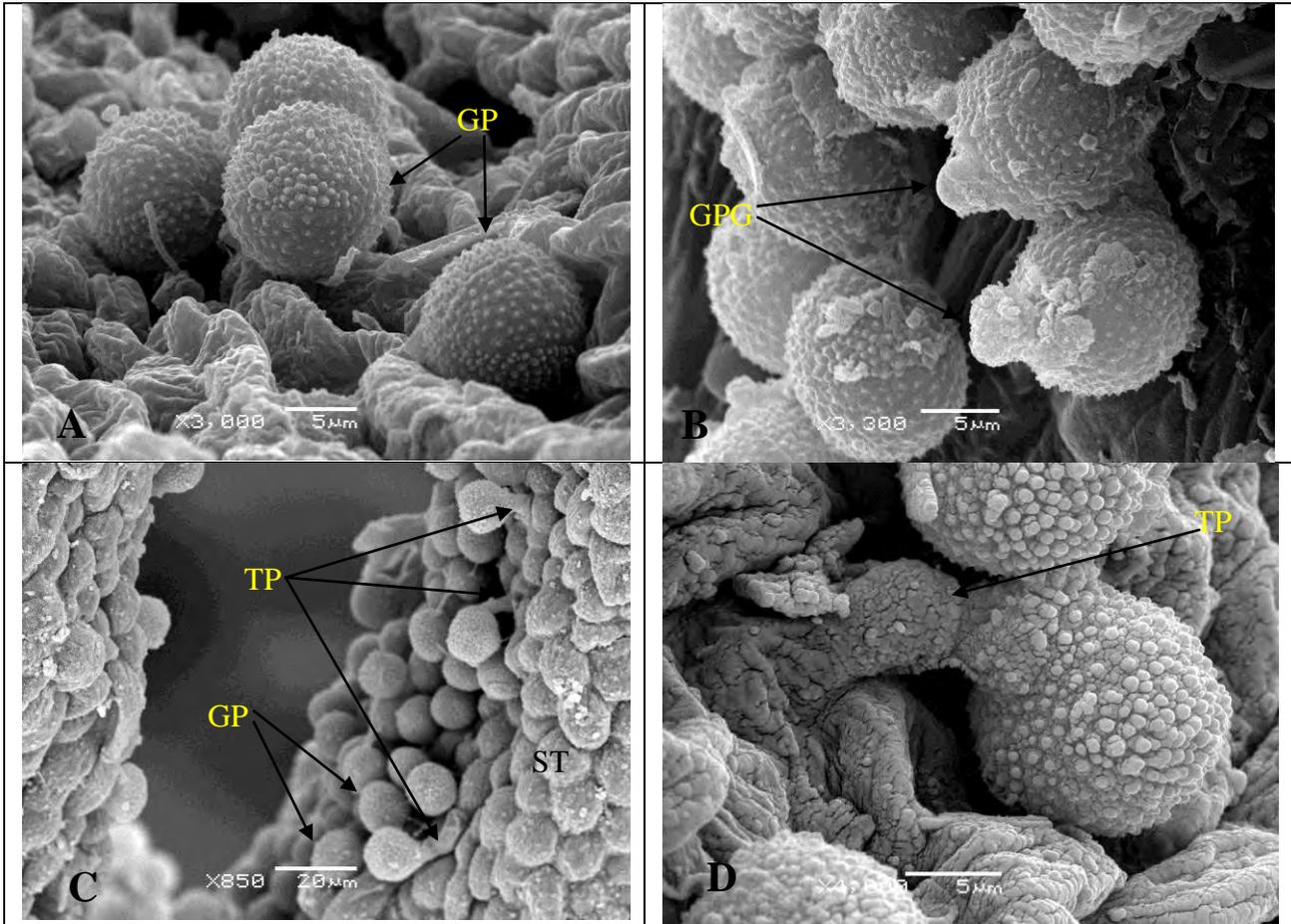


Figura 6. Adhesión del grano de polen en cruas recíprocas. Polen de *V. plumosa* sobre el estigma de *M. rubrum*. A.-Tiempo 0 granos de polen sobre la superficie estigmática, se observan turgentes. B.- Tiempo 2 (1 hora) granos de polen con tubo polínico germinando C.- Tiempo 3 (1 hora y media) Tubos polínicos elongándose y penetrando en el estigma D.- Tiempo 5 (3 horas) Tubo polínico penetrando en el estigma TP: Tubo polínico, GP: Grano de polen GPG: Grano de polen germinando ST: estigma

