



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA
DE MEXICO

FACULTAD DE CIENCIAS

Morfología del androceo de *Solanum rostratum* (Solanaceae) y
presentación de polen en anteras dimórficas

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

BIÓLOGO

P R E S E N T A:

AXEL ALEJANDRO GONZÁLEZ BECERRIL

TUTORA

DRA. SONIA VÁZQUEZ SANTANA

2011





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

DR. ISIDRO ÁVILA MARTÍNEZ
Director General
Dirección General de Administración Escolar
Presente

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

Morfología del androceo de *Solanum rostratum* (Solanaceae) y presentación de polen en anteras dimórficas

realizado por **González Becerril Axel Alejandro** con número de cuenta **4-0501128-9** 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 Guzmán

Propietario Dra. Martha Juana Martínez Gordillo

Propietario Dra. Sonia Vázquez Santana
Tutora

Suplente Dra. Susana Valencia Avalos

Suplente M. en C. Gregorio Orozco Arroyo

Atentamente,
“POR MI RAZA HABLARÁ EL ESPÍRITU”
Ciudad Universitaria, D. F., a 13 de mayo de 2011
EL JEFE DE LA DIVISIÓN DE ESTUDIOS PROFESIONALES

ACT. MAURICIO AGUILAR GONZÁLEZ

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.

MAG/CZS/cigs

1. Datos del alumno

González

Becerril

Axel Alejandro

56 45 85 70

Universidad Nacional Autónoma de México

Facultad de Ciencias

Biología

40501128-9

2. Datos del tutor

Dra

Sonia

Vázquez Santana

3. Datos del sinodal 1

Dra

Guadalupe Judith

Márquez

Guzmán

4. Datos del sinodal 2

Dra

Martha Juana

Martínez

Gordillo

5. Datos del sinodal 3

Dra

Susana

Valencia Avalos

6. Datos del sinodal 4

M. en C.

Gregorio

Orozco

Arroyo

7. Datos del trabajo escrito

Morfología del androceo de *Solanum rostratum* (Solanaceae) y presentación del polen en anteras dimórficas

60p

2011

"Varias plantas hermafroditas se han convertido en heterostílicas y ahora se presentan bajo dos o tres formas distintas, así que podemos pensar que esto ha tenido lugar a fin de que la fecundación cruzada sea asegurada"

(Darwin C.R., 1877).

AGRADECIMIENTOS

A mis padres, por ser los mejores maestros.

A la Dra. Sonia Vázquez Santana por su paciencia como asesora y por siempre ser amable.

A los integrantes del jurado por su atenta y oportuna revisión de la Tesis.

A mis compañeros y profesores del Taller de "Biología de la reproducción, propagación y fisiología de angiospermas que crecen en ambientes contrastantes".

A todos los miembros del "Laboratorio de desarrollo en plantas" de la Facultad de Ciencias, tanto a los profesores como a los alumnos, que hacen que el laboratorio crezca y funcione, en especial a los profesores; Mague, Ricardo, la Maestra Judith, Karina, Clarita, Guillermina y Mónica. A mis compañeros Elizabeth, Magali, Aldebarán, Saúl, León Felipe, Isabel, Rocío, Diana, Erick, Huitzi, Juan, Paty, Silvia, Poncho, Raúl y Alfredo.

A todos mis amigos que me han acompañado a lo largo de mi formación como Biólogo y como ser humano, en especial a Luis Carlos, Eugenia, Juan, Guillaume, Carlos, Alejandro, Diego Safa, Diego Garrido, Silvia, Rocío, Janikua y Lucía.

A mi profesora de Sistemática, la M. en C. Berenit del Laboratorio de Microscopio Electrónico del Instituto de Biología, UNAM, por la toma de micrografías, sus enseñanzas, paciencia y consejo.

A mis profesores de fotografía científica, la M. en C. Anabel Bieler y al M. en C. Alejandro Martínez del Laboratorio de Microcine por sus enseñanzas y por la toma de fotomicrografías para el presente trabajo .

A la Facultad de Ciencias y a la máxima casa de estudios,

La Universidad Nacional Autónoma de México.

ÍNDICE

Resumen	1
Introducción	3
Antecedentes	5
Objetivos	15
Materiales y métodos	16
Sistema de estudio	16
Origen y distribución	17
Colecta y fijación del material biológico	18
Procesamiento del material	19
Resultados	22
Morfología floral	22
Desarrollo de la antera	36
Discusión	43
Conclusiones	55
Literatura consultada	56

RESUMEN

Algunos verticilos florales en especies que son polinizadas por abejas presentan especializaciones morfológicas, como la enantiostilia, para promover una eficiente presentación y dispersión del polen, a fin de aumentar la progenie por reproducción cruzada. De esta manera se evita la pérdida de polen en una autofecundación o geitonogamia, lo cual puede repercutir en la depresión endogámica.

La enantiostilia es la desviación del estilo hacia la derecha o hacia la izquierda de la flor, de tal manera que cada par floral represente una imagen al espejo de cada una de ellas. Este es el caso de *Solanum rostratum* (Dunal), una especie que presenta dos tipos de anteras y ofrece polen como única recompensa a sus visitantes, pues carece de néctar.

Los objetivos de este estudio fueron describir la morfología del androceo de *S. rostratum*, el desarrollo del polen en ambos tipos de anteras, así como el desarrollo de la pared de la antera y las aperturas de dehiscencia (poros) por los cuales se dispersa el polen.

El análisis se realizó mediante un estudio detallado tanto morfológico como anatómico del androceo, utilizando microscopía electrónica de barrido y microscopía óptica.

Los resultados muestran que hay dos tipos de anteras, de polinización y de recompensa formadas en el androceo de *S. rostratum* que desarrollan granos de polen viables con la misma morfología. La microsporogénesis está ligeramente desfasada entre ambos tipos de anteras, siendo un poco más temprana en la antera de polinización, aunque en el momento de la microgametogénesis el desarrollo es sincrónico entre ambos tipos de anteras. La dehiscencia es porocida y los granos de polen salen por dos tipos de poros: principalmente por poros apicales formados en la parte terminal de cada par de microsporangios (lóbulos) y también por una línea de poros ubicados en las partes laterales de cada antera. Los poros apicales antes de romperse están cubiertos por una pared de antera formada por una epidermis y un endoteco, con paredes celulares ligeramente engrosadas en toda su superficie. Alrededor de los poros laterales existe una

epidermis y un endotecio con varios estratos de células parenquimáticas. Existen cámaras de aire formadas por aerénquima a lo largo de toda la antera, especialmente en la parte adaxial y abaxial, de tal manera que en estas zonas sólo la epidermis uniestratificada forma la pared de las mismas. Varios cristales de oxalato de calcio poligonales se desarrollan en el tejido conectivo, cercano a los microsporangios. Dado que los cristales se mezclan con los granos de polen para ser liberados juntos, posiblemente jueguen un papel importante en la atracción de los polinizadores.

INTRODUCCIÓN

Las angiospermas poseen estrategias reproductivas excepcionalmente versátiles (Barrett, 2003). *Solanum rostratum* (Solanaceae), conocida comúnmente como hierba del sapo, duraznillo y mala mujer, no es la excepción, es una especie que presenta un síndrome de enantiofilia y heteranteria. La enantiofilia es un polimorfismo sexual en el cual los órganos sexuales femeninos (gineceo o pistilo) se encuentran desviados a la izquierda o derecha, resultando en flores como imagen al espejo una de otra (Jesson y Barrett, 2002a). La heteranteria es la producción de dos o más tipos de anteras en la misma flor y puede reducir los costos óptimos derivados del consumo de polen por polinizadores (Vallejo-Marín *et al.*, 2009). En el androceo de las especies heteranteras se producen anteras para la polinización y anteras de recompensa. Bowers (1975) discute y apoya al planteamiento que hizo Todd (1882) donde describe a la enantiofilia (en *S. rostratum* y *Cassia chameacrista*) como un mecanismo que contribuye a la polinización cruzada, donde las anteras dimórficas desempeñan diferentes funciones; el papel principal de las anteras pequeñas es proveer de polen a los visitantes y la función de la antera grande es la de la polinización. Las primeras producen granos de polen que son utilizados para alimentación, son ofrecidos como recompensa a distintos visitantes florales mientras que la segunda produce granos de polen para polinizar a los pistilos y producir semillas.

La enantiofilia siempre se encuentra asociada a la heteranteria, la antera de polinización está desviada en la dirección opuesta del estilo y parece que esto tiene importancia en la transferencia precisa del polen (Gross, 1993; Jesson *et al.*, 2003a). En *S. rostratum*, el estilo y la antera más grande tienen posiciones inversas en flores sucesivas de la inflorescencia (Todd, 1982; Bowers, 1975). La heteranteria puede ayudar a reducir los costos adaptativos derivados del consumo de polen por polinizadores, ya que permite que diferentes grupos de estambres se especialicen en funciones de alimentación y de polinización (Vallejo-Marín *et al.*, 2009).

En muchas especies de angiospermas, el polen se consume por polinizadores a cambio de servicios de polinización. La pérdida de polen es especialmente significativa en flores carentes de néctar, donde el polen representa la única recompensa floral y puede tener consecuencias evolutivas importantes, ya que reduce el polen disponible (Vallejo-Marín *et al.*, 2009).

La mayoría de las angiospermas hermafroditas, polinizadas por animales, tienen los órganos sexuales masculinos y femeninos muy cercanos uno del otro, en la parte central de las flores, para incrementar la precisión de transferencia de polen entre ambos órganos sexuales, ya que de esta manera contactarán partes similares del polinizador (Barrett *et al.*, 2000). Sin embargo, cuando las anteras y los estigmas se encuentran en la misma posición dentro de la flor las funciones de recepción y la remoción de polen pueden interferir una con la otra, llevando a la pérdida de oportunidades de apareamiento (Lloyd y Yates, 1982). La consecuencia más obvia de interferencia reproductiva es la autofecundación, la cual puede ocurrir de manera intrafloral (autogamia) o entre flores de la misma planta (geitonogamia) (Lloyd y Schoen, 1992), sin embargo, ambas pueden resultar en una depresión endogámica o en una reducción en la cantidad de polen debido a la presencia de alelos recesivos y a la disminución de la variación genética (Charlesworth y Charlesworth, 1987; Lloyd y Schoen 1992; Barret *et al.*, 2000).

El presente trabajo tiene como finalidad caracterizar el desarrollo del androceo y la formación de los granos de polen, así como la forma en la cual son entregados esos granos de polen a los visitantes florales de la especie enantiostílica y heterantérica *Solanum rostratum*. La información obtenida será fundamental en la interpretación de la relación polen-visitante.

ANTECEDENTES

Presentación de polen

Es la manera en la cual el polen está disponible para los polinizadores en las anteras (Howell *et al.*, 1993). En el presente estudio llamaremos presentación de polen a la disponibilidad de los granos de polen para los polinizadores a través de estructuras especializadas (en este caso, los poros presentados en las anteras), los cuales no habían sido propiamente descritos para *S. rostratum*.

Asimetría floral- enantiomorfía

Enantio, es un prefijo proveniente del griego que significa opuesto, contrario, colocado enfrente y *morfía* como morfa, proveniente del griego referente a forma (Font Quer, 2001). La enantiomorfía se presenta en algunos taxa cuyas flores poseen dos formas asimétricas que son imágenes de espejo la una de la otra y existen dos posibles variaciones: (a) las dos formas florales se presentan en el mismo individuo y (b) las dos formas florales se presentan en diferentes individuos (Endress, 1999).

Polimorfismos estilares

En la mayoría de las especies, los estilos de todas las flores son de un solo largo (altura) con respecto a la altura de las anteras y se encuentran típicamente en posiciones similares dentro de la flor madura, cuando los estigmas son receptivos. Sin embargo, en algunas plantas polinizadas por animales se presentan variaciones en los morfos florales dentro de las poblaciones, donde el largo de los estilos, o incluso su orientación difiere. Se

propone que estos polimorfismos tienen la función principal de reducir las interferencias reproductivas, es decir, aumentar la separación espacial entre la función masculina y la función femenina (Barrett *et al.*, 2000).

Existen varios tipos de polimorfismos estilares, los cuales hacen diferir la posición particular de los órganos sexuales (androceo y gineceo, particularmente anteras y estigmas receptivos) dentro de la flor y por lo tanto tener diversos morfos florales dentro de las poblaciones (Barret *et al.*, 2000). En algunos casos, no solo se ve afectada o modificada la altura del estilo, sino que también es afectada la curvatura del estilo. En otros casos tanto el gineceo como el androceo son afectados, como ocurre en algunas especies del género *Solanum* (Endress, 1999).

Barret *et al.* (2000) separa a los polimorfismos estilares en cuatro tipos básicos principales: 1) el dimorfismo en la altura del estigma con respecto a la altura de las anteras (también conocida como hercogamia), 2) la distilia, 3) la tristilia (son dos tipos de heterostilia) y 4) la enantiostilia.

1) El dimorfismo en la altura del estigma o hercogamia. Es considerado un polimorfismo estilar en el cual los individuos de la población presentan el estilo (y a su vez el estigma) a una altura menor o mayor que la altura alcanzada por las anteras. Cuando el estilo-estigma se encuentran posicionados a mayor altura que las anteras se conoce como hercogamia de aproximación (Fig. 1A, izquierda), permitiendo al polinizador un contacto inicial con el estigma y posteriormente con las anteras. Cuando el estilo-estigma se posicionan por debajo de la altura de las anteras se conoce como hercogamia revertida (Fig. 1A, derecha), en este caso el primer contacto del

polinizador es con las anteras y después con el estigma. En la mayoría de los trabajos se asume que la hercogamia de este tipo es una condición inestable y que representa un estado transicional en la evolución hacia la distilia, ya que se ha reportado en familias que presentan heterostilia como Boraginaceae, Linaceae y Primulaceae. Sin embargo, este polimorfismo también se ha reportado en familias donde no hay representantes heterostílicos como en Epacridaceae, Ericaceae, Liliaceae, y Haemodoraceae (Barret *et al.*, 2000).

2) y 3) La heterostilia (distilia y tristilia). Se puede interpretar como un fenómeno morfológico, donde existe una posición recíproca de las anteras y estigmas de dos morfos florales dentro de una especie (Endress, 1994). Darwin (1877) interpretó la heterostilia como una adaptación que promueve la polinización cruzada por polinizadores animales. La heterostilia es un síndrome complejo de atributos florales, tales como diferencias en la altura del estilo y de las anteras, los sistemas de incompatibilidad dialélica, que requieren de una estricta polinización para la formación de semillas, y el heteromorfismo en polen y estigmas, entre otros rasgos. Estos diseños florales complejos son conocidos como **distilia**, cuando hay dos morfos florales en la población (Fig. 1B), o **tristilia**, cuando se presentan tres tipos florales en la población (Fig. 1C); ambos proveen una solución evolutiva única por la precisión en la transferencia de polen entre plantas (y a su vez entre morfos florales) y en evitar la interferencia polen-estigma (Lloyd y Schoen, 1992). Los polimorfismos estilares distílicos y tristílicos han sido los más ampliamente estudiados.

4) La enantiofilia. Es un polimorfismo floral (básicamente estilar) en el cual el pistilo se encuentra desviado a la izquierda o derecha, resultando en flores con imagen al espejo. Las flores enantiofilas generalmente exhiben simetría media-lateral y el estilo en una flor se encuentra desviado a la izquierda o derecha del eje floral. La enantiofilia ha surgido múltiples veces en al menos 10 familias de angiospermas, tanto de monocotiledóneas como de dicotiledóneas (Jesson y Barrett, 2002b; Jesson *et al.*, 2003). Se considera a la enantiofilia como un mecanismo que favorece la polinización cruzada y la división de labores (Fenster, 1995; Jesson y Barrett, 2002a, 2002b, 2002c, 2003; Jesson *et al.*, 2003a, 2003b), aunque algunos autores ponen en duda la división de labores en anteras (Wolfe *et al.*, 1991). De acuerdo a Endress (1999) la asimetría de una flor enantiofila madura debe ser establecida en el desarrollo de la flor e incluso debe estar influenciada (especialmente en fases tempranas) por la simetría de toda la inflorescencia.

Los atributos florales asociados a la enantiofilia son un síndrome que consiste en la presencia de flores dimórficas, heteranteria, recolecta de polen por insectos que realizan polinización por zumbido y vibraciones, principalmente abejorros, abejas sin aguijón del género *Melipona* y abejas de la familia Halictidae (Harter *et al.*, 2002), flores sin nectarios, pero que ofrecen el polen como recompensa y flores asimétricas (Barrett *et al.*, 2000). Estas características florales en especies enantiofilas no relacionadas filogenéticamente, sugiere una convergencia funcional, en la cual la posición del polinizador-antera-estigma es importante para la dispersión efectiva del polen y el éxito

reproductivo masculino, ya que el significado funcional está relacionado con la regulación en la cantidad y eficiencia en la remoción, transferencia y entrega de los granos de polen (Barrett *et al.*, 2000; Jesson y Barrett, 2003). Esto hace evidente la influencia de los polinizadores en la evolución de los sistemas sexuales tal como sugirieron Bawa y Beach (1981).

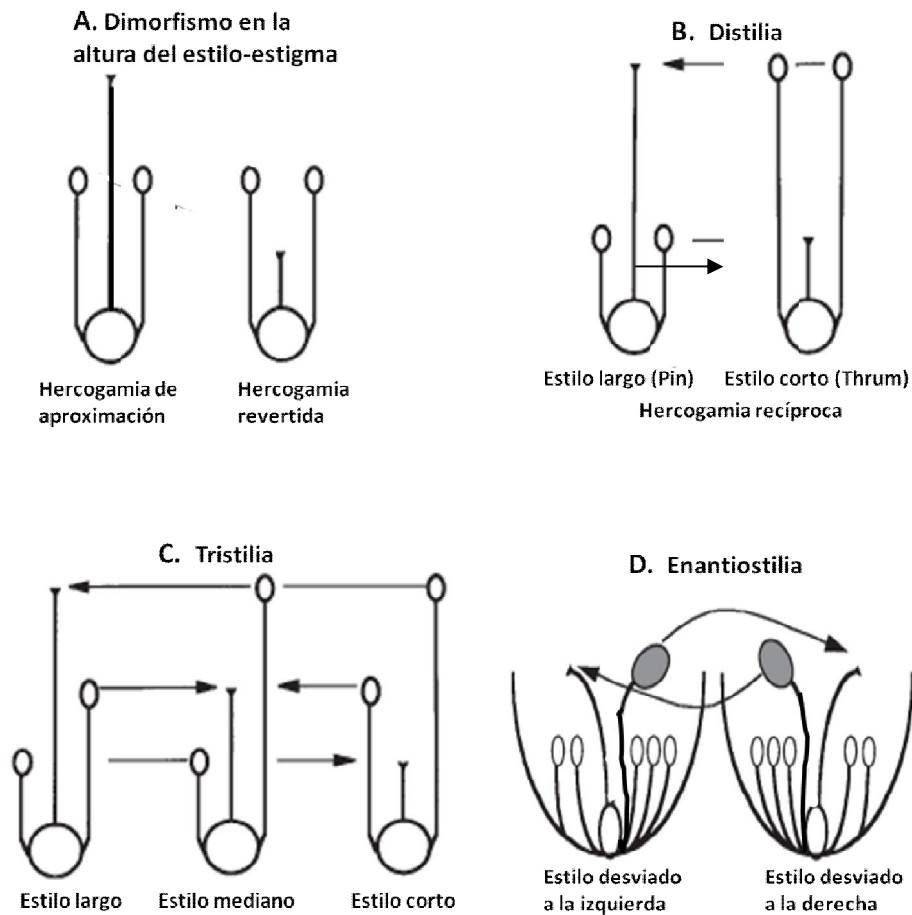


Fig. 1. Esquemas que muestran algunos ejemplos de polimorfismo estilar. **A. Hercogamia** como un dimorfismo en la altura del estigma con respecto a la altura de las anteras (hercogamia de aproximación y hercogamia revertida). **B. Heterostilia tipo distilia** donde hay dos tipos de individuos en la población, aquellos que producen flores de estilos largos y aquellos individuos con flores de estilos cortos. **C. Heterostilia tipo tristilia**, donde hay tres tipos de individuos en la población, con estilos largos, cortos y medianos y dos grupos de anteras a diferentes alturas en cada morfo floral. **D. Enantiostilia** como un dimorfismo estilar, un morfo floral con el estilo desviado a la izquierda y el otro morfo floral con el estilo desviado a la derecha del eje floral. Modificado de Barret *et al.* (2000).

Se reconocen dos tipos de enantiofilia de acuerdo a la disposición de los dos morfos florales (aquellos con el estilo desviado a la derecha o a la izquierda) en los individuos de una población. La **enantiofilia monomórfica**, en la cual existe un tipo de individuos en la población, es decir que tanto flores con estilo desviado a la derecha, como flores con estilo desviado a la izquierda coexisten en la misma planta (Fig. 2A). La **enantiofilia dimórfica** es un polimorfismo genético verdadero que determina la presencia de dos morfos en las poblaciones, representando dos tipos de individuos, aquellos con flores con estilo desviado hacia la izquierda y los que tienen flores con estilo desviado a la derecha (Barrett *et al.*, 2000; Jesson y Barrett, 2002b; Jesson *et al.*, 2003a, 2003b) tal como ocurre en *S.rostratum*.

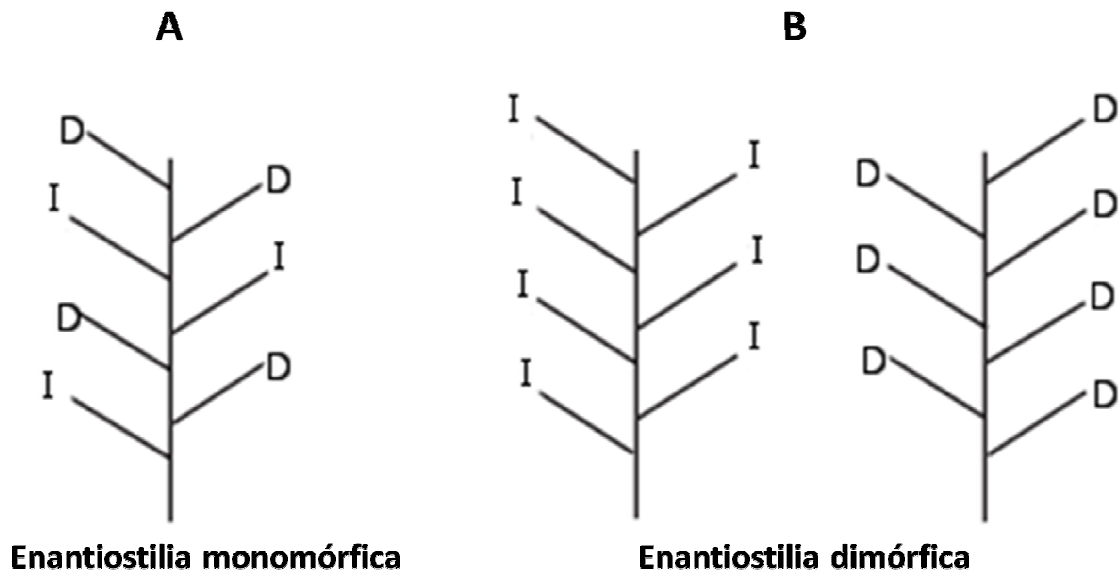


Fig. 2. Tipos de enantiofilia. **A.** Representación de una especie con **enantiofilia monomórfica**, donde todos los individuos son iguales y presentan flores con estilo desviado a la izquierda (I) y a la derecha (D). **B.** Representación de especies con **enantiofilia dimórfica**. Hay individuos con sólo flores de estilos desviados a la izquierda e individuos con sólo flores de estilos desviados hacia la derecha (Modificada de Barret *et al.*, 2000).

La distribución sistemática y la abundancia de los dos tipos de enantiofilia son muy diferentes. La enantiofilia monomórfica se encuentra ampliamente representada en al menos 25 géneros de 10 familias de angiospermas, se encuentra en Leguminosae, Solanaceae y Gesneriaceae de dicotiledóneas y en Commelinaceae, Haemodoraceae, Philydraceae, Pontederiaceae y Tecophilaeaceae de monocotiledóneas. En cambio la enantiofilia dimórfica sólo se ha reportado en tres familias de monocotiledóneas, Haemodoraceae, Pontederiaceae y Tecophilaeaceae (Barrett *et al.*, 2000). Esta representación, junto con las evidencias filogenéticas apoyan la hipótesis de que la enantiofilia dimórfica derivó de la enantiofilia monomórfica. Pero sólo se han reportado evidencias de algunas transiciones evolutivas en monocotiledóneas (Barrett *et al.*, 2000; Jesson y Barrett, 2002a; 2003b).

La heteranteria. Es la producción de dos o más tipos de estambres en la misma flor que difieren en posición, forma, tamaño y color (Zang y Renner, 2008; Vallejo-Marín *et al.*, 2009). Esta característica intrigó a Charles Darwin por más de 20 años y fue objeto de una de sus últimas investigaciones (Darwin, 1877; 1881; 1882). Sin embargo él no dio una explicación a la heteranteria y aunque sospechaba que los dos tipos de anteras diferían funcionalmente, no pudo determinar en qué consistían. Fue hasta que los naturalistas Todd (1882) observando a *S. rostratum* y *Cassia chameacrista* y Müller (1881 en Vallejo-Marín *et al.*, 2009) con la observación de múltiples especies heteranteras, sugirieron que la heteranteria representa la especialización de anteras para “alimentación” y anteras “polinizadoras”, donde las primeras recompensan a polinizadores y las últimas están directamente involucradas en la polinización y en la formación directa de las semillas (Todd, 1982; Darwin, 1882; Vallejo-Marín *et al.*, 2009).

Generalmente, en las especies heteranteras, un grupo de estambres son pequeños, de colores brillantes y de fácil acceso, mientras que el otro grupo tiene anteras más grandes, con colores oscuros y se encuentran normalmente desplazadas a la posición correspondiente al estigma (Jesson y Barrett 2002a, 2003; Vallejo-Marín *et al.*, 2009).

La heteranteria ha evolucionado en más de 20 familias y está asociada con flores polinizadas por abejas, que no ofrecen néctar como recompensa (Endress, 1994; Jesson y Barrett, 2003; Vallejo-Marín *et al.*, 2009). Se calcula que cerca de 20 000 especies de plantas con flor ofrecen polen como recompensa para sus polinizadores, especialmente abejas, las cuales dependen del polen para alimentar a sus larvas (Harter *et al.*, 2002; Zang y Renner, 2008). Esto crea un dilema debido a que el polen contiene los gametos masculinos y puede tener consecuencias evolutivas importantes si el polen utilizado como comida disminuye el número total de gametos disponibles para la fecundación (Vallejo-Marín *et al.*, 2009).

Zhang y Renner (2008) probaron la hipótesis de división de labores en *Melastoma malabathricum*, un arbusto con estambres dimórficos, donde el polen es la única recompensa para los polinizadores, para realizar este experimento colectaron botones florales, cuantificaron polen y compararon la viabilidad del polen de los dos tipos de anteras. En esta especie las anteras de alimentación son amarillas y con aroma, mientras que las anteras polinizantes son de color morado y poco atractivas para las abejas, estas características de color de anteras son similares a las de *S.rostratum*.

Estrictamente, la morfología floral de las especies enantiostilicas es responsable de promover el apareamiento entre morfos mediante la reciprocidad encontrada en la posición desviada del estilo (en sí del estigma) y de la antera polinizadora, ya que la remoción y deposición del polen en sitios específicos del cuerpo del polinizador asegura una efectiva entrega de polen (Fenster, 1995; Jesson y Barret, 2003).

La **dehiscencia poricida** es otro carácter asociado a especies de angiospermas que liberan polen a través de aperturas de las anteras (poros) en respuesta a las vibraciones de las abejas polinizantes ("polinización por zumbido"); sin embargo, no todas las especies de abejas son capaces de hacer esto, solo los abejorros, abejas sin aguijón del género *Melipona* y abejas de la familia Halictidae (Harter *et al.*, 2002).