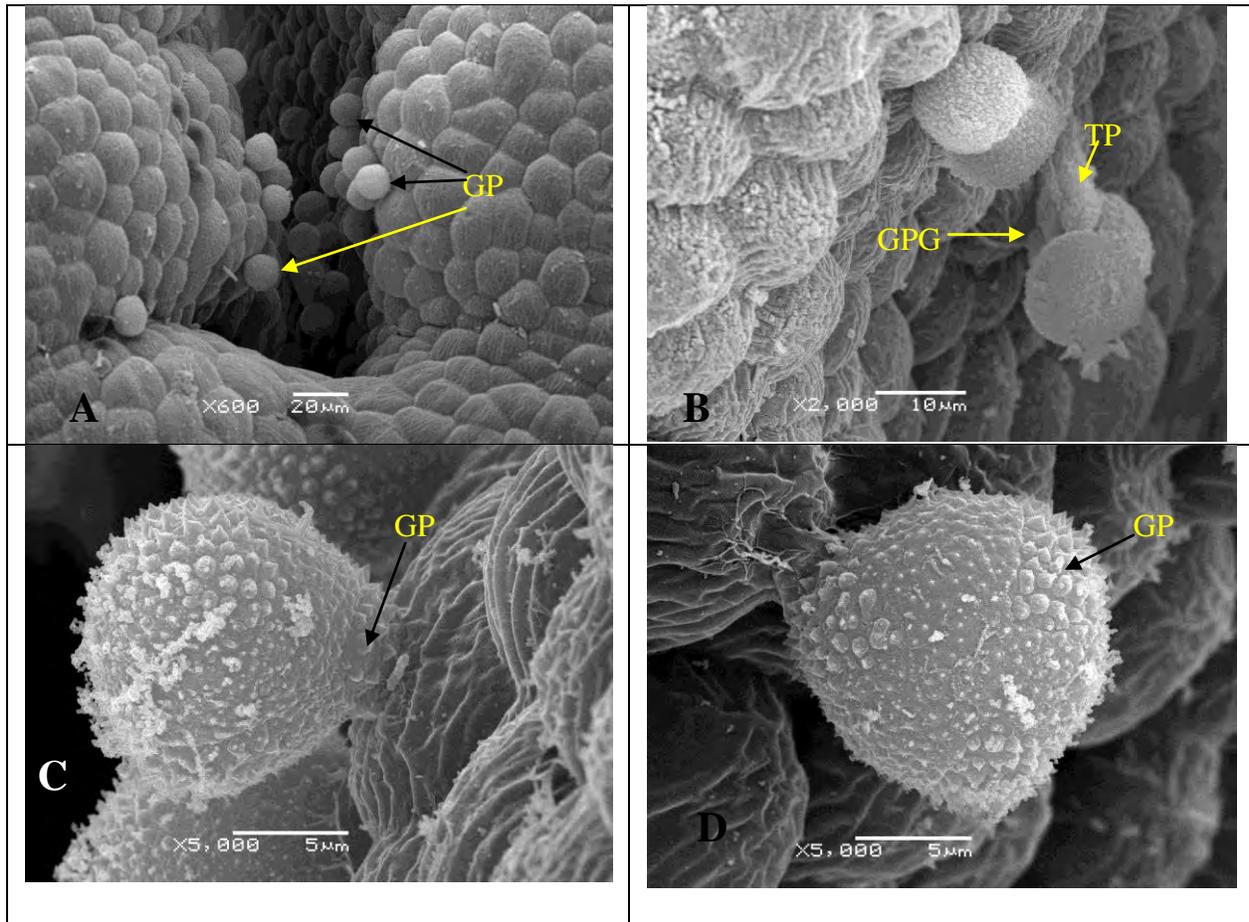


Fig. 7. Adhesión del grano de polen en cruza recíprocas. Polen de *M. rubrum* sobre el estigma de *V. plumosa*. A. Tiempo 2 (1 hora) Granos de polen turgentes sobre la superficie estigmática B. Tiempo 3 (1 hora y media) Granos de polen sobre la superficie estigmática, el grano de polen en segundo plano está germinando C. Tiempo 4 (2 horas) Grano de polen turgente sobre la superficie estigmática D. Tiempo 5 (3 horas) Grano de polen turgente sobre la superficie estigmática TP: Tubo polínico, GP: Grano de polen, GPG: Grano de polen geminando