En el presente trabajo se aborda el estudio de *Solanum rostratum*, una especie enantiostilica monomórfica, la cual produce polen como única recompensa para los

polinizadores (Jesson y Barrett, 2002). De esta especie se conoce que produce dos tipos de estambres con polen fértil y que al ser utilizado en polinizaciones manuales se forman semillas tanto por fecundación cruzada como por autopolinización (Bowers, 1975). Sin embargo existen controversias si los dos tipos de anteras presentes en *S. rostratum* representan una división de trabajo efectiva o no hay diferencias en cuanto a la procedencia del polen.

A pesar de que la mayoría de las ~1500 especies de *Solanum* producen anteras de un sólo tipo, dentro del subgénero *Leptostemonum* que incluye especies con espinas, la heteranteria ha evolucionado independientemente al menos tres veces (Levin *et al.*, 2006), pero poco se sabe sobre la verdadera dehiscencia de las anteras, ya que llama la atención que siempre se habla de dehiscencia apical poricida y no se menciona nada de las aperturas poricidas laterales. Bowers (1975) encontró que el número de granos de polen sobre los estigmas era mayor cuando el polen proviene de la antera grande (antera de polinización) que en estigmas polinizados con polen de anteras pequeñas (anteras para alimentación), apoyando la hipótesis de que hay división de trabajo, al menos parcialmente.

Posteriormente, Wolfe *et al.* (1991, 1992) trabajaron con *Cassia (Chamaecrista)* y *S. rostratum*, marcando los dos tipos de anteras, y contrario a los resultados de Bowers (1975), ellos no encontraron diferencias en el número de partículas de polen depositadas por los dos tipos de anteras, por lo que concluyeron que sus datos refutaban la hipótesis de división de labores en especies heterantéricas.

Jesson *et al.* (2003b) investigaron sobre la relación que guarda la posición de las flores izquierdas o derechas y la arquitectura de la inflorescencia de cuatro especies enantiostílicas monomórficas y el desarrollo de la enantiostilia en nueve especies enantiostílicas monomórficas y dimórficas de cinco linajes no relacionados. Encontraron que en todas las especies estudiadas la enantiostilia se desarrolla en etapas avanzadas del desarrollo floral.

Vallejo-Marín *et al.* (2009) trabajando con *S. rostratum* encontraron que la deposición del polen en varias partes del cuerpo de la abeja y la capacidad de depositarlo en el estigma correcto de otras flores es un mecanismo para apoyar la propuesta original de Todd (1882) donde la heteranteria involucra una división de trabajo en las anteras de polinización y de alimentación.

Bowers (1975) reportó que la enantiofilia está presente en todas las especies de *Solanum* subgénero *Androcera*, que incluye a *S. rostratum* y *S. citrullifolium*.

Solanum rostratum es una especie enantiofilica monomórfica y heterantérica, cuyas características de la presentación del polen por las anteras no ha sido descrita. Es por esto que se considera interesante realizar un estudio detallado de la etapa madura de los dos tipos de anteras presentes en esta especie, haciendo referencia a aquellas estructuras y tejidos relacionados con la dehiscencia de las anteras y las zonas de reforzamiento de las mismas.

OBJETIVOS

Objetivo general

Estudiar el desarrollo del androceo de *Solanum rostratum* Dunal, haciendo énfasis en la presentación del polen por los dos tipos de anteras.

Objetivos particulares

1. Describir la morfología de los estambres de *S. rostratum*.
2. Comparar la morfología y anatomía de los dos tipos de anteras de *S. rostratum*.
3. Describir los granos de polen en los dos tipos de anteras.

MATERIALES Y METODOS

Sistema de estudio

Solanum rostratum fue colectada en Ciudad Universitaria, en los alrededores de la Facultad de Ciencias durante el periodo de floración de 2009, el cual abarcó de marzo a octubre aproximadamente. La clasificación taxonómica de *S. rostratum* se ubica dentro de Magnoliopsida (dicotiledóneas), subclase Asteridae, orden Solanales, familia Solanaceae, género *Solanum*, especie *Solanum rostratum* (SIIT, CONABIO 2011). En las inflorescencias de *S. rostratum*, la posición de cada par de meristemas florales laterales alterna entre las axilas del lado izquierdo y derecho. La flor que se origina del meristemo lateral de la axila izquierda presenta su estilo a la derecha, mientras que la flor que se origina del meristemo de la axila derecha tienen un estilo orientado a la izquierda. El patrón de acomodo de flores izquierdas y derechas es predecible, así como la dirección del estilo está siempre dirigida hacia el tallo o eje principal (Jesson *et al.*, 2003b).

Bowers (1975) reportó que *S. rostratum* es una planta anual de verano que se vuelve muy abundante de junio a octubre. Su antesis ocurre 30 minutos después del amanecer y permanecen abiertas hasta las 18:30-19:30 h CDT (hora del centro), sin embargo reporta que en días muy calientes cierran después del medio día. Las flores individuales permanecen abiertas un día, pero ocasionalmente abren 2 ó 3 días consecutivamente. También menciona que las flores surgen en racimos simples sin brácteas y que cada flor abierta se encuentra en posición terminal. La flor es enantiofilica; el cáliz tiene sépalos fusionados; la corola es color amarillo limón de 25 mm de diámetro, con cinco pétalos fusionados; el estilo se encuentra opuesto a la posición de la antera más grande y se forma un ángulo entre el estilo y la antera de aproximadamente 70° (Bowers, 1975; Jesson *et al.*, 2003b). Cuatro de los estambres (con las anteras de recompensa) son del mismo tamaño, tienen en promedio de 7 a 8 mm de largo y 1 mm de diámetro en el punto más ancho de la base. La antera de polinización tiene una longitud de 14 mm y 2 mm de diámetro en el punto más ancho de la base, esta antera también es

amarilla, pero normalmente es color verde oscuro o púrpura en la punta encorvada (Bowers, 1975) y se encuentra en el lado abaxial de la flor (Jesson *et al.*, 2003b). El polen se encuentra disponible por dos poros apicales en cada antera, las flores no tienen néctar, pero el polen tiene una fragancia distintiva que desaparece después de 6 horas de la apertura foral (Bowers, 1975).

Jesson y Barrett (2005) modificaron flores en arreglos de manera que crearon artificialmente poblaciones enantioestéricas monomórficas, dimórficas, no enantioestéricas, solo con estilos izquierdos y solo con estilos derechos, encontraron que la deposición de polen en los lados del cuerpo de los polinizadores apoya la idea de que el polen de una forma floral es depositado en el estigma de la forma floral opuesta, pero esto sólo funciona para las anteras de polinización. En sus experimentos también identificaron geitonogamia donde sólo había una orientación estilar, lo que los llevó a deducir que el polen de las anteras de alimentación puede contribuir significativamente a la geitonogamia. De manera similar Vallejo-Marín *et al* (2009) observaron que las anteras de polinización y las de alimentación contactan áreas diferentes del cuerpo del polinizador, ya que la colocación diferencial del polen debe de representar un mecanismo potencial para reforzar la división de labores. En *S. rostratum* la autopolinización se encuentra virtualmente excluida, debido a la separación espacial del androceo y el estigma del gineceo. La morfología floral enantioestérica y que el grado relativo de geitonogamia y de xenogamia es dependiente del patrón de vuelo de las abejas y del número de flores abiertas por planta (Bowers, 1975).

Origen y distribución

Probablemente originaria de México. Actualmente se distribuye de Norte a Centroamérica. En México se conoce en: Aguascalientes, Chiapas, Chihuahua, Coahuila, Distrito Federal, Durango, Guanajuato, Guerrero, Hidalgo, Jalisco, Estado de México, Michoacán, Morelos, Nayarit, Nuevo León, Oaxaca, Puebla, Querétaro, San Luís Potosí,

Sinaloa, Sonora, Tamaulipas, Tlaxcala, Veracruz y Zacatecas. Distribución secundaria: ampliamente naturalizada en otras partes del mundo (CONABIO, 2011).

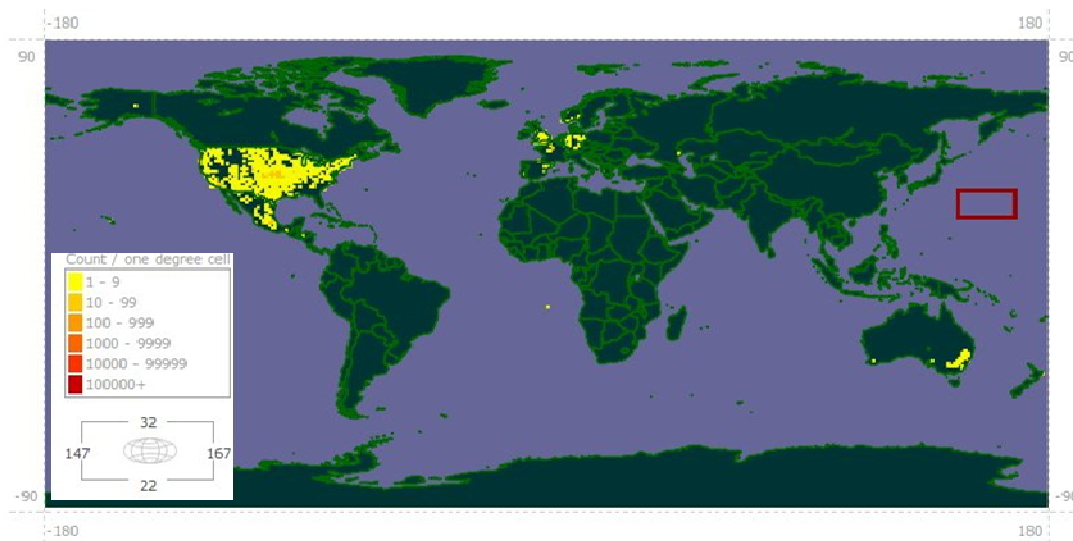


Fig. 3. Mapa de distribución de *Solanum rostratum* basada en 1,956 registros que mencionan las coordenadas geográficas. Calculado en GBIF network, Open Geospatial Consortium services (Global Biodiversity Information Facility GBIF, 2011).

Colecta y fijación del material biológico

Se colectaron botones florales en distintas etapas de desarrollo y flores en antesis de *S. rostratum*, las cuales se fijaron en FAA. Las flores fueron de diversos individuos (al menos 20) escogidos aleatoriamente y cuidando que se incluyeran todas las etapas de desarrollo. Después de una semana de fijación en FAA, las flores se lavaron con agua y se pasaron por etanol al 50% y se almacenaron en etanol al 70% hasta su procesamiento.

Los botones florales se separaron en pares (para incluir los dos morfos florales que alternan, el que desvía su estilo hacia la izquierda y el que lo hace hacia la derecha). La separación para las diversas etapas de desarrollo fue de acuerdo a la longitud del botón floral, siendo la última, las flores en antesis (Tabla 1).

Tabla 1. Etapas de desarrollo de flores de *Solanun rostratum* establecidas en este estudio.

Etapas	Longitud del botón floral (mm)
1	0.2 – 1.5 mm
2	1.6 – 3.0 mm
3	3.1 – 5.0 mm
4	5.1 – 7.0 mm
5	7.1 – 11.0 mm
6	Antesis

Procesamiento del material para el microscopio óptico

Deshidratación e inclusión en LR-White. Para deshidratar los botones florales y flores en antesis se separaron parcialmente los sépalos y los pétalos. Los botones ya contenidos en etanol al 70% se deshidrataron en etanoles graduales (70%, 85%, 96%, 100% y 100%), aproximadamente una hora en cada uno.

Los dos tipos de anteras (polinizantes y de recompensa) fueron disectadas de botones florales un poco antes de la antesis y en flores en antesis y se incluyeron en LR-White mediante las técnicas generales de procesamiento (López *et al.*, 2005). Después de la deshidratación, los tejidos se colocaron en una mezcla de esta resina plástica y etanol absoluto en proporción 1:1 durante 2 h. Posteriormente se impregnaron en LR-White puro durante 12 horas, para polimerizar en cápsulas de gelatina con LR-White puro en una estufa a 56 °C. Se realizaron cortes transversales de 1-2 μm de grosor en un ultramicrotomo JMC-MT 990 con cuchillas de vidrio. Los cortes se tiñeron con azul de toluidina al 1%.

Procesamiento de flores para el microscopio electrónico de barrido

Se disectaron botones florales en todas las etapas de desarrollo y flores en anthesis previamente fijados y almacenados en alcohol 70%. Después se deshidrataron en etanoles graduales, se desecaron y se llevaron a punto crítico con CO₂. Este material se montó en portamuestras metálicos sobre cinta conductora de carbón y se cubrieron con oro en una ionizadora, para posteriormente ser observados en el microscopio electrónico de barrido Hitachi S-2460N. Del material observado se tomaron fotografías, las cuales fueron digitalizadas y coloreadas con el software libre GIMP 2.6 (GNU Image Manipulation Program 2.6) para resaltar las estructuras. Las técnicas utilizadas se sintetizan en el diagrama de flujo de la figura 4.