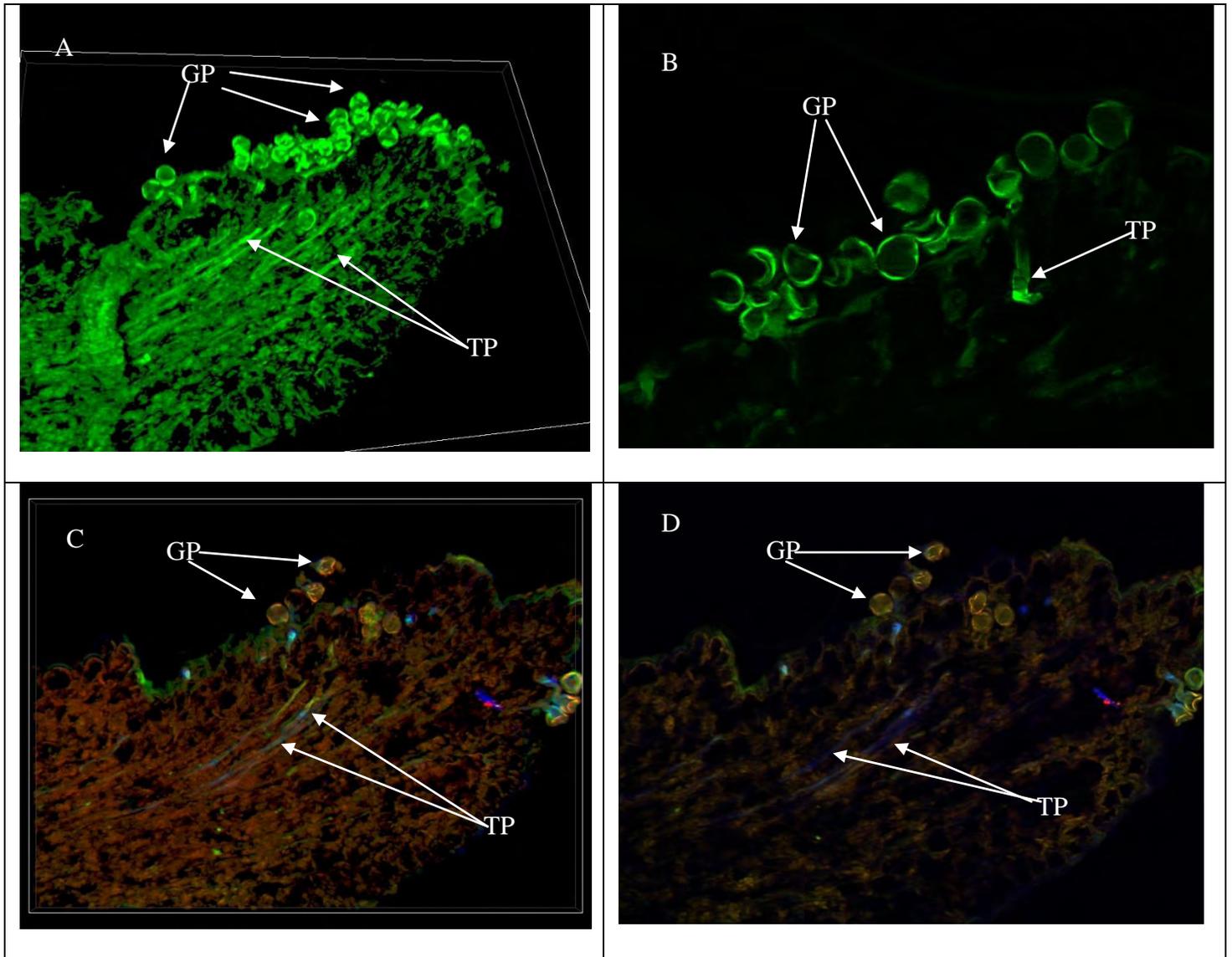


Fig. 8 Tubos polínicos evidenciados con Azul de Anilina vistos con microscopia de fluorescencia 3 horas postpolinización. A y B Granos de polen y tubos polínicos de *V. plumosa* en el estigma de *M. rubrum* C y D Granos de polen y tubos polínicos de *M. rubrum* en el estigma de *V. plumosa*. T.P.: Tubo polínico G.P.: Grano de polen

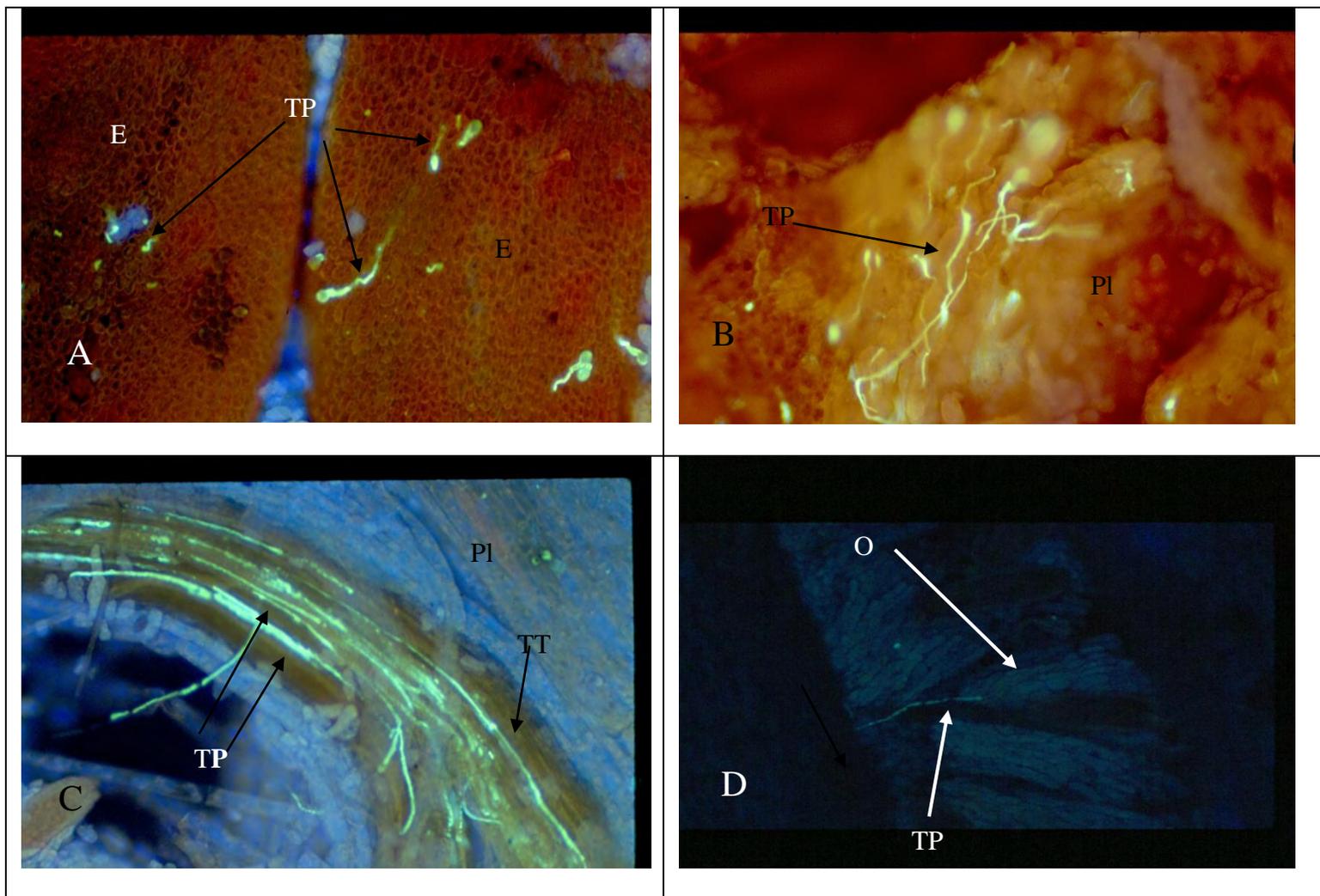


Fig. 9. Aplastados de gineceo de *V. plumosa* polinizados de *M. rubrum* teñidos con azul de anilina y observados al microscopio de fluorescencia. A y B. Tubos polínicos en el estigma. C. Tubos polínicos en el tejido placentario D. Tubo polínico penetrando por el micropilo de un óvulo TP: Tubo polínico, TT: Tejido de transmisión, O: Ovulo, PI: Placenta, E: Estigma

Discusión

La adhesión, hidratación, germinación y el crecimiento de los tubos polínicos y su llegada hasta la vecindad del saco embrionario indica que hasta ese punto no hay barreras reproductivas manifestándose; sin embargo el bajo número de semillas obtenidas por fruto sugiere que es en este punto en donde se expresa cierto tipo de rechazo, el cual podría ser resultado de que el proceso de aislamiento reproductivo entre estas especies no ha llegado al punto en el que el grano de polen o el tubo polínico sean totalmente rechazados.