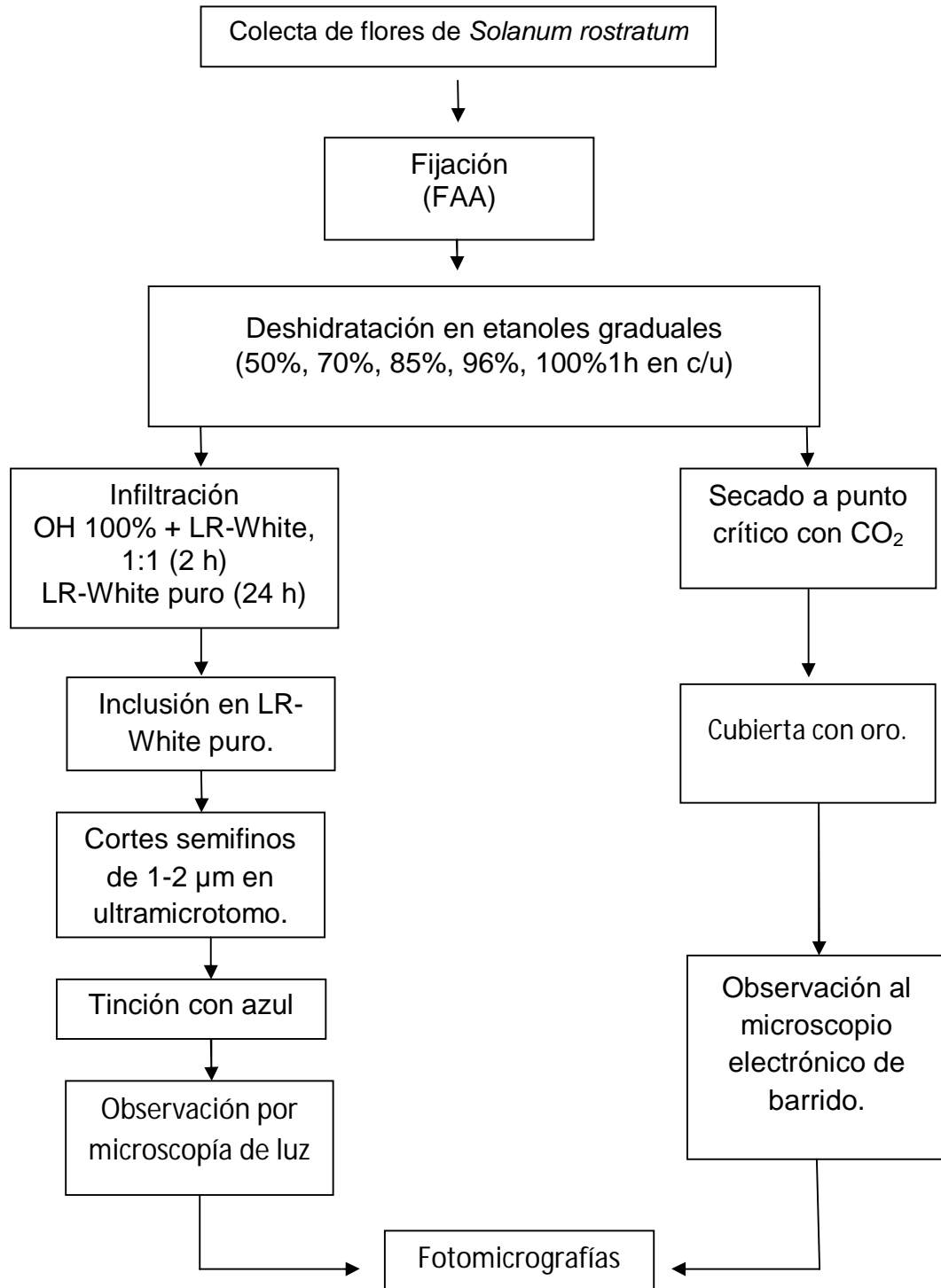


Fig. 4. Diagrama de flujo que resume la metodología utilizada en la presente investigación.

RESULTADOS

MORFOLOGÍA FLORAL

Las flores de la población estudiada de *Solanum rostratum* del Pedregal de San Ángel, son de color amarillo, tienen antesis diurna y se observó la visita de abejas y abejorros (Fig. 5A). Como especie enantioestilica, tiene flores como imagen al espejo en cada nudo (Fig. 5B). De cada par presente por nudo, al llegar la antesis (apertura de la flor), una de las flores tiene el estilo desviado a la izquierda y la otra lo tiene hacia la derecha, como ocurre en otras especies enantioestilicas monomórficas (las dos flores presentes en el mismo individuo).

Como especie heterantérica, *S. rostratum* produce dos tipos de estambres en la misma flor, ambos son productores de polen. Cada estambre se compone de un filamento corto y engrosado, que sostiene a una antera relativamente larga y más ancha en la base que en el ápice (Fig. 5C). Las anteras que se forman en cada flor son cinco. Cuatro de ellas son de color amarillo, son pequeñas y se reconocen como formadoras de granos de polen para alimentar y recompensar a los insectos que visitan las flores (estambres de recompensa). La quinta antera, es de color amarillo con café y con matices morados, es de mayor tamaño, incluso más larga que el estilo y debido a su tamaño mayor es desplazada en sentido opuesto al del estilo. Las cuatro anteras pequeñas de recompensa, según la literatura sirven principalmente como alimento para los visitantes florales, mientras que la antera grande o de polinización, produce polen que es transportado para polinizar estigmas de otras flores (Fig. 5C).

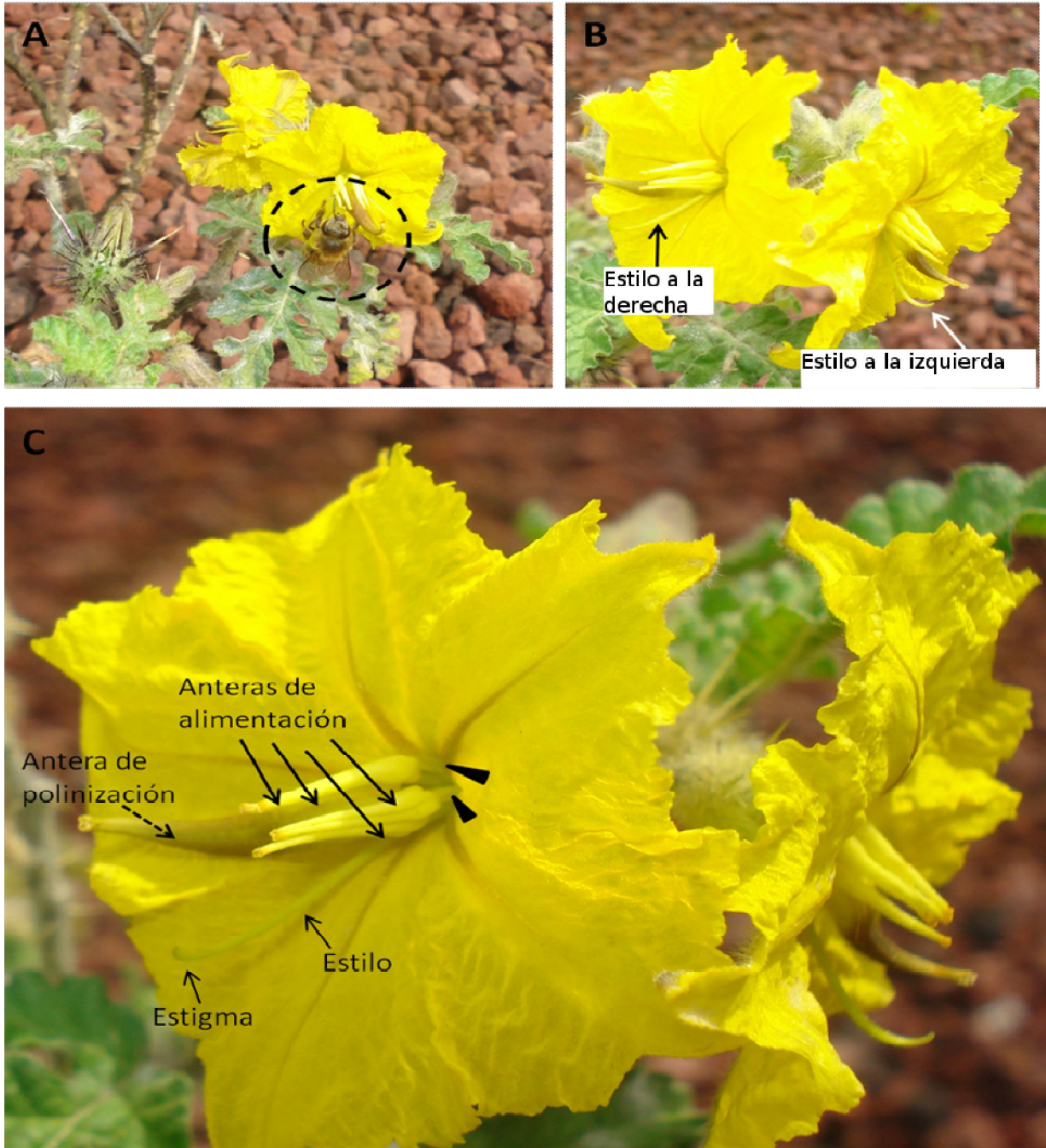


Fig. 5. Flores de *Solanum rostratum*. **A.** Abejorro visitando durante el día a las flores abiertas. **B.** Flor con estilo desviado a la izquierda y flor con estilo desviado a la derecha. **C.** Acercamiento a una flor donde se señalan con cabezas de flecha a los filamentos. También se señalan los tipos de anteras, estilo y estigma.

ANDROCEO EN ETAPA 1 (Botones florales de entre 0.2 y 1.5 mm de longitud)

Las flores (desde etapas tempranas) de *S. rostratum* se encuentran protegidas por cinco sépalos verdes, los cuales tienen dos tipos de tricomas, tricomas de apariencia glandular y tricomas multiseriados y ramificados (Fig. 6A).

Los órganos sexuales se encuentran en etapas tempranas de desarrollo cubiertos por sépalos que presentan dos tipos de tricomas, glandulares (coloreados en rojo) y no glandulares pero multiseriados y ramificados (coloreados en amarillo).

Las cuatro anteras de recompensa son de menor tamaño y diámetro que la antera de polinización. Todas las anteras son bilobuladas, el ápice de cada lóbulo es redondeado y un poco curvo (Fig. 6B). En esta etapa de desarrollo el pistilo es corto, apenas se ha formado el ovario y el estilo, el estigma es poco diferenciado (no mostrado).

ANDROCEO EN ETAPA 2 (Botones florales de entre 1.6 y 3.0 mm de longitud)

El pistilo en esta etapa temprana presenta una longitud menor a la de las anteras. En la parte lateral de todas las anteras, a la mitad de cada lóbulo se puede observar una depresión en forma de canal a todo lo largo de la antera, desde la base hasta el ápice, en dicho canal se observan a su vez numerosas depresiones (Fig. 6C).

En vista frontal del botón floral, con el perianto removido, cada antera parece bifurcarse en el ápice, mostrando dos pequeñas protuberancias, que corresponden a cada uno de los microsporangios, separados entre sí por una pequeña depresión (Fig. 6D).

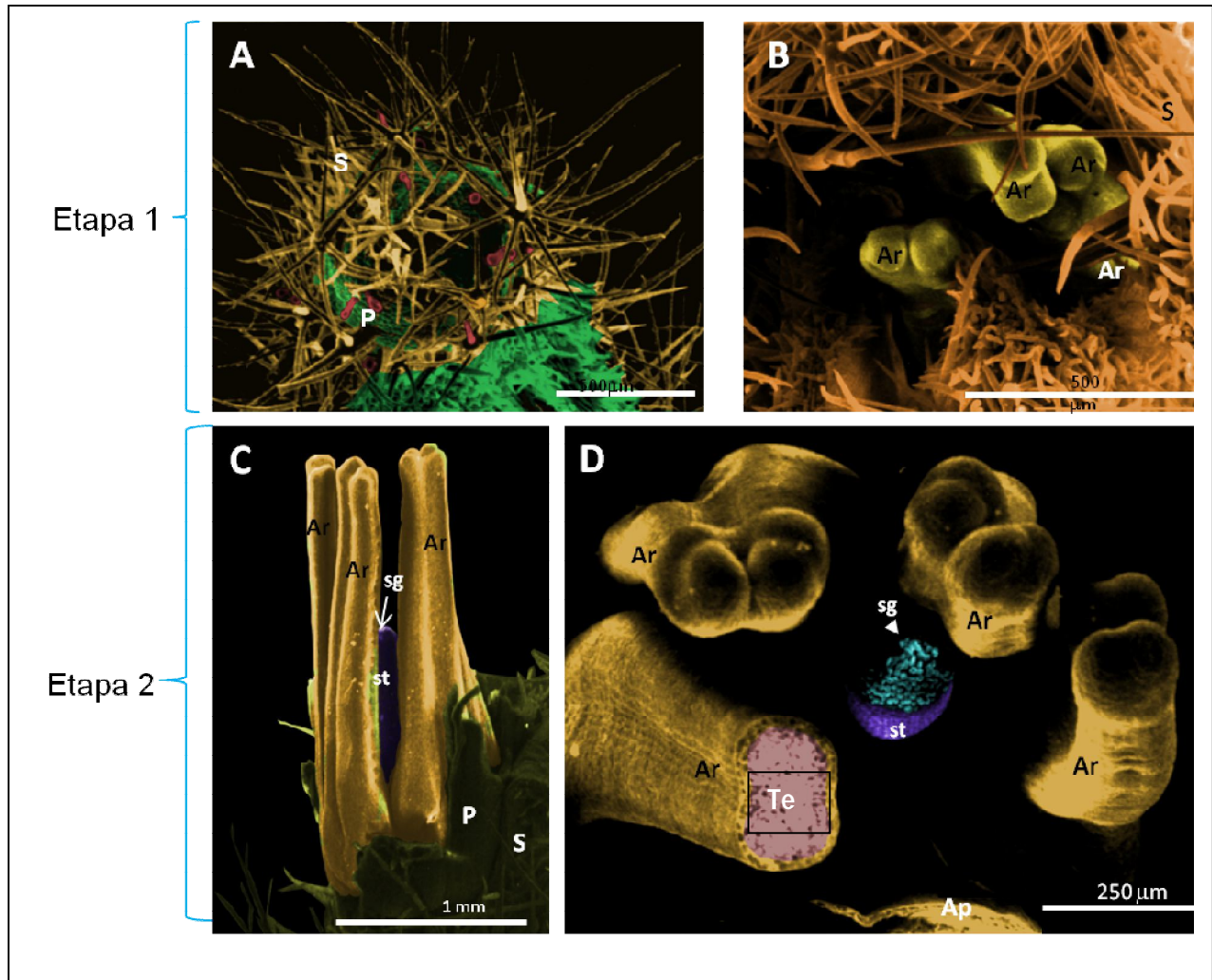
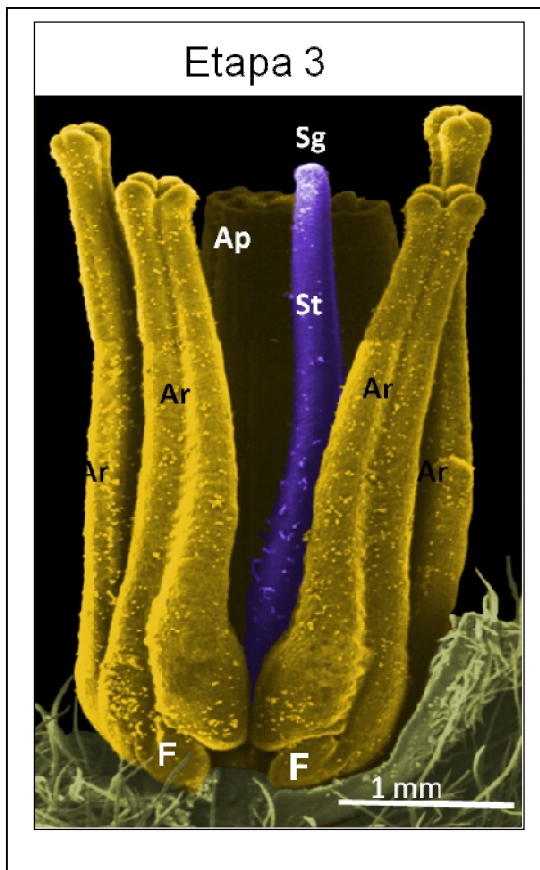


Fig. 6. Fotografías al MEB (coloreadas) de botones florales de *S. rostratum*. **A.** Cáliz formado por cinco sépalos con tricomas glandulares (rojos) y tricomas multiseriados ramificados (amarillos), lo verde representa a los pétalos de la corola. **B.** Vista frontal de botón floral con anteras jóvenes de recompensa y cáliz con tricomas ramificados. **C.** Vista lateral de las cuatro anteras de recompensa (amarillas) bilobuladas con los ápices en diferenciación. Pistilo (morado) en el cual se distingue el estigma en desarrollo. **D.** Androceo visto apicalmente, con las cuatro anteras de recompensa y la antera de polinización rodeando al gineceo, del cual se distingue el estilo y el estigma. La antera inferior izquierda cortada transversalmente mostrando la pared de antera joven y el tejido esporógeno. **Ap**, antera de polinización; **Ar**, antera de recompensa; **P**, pétalos; **S**, sépalos; **Sg**, estigma; **st**, estilo; **Te**, tejido esporógeno.