Marathrum rubrum y *Vanroyenella plumosa* son dos especies de géneros distintos que se distribuyen en ambientes simpátricos, incluso habitando la misma roca, son endémicas (Novelo y Phillbrick, 1993), se propone que la dispersión del polen es por viento (anemofilia) (Willis, 1902; Sculthorpe, 1967; Rutishauser, 1997; Okada y Kato, 2002) y debido a que la floración está determinada por el régimen de lluvias su época de floración se presenta en el mismo momento, por estas razones la polinización cruzada intergenérica en estas especies es altamente probable y se refuerza con los estudios realizados por Luna (2010) que indican que la reproducción de *Marathrum rubrum* incluye un componente alógamo

La ausencia en campo de plantas que se pueda sospechar que son un híbrido entre ambas especies sugiere, que aunque la fecundación entre ellas es posible, el híbrido que de éstas pudiera surgir, tendría una menor adecuación que sus parentales la cual puede verse expresada en la bajísima producción de semillas lo que implica una drástica reducción en las posibilidades de establecimiento de los híbridos así como dificultades en su desarrollo lo que llevaría a su desaparición. Hermsen y

Sawicka (1979) proponen que todas las barreras reproductivas entre especies simpátricas, incluyendo el aborto del embrión y la esterilidad híbrida podrían ser indicadores de incongruencia.

Una posible explicación de los resultados de esta tesis es la mencionada por Judd *et. al.* (2002) en la que en especies que divergen de un ancestro común, los cambios genéticos acumulados frecuentemente disminuyen la probabilidad de una reproducción exitosa entre ellos. Kita y Kato (2000) realizó un trabajo de filogenia molecular con diferentes especies de podostemáceas de todo el mundo basados en el gene *matK*. Sus resultados indican que *Marathrum* es el grupo ancestral, lo que significa que el género *Marathrum* es más antiguo que el género *Vanroyenella*. Les *et. al.* (1997) usando datos moleculares basados en el gen de cloroplasto *rcbL*, encontraron que en árboles enraizados con diferentes grupos, siempre y en todos ellos *Vanroyenella plumosa* y *Marathrum rubrum*, aparecen como grupos hermanos, es decir que son géneros que tienen el mismo ancestro común inmediato. Esto permite pensar que estos géneros, en el proceso de especiación desde su ancestro común inmediato, fueron desarrollando barreras reproductivas que aún no se han completado, ya que la principal barrera reproductiva que se encuentra es la imposibilidad de formar un número adecuado de semillas viables y probablemente en el establecimiento de las plántulas.

Haber observado en esta investigación germinación de tubos polínicos en ambas cruza sugiere la ausencia de barreras de incompatibilidad precigótica asociada al locus "S" tanto en el estigma como en la placenta (no hay estilo) puesto que es en estos lugares es donde se manifiesta el rechazo por este sistema; asimismo la obtención de semillas viables, aunque en muy baja frecuencia tanto en número como en viabilidad, permite pensar que no hay barreras precigóticas, por lo menos en cuanto al desarrollo del tubo polínico se refiere, y las postcigóticas no son completamente efectivas hasta la producción de semillas que esta es mínima ya que la imposibilidad de las podóstemáceas de ser cultivadas *ex situ* (Rutishauser, 1997), excepto por el trabajo *in vitro* de Mohan Ram y

colaboradores (Sehgal *et al.* 1993; Uniyal y Mohan Ram, 1996; Mohan Ram y Sehgal, 1997) (que no se ha podido repetir) no nos permite observar las características morfológicas de los híbridos obtenidos en nuestro trabajo para compararlos con las especies parentales.

Asimismo la ausencia del polen conespecífico pudo haber permitido la germinación de los granos de polen interespecíficos, ya que de acuerdo a los trabajos de Carney *et al.* (1994) y Riesenber *et al.* (1995) en ciertas especies de plantas en las que se reporta compatibilidad interespecífica, se ha observado que el número de híbridos producidos disminuye con respecto a la presencia de polen conespecífico y se ha observado que la activación y la intensidad de las barreras interespecíficas aumentan conforme el polen conespecífico entra en contacto con la superficie estigmática.

Conclusión

- La adhesión, hidratación y germinación del grano de polen se presenta en ambas cruzas.
- El tubo polínico se desarrolla normalmente y está presente en estigma, placenta y ovario en ambas cruzas.
- Se producen semillas en ambas cruzas aunque en número reducido.

Bibliografía

- **Battaglia, E.** 1987. Embriological questions: 2. Is the endosperm of Angiosperms sporophytic or gametophytic? *Ann. Bot.* 39: 9-20
- **Bhojwani, S. S. y S.P Bhatnagar.** 2000. The embryology of Angiosperms. Vikas Publishing Group. 356 pp
- **Bouharmont, J.** 1960. Recherches cytologiques sur la fructification et l'incompatibilité chez *Theobroma cacao* L.I.N.E.A.C. Ser. Sci. 89:113 en Liedl B.E y N.O. Anderson. 1993. Plant Breeding Reviews Vol. III. Jules Wanick, John Wileys and sons Inc.
- **Brewbaker, J.L.** 1957. Pollen cytology and self incompatibility systems in plants. *J. Hered.* 48: 271-277 en Liedl B.E y N.O. Anderson. 1993. Plant Breeding Reviews Vol. III. Jules Wanick, John Wileys and sons Inc.
- **Brewbaker, J.L. y D.D. Gorrez.** 1967. Genetics of self-incompatibility in the monocot genera, *Ananas* (Pineapple) and *Gasteria*. *Am. J. Bot.* 54:611-616 en Liedl B.E y N.O. Anderson. 1993. Plant Breeding Reviews Vol. III. Jules Wanick, John Wileys and sons Inc.
- **Brock, R.D.** 1954. Fertility in *Lilium* hybrids. *Heredity* 8: 409-420 en Liedl B.E y N.O. Anderson. 1993. Plant Breeding Reviews Vol. III. Jules Wanick, John Wileys and sons Inc.
- **Carney, S.E.,** Cruzan, M.B., Arnold, M.L. 1994. Reproductive interactions between hybridizing irises analyses of pollen tube, growth and fertilization success. *Am. J. Bot.*
- **Chiarugi, A.,** 1933. So sviluppo del gametofito femminile della *Weddellina squamulosa* Tul. (Podostemonaceae). *Rend. Accad. Nazl. Lincei. Cl. Sci. Fis., Mat., Nat., Ser. 6 A 17, 1095–110.*
- **Clausen, J. D.D. Neck y W.M. Hiesey.** 1945. Experimental studies in the nature of species. II. Plant Evolution through amphiploidy and autopoloidy, with examples from the Manidae.