ANDROCEO EN ETAPA 3 (Botones florales de entre 3.1 – 5.0 mm de longitud)

Esta etapa el botón floral se caracteriza porque las anteras de recompensa y el pistilo adquieren longitudes similares. El estilo forma múltiples tricomas de tipo glandular y se distinguen las papilas estigmáticas. La antera de polinización tiene desde la parte basal hasta la parte media, el doble del diámetro que el de las anteras de recompensa. Todas las anteras son basifijas y el filamento es muy corto, las de recompensa tienen sólo la décima parte de la longitud de la antera de polinización. El estilo también se ha alargado, pero sin rebasar la longitud de las anteras de recompensa. El pistilo tiene tricomas glandulares desde la base hasta un poco más arriba de la parte media desde éste (Fig. 7).



Etapa 4 (Botones florales de entre 5.1 – 7.0 mm de longitud)

Los filamentos de los estambres casi no se alargan, pero sí las anteras y en mayor proporción la antera de polinización. Ambos tipos de anteras tienen un mayor diámetro en la base, con respecto a su ápice y se curvan ligeramente hacia el eje de la inflorescencia. Las depresiones laterales se hacen más evidentes, correspondiendo a poros redondeados que forman una hilera a lo largo de cada lóbulo de la antera, entre los dos microsporangios de cada lóbulo. El diámetro de cada poro, así como la distancia entre cada uno de ellos no es uniforme (Fig. 8A). En esta etapa el estilo, aunque ya presenta una ligera curvatura sigue estando en el centro de la flor (Fig. 8B).

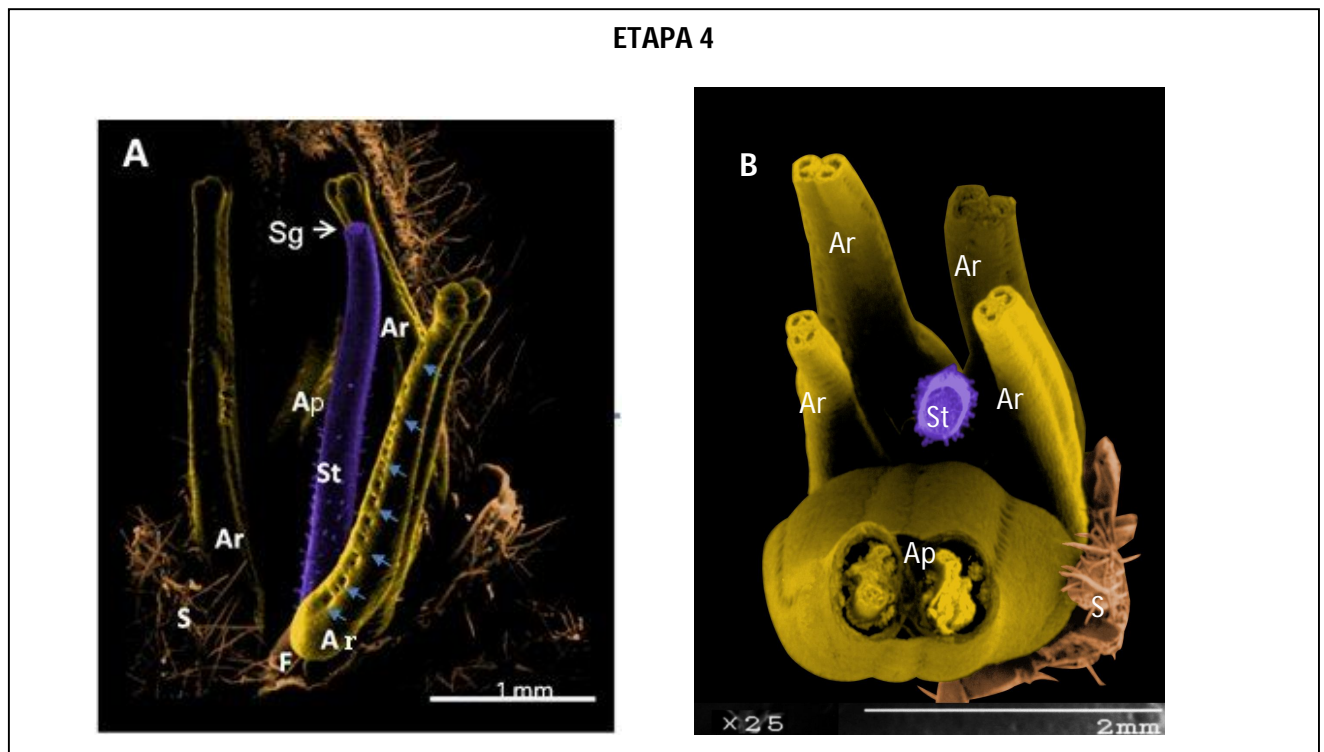


Fig. 8. A. Botón floral mostrando el cáliz (removido parcialmente) formado por los sépalos con tricomas. Se distinguen también tricomas glandulares en el estilo. Tanto el gineceo como las anteras de recompensa tienen longitudes similares. Las flechas señalan las depresiones laterales **B.** Vista apical de un botón floral cortado transversalmente. Aún no se distingue que el estilo esté esplazado hacia la izquierda o derecha. **Ap**, antera de polinización; **Ar**, anteras de recompensa; **F**, filamento; **S**, sépalos; **St**, estilo.

ETAPA 5 (Botones florales de entre 7.1 – 11.0 mm de longitud)

Esta etapa es previa a la antesis. El androceo está formado por cuatro anteras pequeñas, de recompensa, ubicadas en la parte adaxial de la flor. La quinta antera (la de polinización) está ubicada hacia la zona abaxial y es más grande que dos veces las anteras de recompensa. El diámetro de la antera de polinización es visiblemente mayor en su base que en el ápice, incluso tiene mayor diámetro que el pistilo completo. En el centro floral se aprecia el gineceo o pistilo; el cual está formado por un ovario poco ensanchado, un estilo casi completamente recto, excepto cerca del estigma, donde se curva ligeramente.

Cabe recalcar que hasta esta etapa permanece en el centro del botón floral y aún no existe desviación ni hacia la izquierda ni hacia la derecha del eje principal de la flor (Fig. 9A). El estigma es capitado y con papilas estigmáticas unicelulares relativamente cortas (Fig. 9B). El estilo es sólido; en corte transversal muestra una epidermis con tricomas glandulares que posiblemente pudieran funcionar como osmóforos para atraer polinizadores. Hay un tejido parenquimático cortical con dos haces vasculares, cada uno corresponde a cada carpelo que forma el gineceo. En el centro del estilo se encuentra el tejido de transmisión por donde crecerán los tubos polínicos (Fig. 9C).

Todas las anteras son bilobuladas y tetrasporangiadas. Cada par de microsporangios de cada lóbulo está separado por una línea de poros laterales, que corresponden a las aberturas de dehiscencia, nombradas como aberturas secundarias o poros laterales en este trabajo (Fig. 9A). Las anteras en su parte basal son de mayor diámetro que en la parte apical.

En esta etapa, las anteras de recompensa tienen ya microsporas libres. La pared de las anteras muestra epidermis, endotecio, capas medias y tapete. Los microsporangios de cada lóbulo muestran un septo divisorio (Fig. 9D), el cual en la antera de polinización muestra ya inicio de ruptura del septo (Fig. 9E).

En la parte adaxial y abaxial de cada antera (tanto en la de polinización como en las de recompensa) existen dos cámaras de aire subepidérmicas, de gran tamaño, que separan parcialmente a cada uno de los lóbulos. Cada lóbulo de la antera está separado. Las aperturas principales de todas las anteras son dos grandes poros apicales y cada uno corresponde a un lóbulo (Figs. 9A).

Etapa 5 (previa a la antesis)

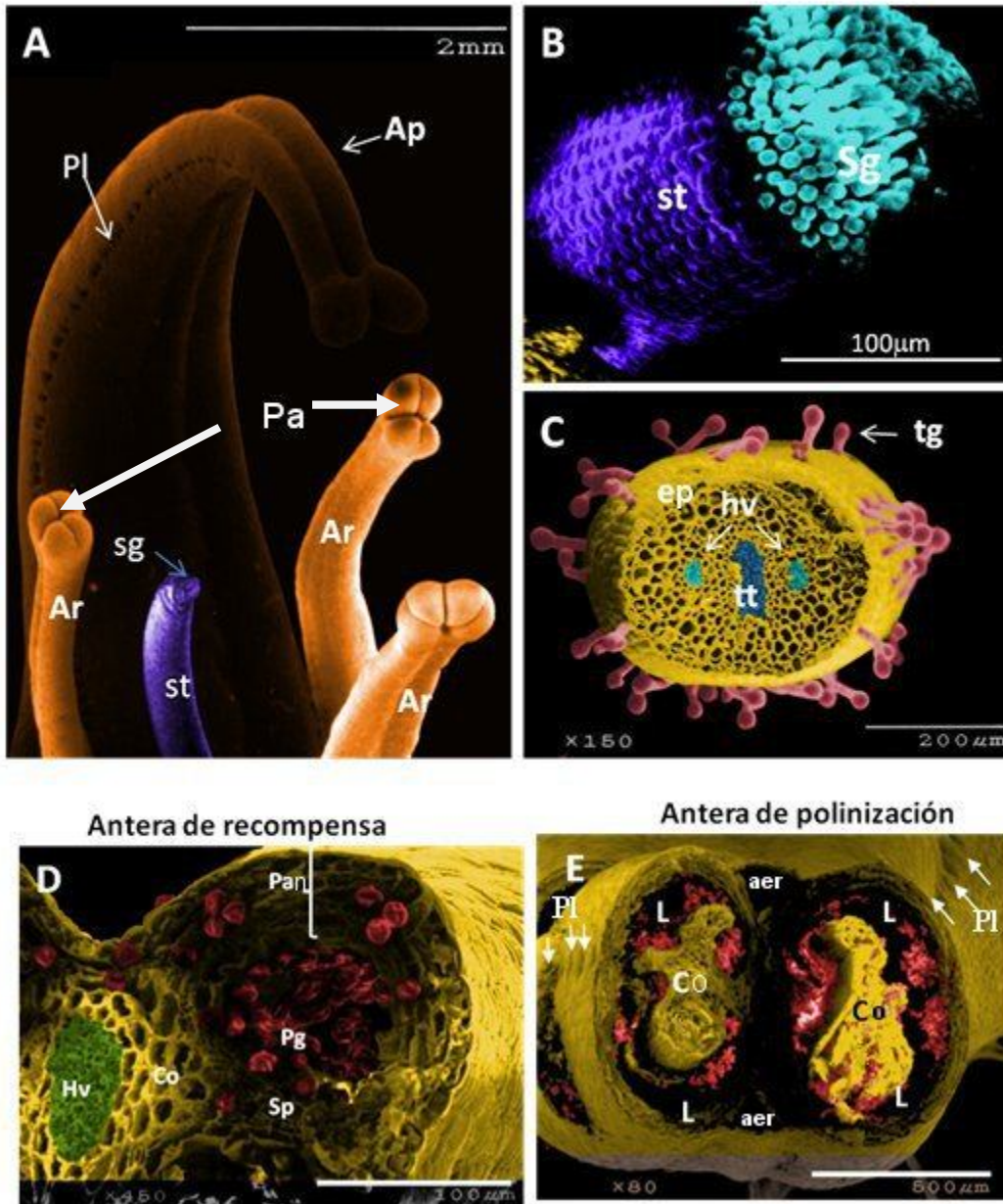


Fig. 9. Botones florales previos a la antesis de *S. rostratum* en etapa 5. **A.** Se aprecian tres de las cuatro anteras de recompensa y la antera de polinización (naranja oscuro), se observan los poros laterales, el estilo y el estigma en el centro de la flor. **B.** Acercamiento al estilo y al estigma que presenta papilas unicelulares cortas, coloreadas de azul claro. **C.** Corte transversal del estilo, los tricomas globulares coloreados en rosa, los haces vasculares de azul claro y el tejido de transmisión de azul fuerte. **D.** Pared de antera de recompensa formada por cuatro estratos, septo bien formado dividiendo los microsporangios y microsporas libres. **E.** Microsporangio de antera de polinización mostrando un conectivo desarrollado y metido hacia cada microsporangio. **Aer**, aerénquima; **Ap**, antera de polinización; **Ar** antera de recompensa; **Co**, conectivo; **Ep**, epidermis; **hv**, haces vasculares; **L**, loculo; **P**, poro apical; **Pa**, Poro apical; **Pan**, pared de antera; **Pg**, grano de polen; **Pl**, poro lateral; **Sg**, estigma; **Sp**, septo; **St**, estilo; **tg**, tricomas glandulares; **Tt**, tejido de transmisión.