- Carnegie Inst. Washington Publ.* 564. en Grant, V. 1971. Plant Speciation. Columbia University Press. 434 pp
- **Cook, D.D.K.** 1990. Aquatic Plant Book. SPB, The Hague, 288 pp.
 - **Cope, F.W.** 1939. Studies in the mechanisms of self incompitabilty in cacao I. 9th Ann. Rpt. Cacao Res. 1938: 20-21 en Liedl B.E y N.O. Anderson. 1993. Plant Breeding Reviews Vol. III. Jules Wanick, John Wileys and sons Inc.
 - **Cope, F.W.** 1940. Studies in the mechanisms of self incompitabilty in cacao II. 9th Ann. Rpt. Cacao Res. 1939: 19-23 en Liedl B.E y N.O. Anderson. 1993. Plant Breeding Reviews Vol. III. Jules Wanick, John Wileys and sons Inc.
 - **Cope, F.W.** 1958. Incompatibility in *Theobroma cacao*. Nature 46:279 en Liedl B.E y N.O. Anderson. 1993 en Plant Breeding Reviews Vol. III. Jules Wanick, John Wileys and sons Inc.
 - **Cope, F.W.** 1962. The mechanism of pollen incompatibility in *Theobroma cacao* L. Heredity 17: 157-195 en Liedl B.E y N.O. Anderson. 1993. Plant Breeding Reviews Vol. III. Jules Wanick, John Wileys and sons Inc.
 - **Darlington C.D. y Wylie, A.P.** 1955. Chromosome Atlas of Flowering Plants. MacMillan, Nueva York, 520 pp.
 - **De Nettancourt, D.** 1997. Incompatibility in Angiosperms. Sex Plant Reprod. 10: 185-199 en De Nettancourt, D. 2001. Incompatibility and Incongruity in wild and cultivated plants. Springer 322pp
 - **De Nettancourt, D.** 2001. Incompatibility and Incongruity in wild and cultivated plants. Springer 322pp
 - **Dobrofsky, S., y V. Grant.** 1980. An investigation into the mechanism for reduced seed yield in *Lotus corniculatus*. Theor. Appl. Genetics 48: 361-373 en Liedl B.E y N.O. Anderson. 1993. Plant Breeding Reviews Vol. III. Jules Wanick, John Wileys and sons Inc.

- **Dobzhansky, T.** 1970. Genetics of the evolutionary process. Columbia University Press. New York.
- **Doughty J., Dixon S., Hiscock S.J., Willis A.C., Parkin I.A.P., Dickinson H.G.** 1998 PCP-A1, a defensin-like *Brassica* pollen coat protein that binds S locus glycoprotein, is the product of gametophytic gene expression. *Plant Cell* 10: 1333-1347 en De Nettancourt, D. 2001. Incompatibility and Incongruity in wild and cultivated plants. Springer 322pp
- **Dumas C. y Gaude T.** 1982. Sécretions et biologie florale. II. Leur role dans l'adhésion et la reconnaissance pollen-estigmate. Données récentes, hypotheses et notion d'immunité végétale. *Bull Soc. Bot. Fr.* 129:89-101 en De Nettancourt, D. 2001. Incompatibility and Incongruity in wild and cultivated plants. Springer 322pp
- **Franklin-Tong V.E., Ride J.P., Franklin.** 1995. Recombinant stigmatic self incompatibility protein elicits a Ca²⁺ transient in pollen of *Papaver rhoeas*. *Plant J* 8: 299-307 en De Nettancourt, D. 2001. Incompatibility and Incongruity in wild and cultivated plants. Springer 322pp
- **Gaiser, L.O.,** 1930. Chromosome numbers in angiosperms II, Martinus Nijhoff, The Hague. 466 p.
- **Gessner F. y L. Hammer.** 1962. ökologische-physiologische Untersuchungen an den Podostemonaceen des Caroni. *Int. Rev. Ges. Hydrobiol.* 47: 497-541
- **Grant, V.** 1971. Plant Speciation. Columbia University Press. 434 pp
- **Grant V.** 1989. Especiacion Vegetal. Editorial Limusa, México D.F. 590 pp. Grubert, M. 1974. Podostemaceen-Studien. Teil 1. Zur Ökologie einiger venezolanischer Podostemaceen. *Beitr. Biol. Pflanzen.* 50: 321-391 en Luna-Ramos R. 2006. Polinización cruzada entre dos especies del género *Marathrum* (Podostemaceae). Tesis de Licenciatura (Biología) Facultad de Ciencias, UNAM. México, D. F. 44 pp