ETAPA 6 (Flores en antesis)

En esta etapa de desarrollo, aunque el pistilo se encuentra en el centro de la flor, el estilo sufre un ligero desplazamiento que está dado por el crecimiento en diámetro de la gran antera de polinización. El desplazamiento del estilo es en sentido opuesto al crecimiento de la antera de polinización. De tal manera que si se trata de un morfo floral con estilo desviado a la derecha, la antera de polinización se posiciona a la izquierda, mientras que si el morfo floral es con estilo a la izquierda, la antera de polinización está hacia la derecha (Fig. 10).

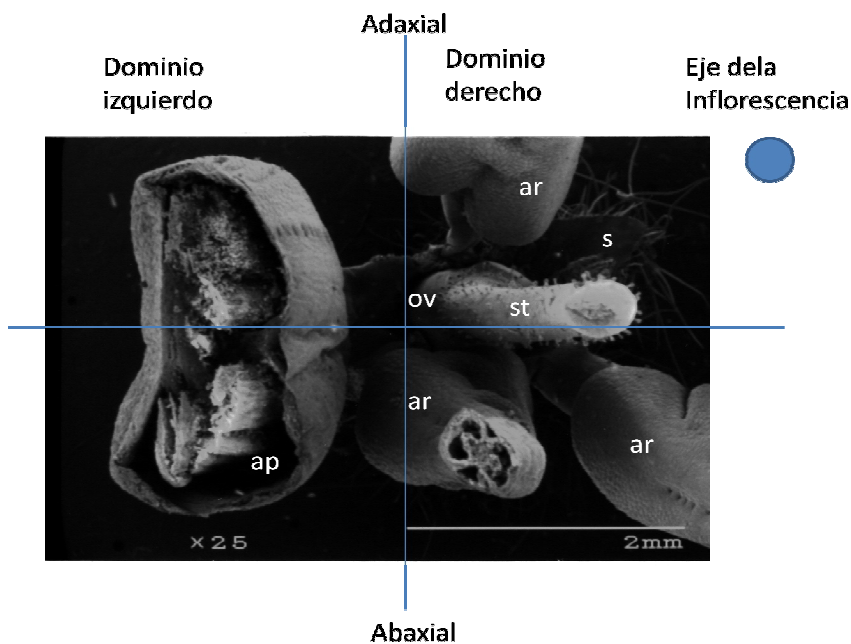


Fig. 10. Flor en antesis (etapa 6) mostrando el estilo desviado a la izquierda debido a que es desplazado por la antera de polinización. **Ap**, antera de polinización; **Ar**, antera de recompensa; **Ov**, ovario; **pl**, poro lateral; **St**, estilo.

En la antesis, cada lóbulo de la antera tiene dos pequeñas protuberancias con una pequeña depresión en el ápice, cuya epidermis está formada por células redondeadas. En esa depresión la antera ofrece menor resistencia y es donde se abrirá el ápice de cada par de microsporangios, formándose una estructura semejante a una valva, aunque se

considera un poro (Fig. 11A). Cuando esas dos estructuras se abren cada una en un gran poro apical, al mismo tiempo cristales de oxalato de calcio y cuerpos de Ubisch ubicados cerca de la abertura quedan expuestos sobre la superficie de la antera (Fig. 11B). En el interior pueden apreciarse varios granos de polen, cuerpos de Ubisch y cristales de oxalato de calcio (Fig. 11C). Una vez abiertos los dos poros apicales se liberan los granos de polen (Fig. 11D).

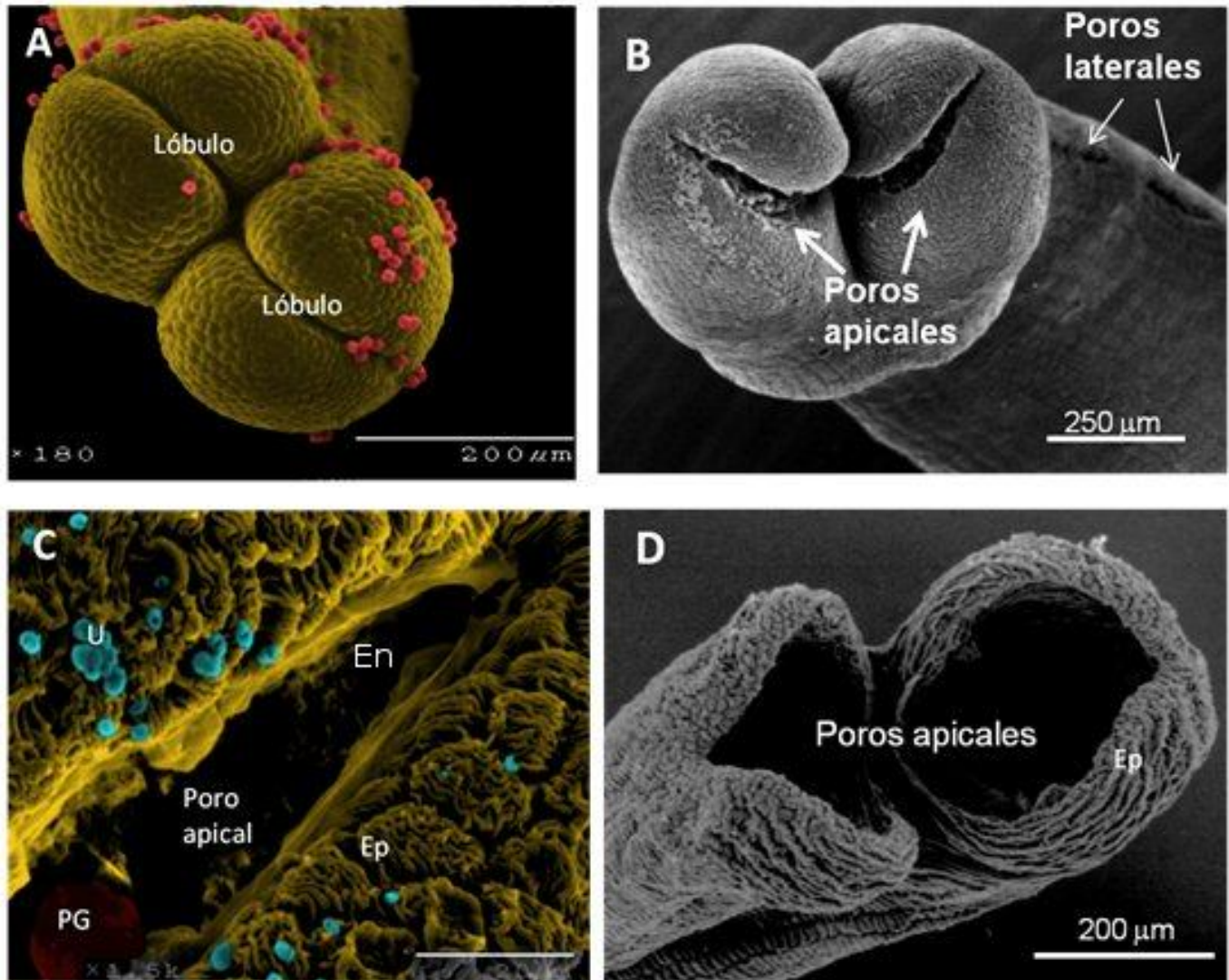


Fig. 11. A. Ápico de las anteras de *S. rostratum* en diferentes etapas del desarrollo. Antera previa a la antesis con las líneas de dehiscencia poricida marcada en cada lóbulo (flechas). **B.** Antera de flor en antesis al inicio de la dehiscencia. **C.** Acercamiento al poro apical abierto mostrando los granos de polen, cuerpos de Ubisch, la epidermis de la antera y el endotecio roto **D.** Antera con los dos poros apicales después de la liberación de los granos de polen. **En**, endotecio ; **Ep**, epidermis de la antera ; **PG**, grano de polen; **U**, cuerpos de Ubisch.

Uno de los hallazgos importantes es la descripción de los poros apicales y los pequeños poros laterales en cada antera de *S. rostratum*. La dispersión del polen de *S. rostratum* en cada antera no se restringe a los dos poros apicales (Fig. 12A-B). El presente trabajo describe la presencia de poros laterales funcionales, ubicados a lo largo de cada par de microsporangios, tanto en la antera de polinización como en las de recompensa (Fig. 12C-D), los cuales permiten la salida de los granos de polen, ya que el diámetro de los poros laterales es mayor que el de los granos de polen permitiendo fácilmente su dispersión.

Los granos de polen, al salir de la antera, van mezclados con cristales poligonales de oxalato de calcio e incluso cuerpos de Ubisch provenientes del tapete (Fig. 12E-F), lo cual hace pensar que ambos tienen una función en la atracción de los polinizadores, incluso que pueden ser ofrecidos como recompensa (Endress, 1994) o incluso que sus componentes sean utilizados al momento en el que el polen llega al estigma.

Etapa 6 (antesis)

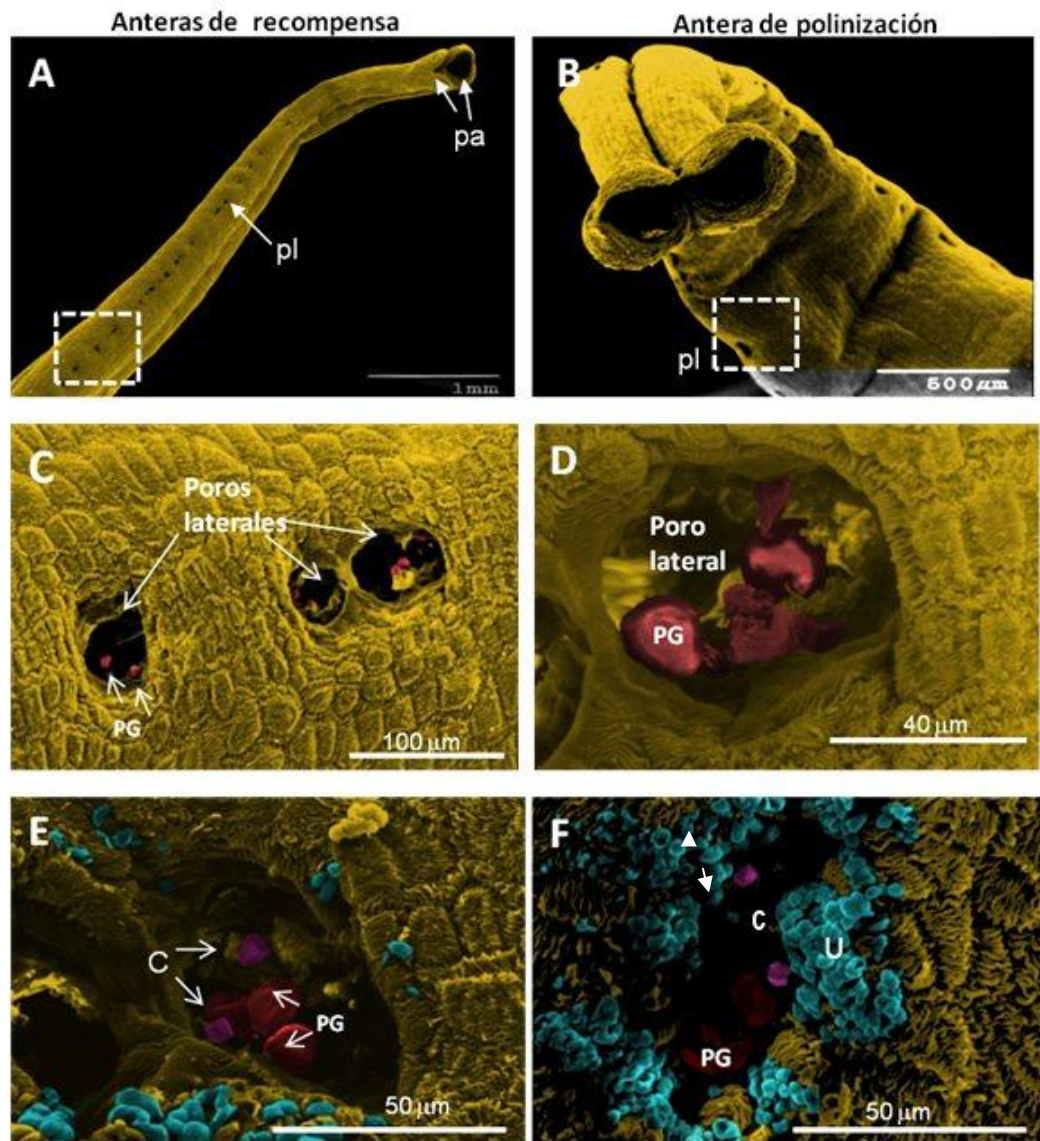


Fig. 12. A-B. Ambos tipos de anteras mostrando los dos poros apicales y los múltiples poros laterales. C. Acercamiento a los poros laterales de una antera de recompensa marcados en un recuadro de la figura A (el diámetro de los poros laterales no es homogéneo). D. Acercamiento a un poro lateral de la antera de polinización de la figura B mostrando granos de polen. E. Acercamiento a los granos de polen a través de un poro lateral mostrando granos de polen mezclados con cristales poligonales y cuerpos de Ubisch (en azul). F. Acercamiento a los granos de polen a través de un poro lateral mostrando granos de polen mezclados con cristales poligonales y cuerpos de Ubisch (en azul). C, cristales poligonales de oxalato de calcio; pa, poros apicales; PG, granos de polen; pl, poros laterales; U, cuerpos de Ubisch.

Desarrollo de la antera

Etapa 1

Las primeras etapas de desarrollo entre los dos tipos de anteras son muy parecidas, en la etapa más temprana encontramos anteras bilobuladas y tetrasporangiadas. La antera joven está formada por la epidermis, una capa parietal primaria y tejido esporógeno. Los dos lóbulos están separados por tejido conectivo que contiene un haz vascular.

En la cara adaxial y abaxial de cada antera (de polinización y de recompensa), se forman dos cámaras de aire por la separación de la epidermis de cada microsporangio (Fig. 13A). La capa parietal primaria tiene una división periclinal, originando la capa parietal secundaria externa y la capa parietal secundaria interna. La célula parietal secundaria externa se divide para formar el endotecio y la capa media; mientras que de la capa parietal secundaria interna se deriva el tapete (Fig. 13B). De esta manera el desarrollo de la pared de la antera de *S. rostratum* corresponde al tipo dicotiledóneo según la clasificación de Davis (1966).