- **Guzmán M.D. 2006.** Correlación morfo-anatómica durante el desarrollo floral de *Marathrum rubrum*, México. Tesis de Licenciatura (Biología), Facultad de Ciencias, UNAM. México, D. F.
- **Haghighi, K.R. y P.D. Ascher. 1988.** Fertile, intermediate hybrids between *Phaseolus vulgaris* y *P. acutifolius* from congruity backcrossing. Sex. Plant. Reprod. 1_51-58 en Liedl B.E y N.O. Anderson. 1993. Plant Breeding Reviews Vol. III. Jules Wanick, John Wileys and sons Inc.
- **Hall B. y Hallgrinson B. 2008.** Strickberger's Evolution. The integration of genes, organisms and populations. 4a. Edición. Jones and Bartlet Publishers. Sudbury Massachusetts.
- **Hermesen J.G.T., Sawicka E. 1979** Incompatibility and incongruity in tuber bearing *Solanum* species. En Hawkes J.G., Lester R.N., Skelding A.D. (eds) The biology and taxonomy of the Solanaceae, series 7. Linnean Society Symposium, London. Academic Press, London, pp 445-454 en De Nettancourt, D. 2001. Incompatibility and Incongruity in wild and cultivated plants. Springer 322pp
- **Heslop-Harrison, J. 1982.** Pollen stigma interaction and cross incompatibility in the grasses. Science 215: 1358-1364 en De Nettancourt, D. 2001. Incompatibility and Incongruity in wild and cultivated plants. Springer 322pp
- **Hogenboom N.G. 1972** Breaking breeding barriers in *Lycopersicon*. 1. The genus *Lycopersicon* its breeding barriers and the importance of breaking these barriers. Euphytica 21:221-227 en De Nettancourt, D. 2001. Incompatibility and Incongruity in wild and cultivated plants. Springer 322pp
- **Hogenboom N.G. 1973** A model for incongruity in intimate partner relationships. Euphytica 22: 219-233 en De Nettancourt, D. 2001. Incompatibility and Incongruity in wild and cultivated plants. Springer 322pp
- **Hogenboom N.G. 1975.** Incompatibility and incongruity: two different mechanisms for the non-functioning of intimate partner relationships. Proc. R. Soc. Lond. B 188:361-375

- **Jäger-Zürn I.** 1997. Embriological and floral studies in *Weddelina squamulosa* tul. (*Podostemaceae, Tristichoideae*) *Aquatic Botany*, 57: 151-182
- **Jäger-Zürn I. y M. Grubert.** 2000. Podostemaceae depend on sticky biofilms with respect to attachment to rocks in waterfalls. *Int. J. Plant Sci.* 161: 599-607
- **Jhonston, S.A., T.P.M. den Nijs, S.J. Peloquin y R.E. Hanneman Jr.** 1980. The significance of genic balance to endosperm development in interspecific crosses. *Theor. Appl. Genet.* 57:5-9 en Liedl B.E y N.O. Anderson. 1993. *Plant Breeding Reviews Vol. III.* Jules Wanick, John Wileys and sons Inc.
- **Judd W., Campbell, C., Kellog E., Stevens P. y Donoghue M.** 2002. *Plant Systematics. A phylogenetic approach.* 2a. Edición Sinauer Associates, Inc. USA.
- **Kearns C.A. y D.W. Inouye.** 1993. *Techniques for pollination biologists.* University press of Colorado. Colorado. 583 pp.
- **Kenrick, J.P., V. Kaul y R.B. Knox.** 1984. Self incompatibility and the site of pollen tube arrest in Asutralean species of *Acacia*. *Plant Cell Incompatibility Newsletter* 17:17-19 en Liedl B.E y N.O. Anderson. 1993. *Plant Breeding Reviews Vol. III.* Jules Wanick, John Wileys and sons Inc.
- **Kita Y. y Kato M.** 2000. Intafamilial Phylogeny of the Aquatic Angiosperm Podostemaceae from the Nucleotide Sequences of the *matK* Gene
- **Knight, R. y H.H. Rogers.** 1953. Sterility in *Theobroma cacao* L. *Nature* 172: 164 en Liedl B.E y N.O. Anderson. 1993. *Plant Breeding Reviews Vol. III.* Jules Wanick, John Wileys and sons Inc.
- **Knight, R. y H.H. Rogers.** 1955. Icompatibility in *Theobroma cacao*. *Heredity* 9:69-77 en Liedl B.E y N.O. Anderson. 1993. *Plant Breeding Reviews Vol. III.* Jules Wanick, John Wileys and sons Inc.

- **Les D.H. y Philbrick, C.T.**, 1993. Studies of hybridization and chromosome number variation in aquatic angiosperms: evolutionary implications. *Aquat. Bot.* 44: 181-228.
- **Les, D. H., C.T. Philbrick y R.A. Novelo.** 1997. The Phylogenetic position of river weeds (Podostemaceae): Insights from rcbL sequence data. *Aquatic Botany* 57: 5-27
- **Levin D.A.** 1971. The origin of reproductive isolating mechanisms in flowering plants. *Taxon* 20: 91-113
- **Levin D.A.** 2001. The recurrent origin of plant races and species. *Syst. Bot.* 26: 197-204
- **Lewis D, Crowe L.K.** 1958. Unilateral incompatibility in flowering plants. *Heredity* 12:233-256
- **en De Nettancourt, D.** 2001. Incompatibility and Incongruity in wild and cultivated plants. Springer 322pp
- **Liedl B.E y N.O. Anderson.** 1993. Plant Breeding Reviews Vol. III. Jules Wanick, John Wileys and sons Inc.
- **Luna-Ramos R.** 2006. Polinización cruzada entre dos especies del género *Marathrum* (Podostemaceae). Tesis de Licenciatura (Biología) Facultad de Ciencias, UNAM. México, D. F. 44 pp
- **Luna-Ramos R.** 2010. Barreras reproductivas entre dos especies del género *Marathrum* (Podostemaceae). Tesis de Posgrado en Ciencias Biológicas Facultad de Ciencias, UNAM. México, D. F. 131 pp.
- **Luther, H.**, 1949. Vorschlag zu einer ökologischen Grundeinteilung der Hydrophyten. *Acta Bot. Fenn.* 44, 1-15
- **McKay, J.W.** 1942. Self sterility in the Chinese chestnut (*Castanea mollissima*). *Proc. Am. Soc. Hort. Sci.* 41: 156-160 en Liedl B.E y N.O. Anderson. 1993. Plant Breeding Reviews Vol. III. Jules Wanick, John Wileys and sons Inc.
- **Magnus W.**, 1913. Die atypische Embryonalentwicklung der Podostemaceen. *Flora* 105: 275-336.

- **Mayr, Ernst.** 1976. Evolution and the Diversity of Life : Selected Essays. Cambridge, Mass: Belknap Press.
- **McGuire D.C., Rick C.M.** 1954. Self incompatibility in *Lycopersicon* sect. *Eriopersicon* and hybrids with *L. esculentum*. Hilgardia: 23:101-124 en De Nettancourt, D. 2001. Incompatibility and Incongruity in wild and cultivated plants. Springer 322pp
- **Mohan Ram, H.Y. y Sehgal, A.,** 1997. Developmental biology (of Podostemaceae) based on tissue culture studies. Aquat. Bot., en Prensa en Rutishauser R. 1997. Structural and development diversity in Podostemaceae (river weeds) *Aquatic Botany* 57: 29-70
- **Muntzing, A.** 1930. Über Chromomenvermehrung in *Galeopsis*- Kreuzungen and ihre phylogenetische Bedeutung. Hereditas 14: 153-172 en Liedl B.E y N.O. Anderson. 1993. Plant Breeding Reviews Vol. III. Jules Wanick, John Wileys and sons Inc.
- **Murguía-Sánchez M.** 2003. Embriología comparada de los géneros de la familia Podostemaceae en México. Tesis de Doctorado (Biología). Facultad de Ciencias. UNAM. México, 125 pp.
- **Murguía-Sánchez, G., A. Novelo, C.T. Philbrick y G.J. Márquez-Guzmán.** 2001. Desarrollo de los verticilos sexuales en *Vanroyenella plumosa* Novelo & Philbrick (Podostemaceae). *Acta Botanica Mexicana*, 57: 37-50.
- **Nishiyama, I. y N. Inomata.** 1966. Embryological studies in cross incompatibility between 2X and 4X in Brassica. Japan. J. Genet. 41: 27-42 en Liedl B.E y N.O. Anderson. 1993. Plant Breeding Reviews Vol. III. Jules Wanick, John Wileys and sons Inc.
- **Nishiyama, I. y N. Inomata.** 1978. Causal relationship between the polar nuclei in double fertilization and interspecific cross incompatibility in *Avena*. Cytologia 43: 452-466 en Liedl B.E y N.O. Anderson. 1993. Plant Breeding Reviews Vol. III. Jules Wanick, John Wileys and sons Inc.

- **Novelo R.A. y C.T. Philbrick.** 1993. A New species of *Marathrum* (Podostemaceae) from Jalisco, Mexico. *Novon* 3: 456-458
- **Novelo R.A. y C.T. Philbrick.** 1993b. *Vanroyenella*: A new genus from Podostemaceae from Jalisco, Mexico. *Syst. Bot.*, 18: 64-67
- **Novelo R. A. y C.T. Philbrick.** 1997. Taxonomy of Mexican Podostemaceae. *Aquatic Botany* 57: 275-303
- **Novelo R. y C. T. Philbrick.** 1997. Taxonomy of Mexican Podostemaceae. *Aquatic Botany*. 48: 145-151
- **Okada H.** 1991. Karyomorphological studies of *Cladopus nymani* H. Moell. and *Indotristicha malayana* Dransf. et Whitmore (Podostemaceae sensu lato) de Malesian Wet Tropics. *J. Jpn. Bot.* 66: 205-210.
- **Okada H. y Kato M.** 2002. Pollination systems inferred from Pollen-Ovule ratios of some species of Podostemaceae. *Acta Phytotax. Geobot.* 53 (1): 51-61
- **Oropeza, N. et al.** 1998. Karyomorphological studies of Mexican species of *Marathrum* (Podostemaceae). *Aquatic Botany*. 62: 207-211
- **Oropeza, N. et al.** 2002. Karyomorphological studies in *Oserya*, *Vanroyenella* and *Tristicha* (Podostemaceae sensu lato). *Aquatic Botany*. 73: 163-171
- **Philbrick C. T. y A. Novelo.** 1993. River weeds: a fascinating family of aquatic flowering plants. *Aquaphyte* 13: 6-7
- **Philbrick C. T. y A. Novelo.** 1994. Seed germination of Mexican Podostemaceae. *Aquat. Bot.* 48: 141-151
- **Philbrick C.T. y A. Novelo.** 1995. New World Podostemaceae: ecological and evolutionary enigmas. *Brittonia* 47: 210-222
- **Philbrick C. T. y A. Novelo.** 1997. Ovule number, seed number and seed size in Mexican and North American species of Podostemaceae. *Aquatic Botany* 57: 183-200