La pared de la antera rodea al tejido esporógeno, el cual forma en cada microsporangio un par de estratos celulares. Cada par de microsporangios está separado por un septo de tejido conectivo (Fig. 13B). La capa media se divide periclinalmente varias veces y muy pronto llega a formar de cuatro a cinco estratos celulares. Las células del tapete se van volviendo cúbicas y rodean a un tejido esporógeno de hasta cuatro estratos celulares, que en conjunto adquiere una forma de media luna, debido a que el tejido

conectivo se multiplica y empuja a las células del tejido esporógeno (Fig. 13C). La pared de la antera en esta etapa queda compuesta por cuatro capas: epidermis, endotecio, capa media y tapete, todas uniestratificadas, excepto la capa media, la cual tienen de cuatro a cinco estratos celulares (13D).

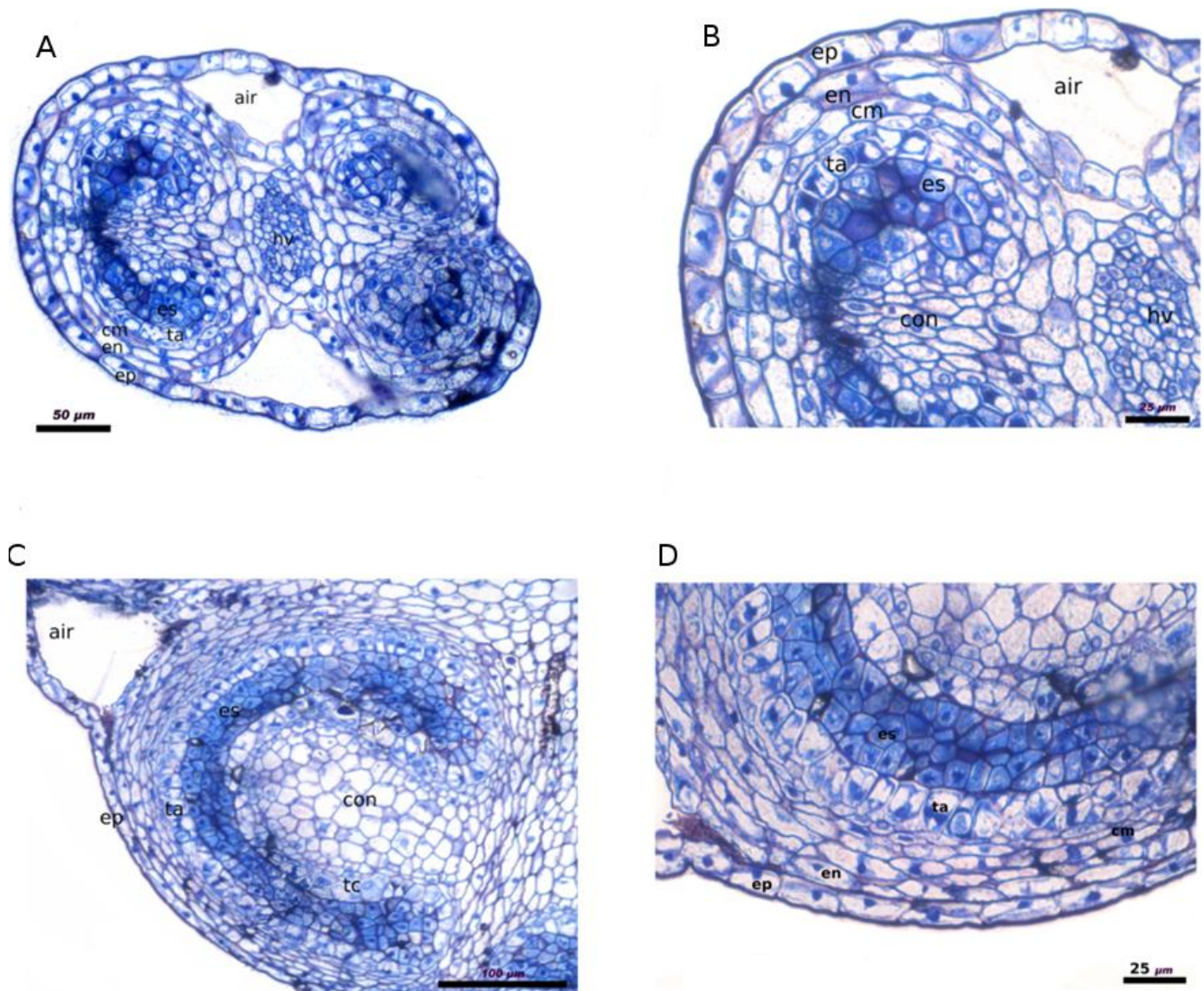


Fig. 13. Desarrollo de anteras. Etapa 1. Micrografías con microscopio óptico en campo claro. **A.** Antera joven cortada transversalmente mostrando dos grandes cámaras de aire (aerénquima, en la parte adaxial y abaxial debido a la separación de la epidermis de los microsporangios). **B.** Antera mostrando una pared joven formada por epidermis, endotecio capa media uniestratificada y tapete. Toda la pared rodea al tejido esporógeno. **C.** Antera con tejido esporógeno proliferativo e intrusión del tejido conectivo hacia cada microsporangio. **D.** Acercamiento a un microsporangio mostrando la capa media con varios estratos celulares. **Air**, aerénquima; **cm**, capas medias; **con**, tejido conectivo; **en**, endotecio; **ep**, epidermis; **es**, tejido esporógeno; **hv**, haces vasculares; **ta**, tapete; **tc**, tapete del conectivo.

ETAPA 2

En esta etapa de desarrollo, las anteras toman más una forma bilobulada y tetrasporangiada y las cámaras de aire son mayores (Fig. 14A). Dentro de cada microsporangio, las células esporógenas se han diferenciado en células madre de la microsporas y se rodean de una pared de calosa.

El tapete es de tipo secretor y tiene dos orígenes, tanto parietal como del tejido conectivo, que de ahora en adelante manejaremos como tapete parietal y como tapete interno (el derivado del conectivo). Generalmente el de origen parietal es de células cúbicas, mientras que el que se origina en el conectivo tienen células alargadas hacia el centro de cada microsporangio. Las células madres de las microsporas se rodean de una pared de calosa, presentan un citoplasma denso y núcleos evidentes. Las células del tapete comienzan a aumentar de tamaño y el citoplasma se vuelve denso, en esta etapa presentan cariocinesis, pero sin citocinesis, de tal manera que las células son binucleadas. La capa media presenta varios estratos celulares (Fig. 14B).

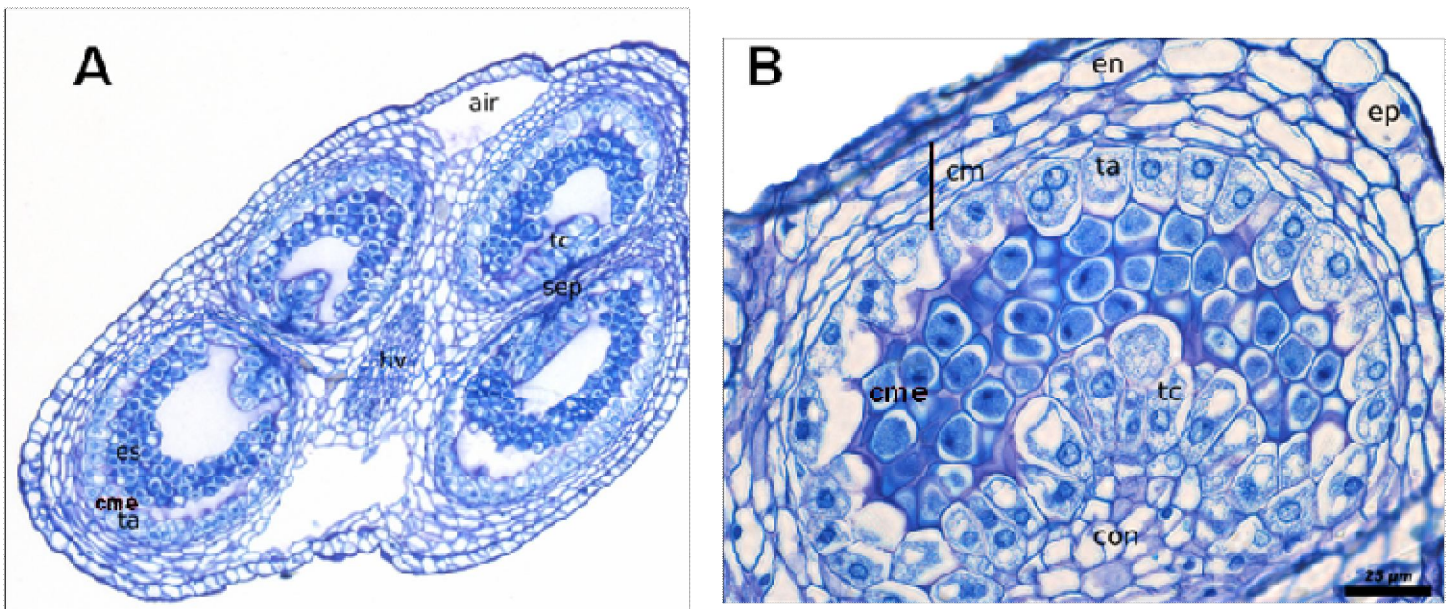


Fig. 14. Anteras en etapa 2. **A.** Etapa de células madres de las microsporas. **B.** Acercamiento a un microsporangio mostrando el tapete con células binucleadas (flecha), el tapete, tiene origen parietal y origen a partir del tejido conectivo. **cm**, capa media; **cme**, células madres de las microsporas; **con**, tejido conectivo; **en**, endotecio; **ep**, epidermis; **ta**, tapete parietal; **tc**, tapete de origen conectivo.

ETAPA 3

En las anteras de recompensa las células madres de las microsporas rodeadas de calosa entran a meiosis. La pared de la antera tiene una reducción en el número de estratos de la capa media y del septo que separa a cada par de microsporangios, el tapete es binucleado y se observa con un citoplasma denso (Fig. 15A).

En cada microsporangio se observan tétradas de microsporas del tipo tetrahédrico, que se distinguen por la calosa que las rodea. Las paredes celulares de ambos tapetes se observan aun íntegras (Fig. 15B).

La citocinesis que origina a las cuatro microsporas de la tétrada es del tipo simultáneo, ya que primero se dan las dos divisiones nucleares (Fig. 15C) y las paredes celulares se forman al terminar ésta, originando tétradas tetraédricas. Al final de la meiosis las células del tapete comienzan a desintegrarse (Fig. 15D).

En la antera de polinización ocurren los mismos eventos, aunque es de mucho mayor tamaño con respecto a las cuatro anteras de recompensa y se distingue un mayor crecimiento del tapete interno, sus células son mucho más alargadas, e incluso se adentran en la cavidad del microsporangio (Fig. 16A-C). Las cavidades de aire también son de mucho mayor tamaño.

ANTERAS DE RECOMPENSA

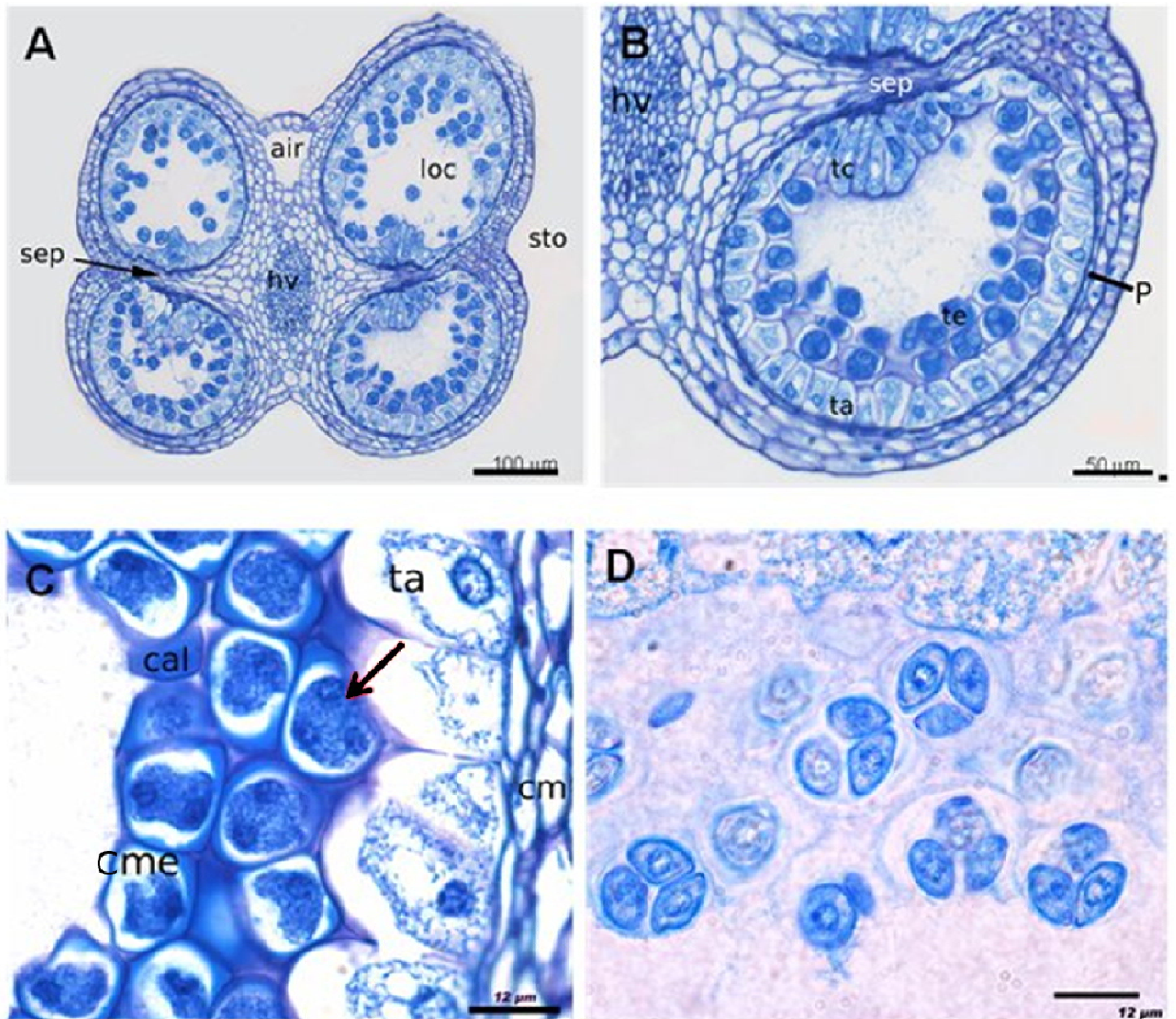


Fig. 15. Desarrollo de antera de recompensa en etapa 3. **A-B.** Las anteras se distinguen por la formación de tétradas de microsporas y la reducción de los estratos de las capas medias. **C.** Citocinesis de tipo simultáneo, primero se forman los cuatro núcleos (flecha roja) y después las paredes celulares. **D.** Tétradas tetraédricas de microsporas rodeadas de calosa y tapete con paredes colapsadas. **air**, aerénquima; **cal**, calosa; **cm**, capas medias; **hv**, haces vasculares; **loc**, lóculo; **p**, pared de la antera; **Sep**, septo; **sto**, estomio; **ta**, tapete; **te**, tétrada; **tc**, tapete interno del conectivo.