- **Philbrick C. T. y A. Novelo.** 1998. Flowering phenology, pollen flow, and seed production in *Marathrum rubrum* (Podostemaceae). *Aquatic Botany* 62: 199-206
- **Philbrick C. T. y A. Novelo.** 2004. Monograph of *Podostenum* (Podostemaceae). Systematic Botany Monographs. Vol. 70. 106 pp. en Luna-Ramos R. 2006. Polinización cruzada entre dos especies del género *Marathrum* (Podostemaceae). Tesis de Licenciatura (Biología) Facultad de Ciencias, UNAM. México, D. F. 44 pp
- **Quiroz, F.A., A. Novelo y C.T. Philbrick.** 1997. Water chemistry and the distribution of Mexican Podostemaceae: a preliminary evaluation. *Aquatic Botany*. 57: 201-212
- **Rieseberg, L.H., Desrochers, A., Youn, S.J.** 1995. Interspecific pollen competition as a reproductive barrier between sympatric species of *Helianthus* (Asteraceae) *American Journal of botany*
- **Rutishauser R.** 1997. Structural and development diversity in Podostemaceae (river weeds) *Aquatic Botany* 57: 29-70
- **Rutishauser R, A. Novelo y T. Philbrick.** 1999. Developmental Morphology of New World Podostemaceae: *Marathrum* y *Vanroyenella*. *Int. J. Plant Sci.* 160 (1): 29-45.
- **Rutishauser R, E. Pfeifer y P. Moline.** 2003. Developmental Morphology of roots and shoots of *Podostenum Ceratophyllum*. *Rhodora* Vol 105, No. 924
- **Rzedowsky, J.** 1988. Vegetación de México. Editorial Limusa. 4ª reimpresión. México D.F. 432 pp.
- **Sculthorpe, C.D.** 1967. The Biology of Aquatic Vascular Plants. St. Martin's Press, Nueva York. 106 pp. en Luna-Ramos R. 2006. Polinización cruzada entre dos especies del género *Marathrum* (Podostemaceae). Tesis de Licenciatura (Biología) Facultad de Ciencias, UNAM. México, D. F. 44 pp

- **Sears, E.R. 1937.** Cytological phenomena connected with self-sterility in the flowering plants, *Genetics*: 22:130-181 en Liedl B.E y N.O. Anderson. 1993. *Plant Breeding Reviews* Vol. III. Jules Wanick, John Wileys and sons Inc.
- **Spiss, L. 1969.** Laboratory methods of determining compatibility in birdfoot trefoil (*Lotus corniculatus*) *Genet. Polon.* 10:114-116 en Liedl B.E y N.O. Anderson. 1993. *Plant Breeding Reviews* Vol. III. Jules Wanick, John Wileys and sons Inc
- **Sehgal, A., Mohan Ram, H.Y., y Bhatt, J.R., 1993.** *In vitro* germination, growth, morfogenesis and flowering of an aquatic angiosperm, *Polypleurum stylosum* (Podostemaceae). *Aquat. Bot.*, 45: 269-283 en Rutishauser R. 1997. Structural and development diversity in Podostemaceae (river weeds) *Aquatic Botany* 57: 29-70
- **Spichiger, R., Savolainen V., Figeat, M., y D. Jeanmonod. 2002.** Systematic Botany of Flowering Plants. A new Phylogenetic Approach to the Angiosperms of tmeplate and tropical regions. Presses Polytechniques et Universitaires Romandes
- **Stout, A.B. y C. Chandler. 1933.** Pollen behaviour in *Hemerocallis* with special reference to incompatibilities. *Bul. Torrey Bot. Club.* 60:397-416 en Liedl B.E y N.O. Anderson. 1993. *Plant Breeding Reviews* Vol. III. Jules Wanick, John Wileys and sons Inc.
- **Taroda, N., y P.E. Gibbs. 1982.** Floral Biology and breeding system of *Sterculia chicha* St. Hil. (Sterculiaceae). *New Phytol.* 90: 735-743 en Liedl B.E y N.O. Anderson. 1993. *Plant Breeding Reviews* Vol. III. Jules Wanick, John Wileys and sons Inc.
- **Uniyal P.L. y H.Y. Mohan Ram. 1994.** Karyomorphological studies in some members of Podostemaceae. *Aquat.Bot.* 47, 85-90.
- **Uniyal P.L. y H.Y. Mohan Ram. 1996.** *In vitro* germination and development morphology of *Dalzellia zeylanica* (Grdn.) Wight. *Aquat. Bot.* in press en Rutishauser R. 1997. Structural and development diversity in Podostemaceae (river weeds) *Aquatic Botany* 57: 29-70

- **Valentine, D.H.** 1954. Seed Incompatibility. Proc. 8th Int. Bot. Congr. 9:170 en Liedl B.E y N.O. Anderson. 1993. Plant Breeding Reviews Vol. III. Jules Wanick, John Wileys and sons Inc.
- **Van Royen P.** 1951. The Podostemaceae of the new World. Part 1. Meded. Bot. Mus. Herb. Rijks Univ. Utrecht. 107: 1-151
- **Van Royen P.** 1954. The Podostemaceae of the new World. Part 3. Meded. Bot. Mus. Herb. Rijks Univ. Utrecht. 215-263
- **Vargas Eyre J, Smith G.** 1916. Some notes on the Linaceae. J. Genet 5:189-197 en De Nettancourt, D. 2001. Incompatibility and Incongruity in wild and cultivated plants. Springer 322pp
- **Watkins, A.E.** 1932. Hybrid sterility and Incompability. J. Genet. 25:125-162 en Liedl B.E y N.O. Anderson. 1993. Plant Breeding Reviews Vol. III. Jules Wanick, John Wileys and sons Inc.
- **Weeden, N.F. y R.W. Robinson.** 1986. Allozyme segregation ratios in the interspecific cross *Cucurbita máxima* y *C. ecuadorensis* suggest that hybrid breakdown is not caused by minor alterations in the chromosome structure. Genetics: 114:593-609 en Liedl B.E y N.O. Anderson. 1993. Plant Breeding Reviews Vol. III. Jules Wanick, John Wileys and sons Inc.
- **Willis, J.C.** 1902. Studies in the morphology and ecology of the Podostemaceae of Ceylon and India. Ann. Roy. Bot. Gard. Peradeniya 1:268-465, pl. IV-XXXVIII en Okada H. y Kato M. 2002. Pollination systems inferred from Pollen-Ovule ratios of some species of Podostemaceae. Acta Phytotax. Geobot. 53 (1): 51-61
- **Zeisler M.** 1938. Über die Abgrenzung der eigentlichen Narbenfläche mit Hilfe von Reaktionen. *Beiheft Botanisches Zentralblatt* 58: 308-318