Antera de polinización

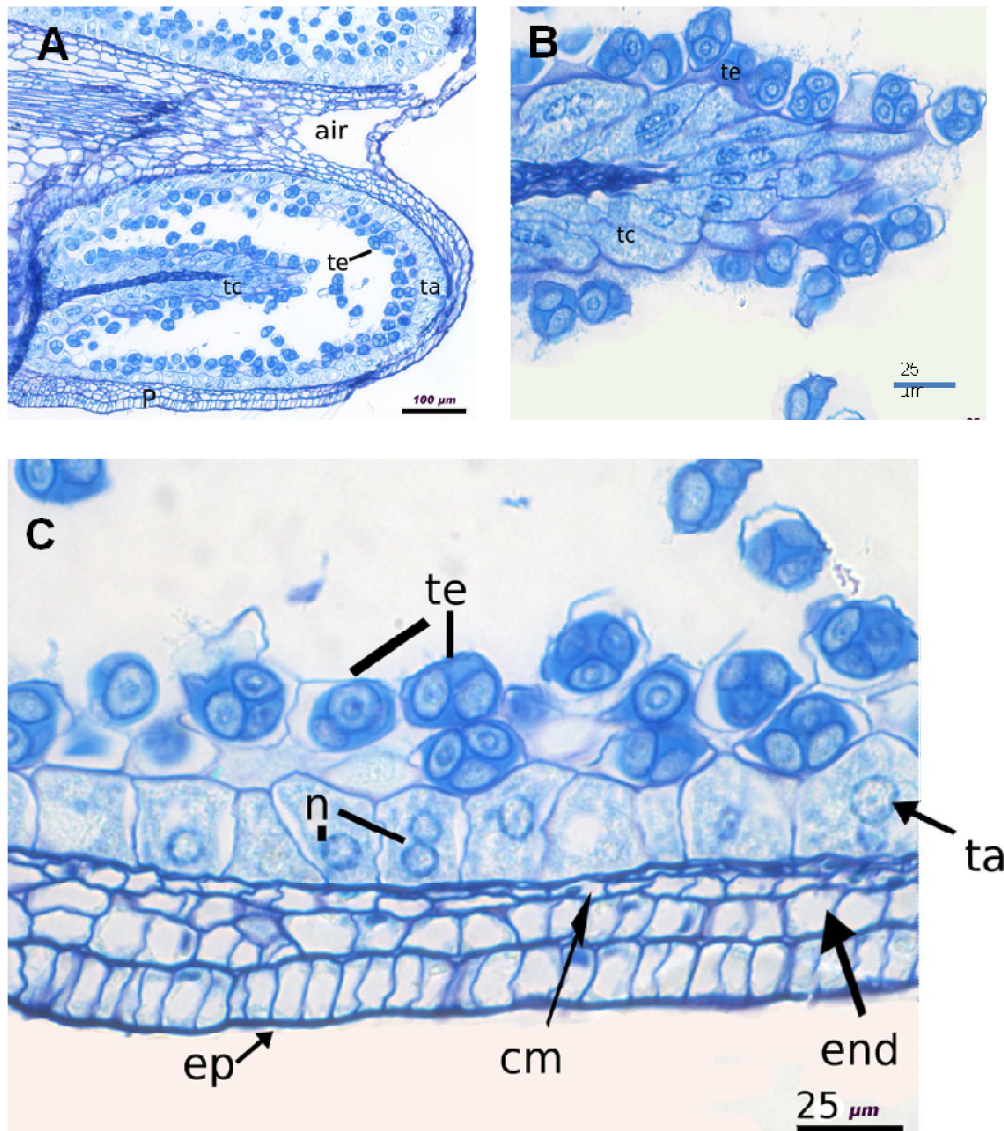


Fig. 16. Desarrollo de antera de polinización en etapa 3. **A.** Las anteras con tétradas de microsporas y reducción de los estratos de las capas medias. **B.** El tapete del tejido conectivo de células muy alargadas que se introducen hacia el centro del lóculo de la antera. **C.** La pared de la antera formada por epidermis, endotecio, capa media con sólo un estrato y tapete binucleado, al centro las tétradas tetraédricas de microsporas rodeadas de calosa. **Air**, aerenquima; **cal**, calosa; **cm**, capas medias; **end**, endotecio; **ep**, epidermis; **n**, núcleo; **p**, pared de la antera; **ta**, tapete; **tc**, tapete del conectivo; **te**, tétrada.

ETAPA 4

Entre la etapa tres y la etapa cuatro pues, hay un desfase entre el desarrollo de la antera de polinización y la antera de recompensa. Cuando las cuatro anteras de recompensa (Figura 17A) aún se encuentran en etapa de tétradas de microsporas, la antera de polinización (Fig. 17B) puede ya tener microsporas libres, lo cual es característico de la a la etapa cinco de desarrollo de las anteras.

Esta etapa se caracteriza porque todas las anteras aumentan en volumen considerablemente. Los espacios de aire (o cámaras de aire) se hacen mayores, incluso, el tejido conectivo que une a los cuatro microsporangios se convierte de parénquima en aerénquima, ya que aparecen muchos espacios intercelulares. Varias células del conectivo y de la pared de la antera forman cristales poligonales de oxalato de calcio. El tapete va degradándose (Fig. 16B-C). En la antera de polinización, las tétradas de microsporas se separan al degradarse la pared de calosa quedando microsporas libres, las cuales crecen rápidamente.

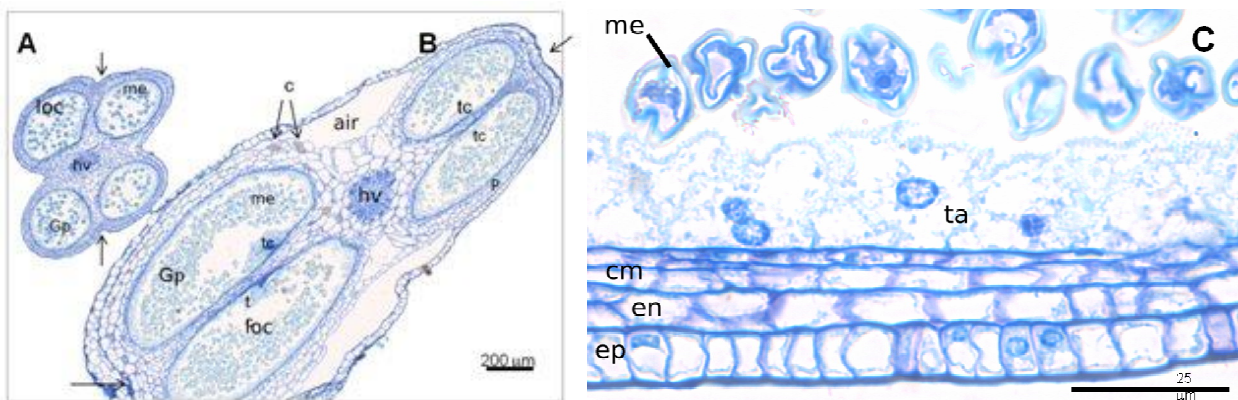


Fig. 17. Desarrollo de antera en etapa 4. **A.** Una de las anteras de recompensa mostrando tétradas de microsporas correspondiente a la etapa 4 de desarrollo. **B.** La antera de polinización se encuentra más avanzada del desarrollo, pues presenta liberación de las microsporas (granos de polen jóvenes) de la tétrada, el desarrollo de aerénquima y los cristales de oxalato de calcio. **C.** Granos de polen jóvenes unicelulares, tapete degradándose. La flechas indican la región del estomio. **air**, aerénquima; **c**, cristales poligonales de oxalato de calcio; **cm**, capas medias; **en**, endotecio; **ep**, epidermis; **gp**, granos de polen jóvenes; **hv**, haces vasculares; **loc**, lóculo; **me**, micro esporas; **P**, pared; **ta**, tapete; **te**, tétrada; **tc**, tapete del conectivo.

ETAPA 5

En el ápice de una antera (de polinización o de recompensa), los septos que dividen a los microsporangios se degradan (Fig. 18A). Dentro del lóculo de la antera se pueden observar algunos cuerpos de Ubich con material proveniente del tapete. La pared de la antera tienen una epidermis, un endotecio de paredes delgadas y un estrato de capa media (Fig. 18B). Cerca del poro apical (o estomio), justo donde va romperse la pared, el endotecio tiene engrosamientos en sus paredes celulares (Fig. 18C). En contraste, en la base de una antera (de polinización o de recompensa), los septos entre dos microsporangios permanecen, posiblemente para hacer más fuerte a la antera y soportar las vibraciones de los polinizadores, de tal manera que los microsporangios en esta zona permanecen separados. El filamento que logra verse en esta zona de unión con la antera, se puede observar que el tejido del filamento también es aerenquimático (Fig. 18D).

La pared del grano de polen unicelular se engrosa, se encuentran una gran cantidad de vacuolas en el citoplasma, que después coalescen y forman una sola. Por una división mitótica se convierte en grano de polen bicelular, una célula es la vegetativa y la otra la generatriz, forma en la que permanecen hasta ser liberados en etapa bicelular (Fig. 17E). La diferencia entre las anteras de recompensa y la de polinización es que esta última alcanza un gran diámetro, incluso mayor que el del gineceo.

Etapa 5

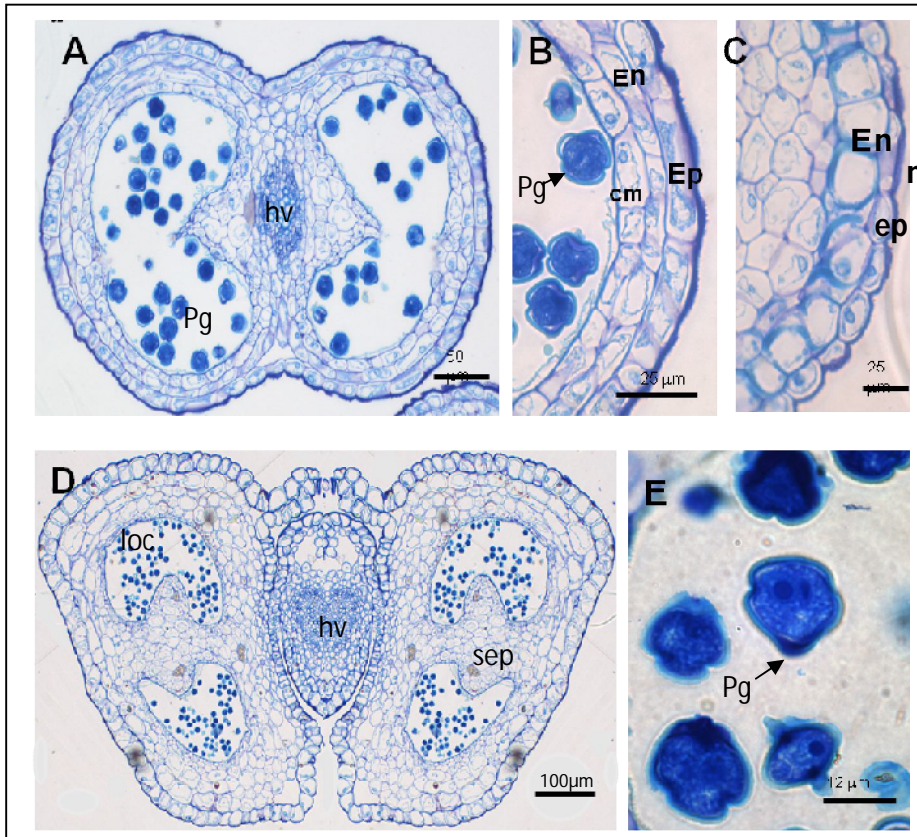


Fig. 18. Desarrollo de antera etapa cinco. **A.** Corte del ápice de la antera de recompensa, mostrando la disolución de los septos entre cada par de microsporangios. **B.** Pared de antera formada de epidermis, endotecio y una capa media uniestratificada. **C.** Pared de antera en la zona del poro apical (estomio) con endotecio engrosado. **D.** Base de antera de recompensa cortada transversalmente en la zona de inserción al filamento, el cual está formado de aerénquima y tejido vascular. En esta zona los septos permanecen. **E.** Granos de polen en etapa bicelular. **cm**, capas medias; **En**, endotecio; **Ep**, epidermis; **hv**, haces vasculares; **Pg**. grano de polen; **sep**. septo.

En corte transversal esta antera de recompensa tiene disuelto el septo entre los dos microsporangios, los granos de polen maduros bicelulares son más abundantes (Fig.19A). La pared de estas anteras está formada por epidermis, endotecio sin engrosamientos y una capa media. En la pared de la antera, en aquellas zonas donde no hay poros, la epidermis es continua (Fig. 19), pero en las zonas de los poros es

discontinua (Fig. 19C) y se acumulan cristales de oxalato de calcio por debajo de la epidermis (Fig. 19D-E).

Etapa 5

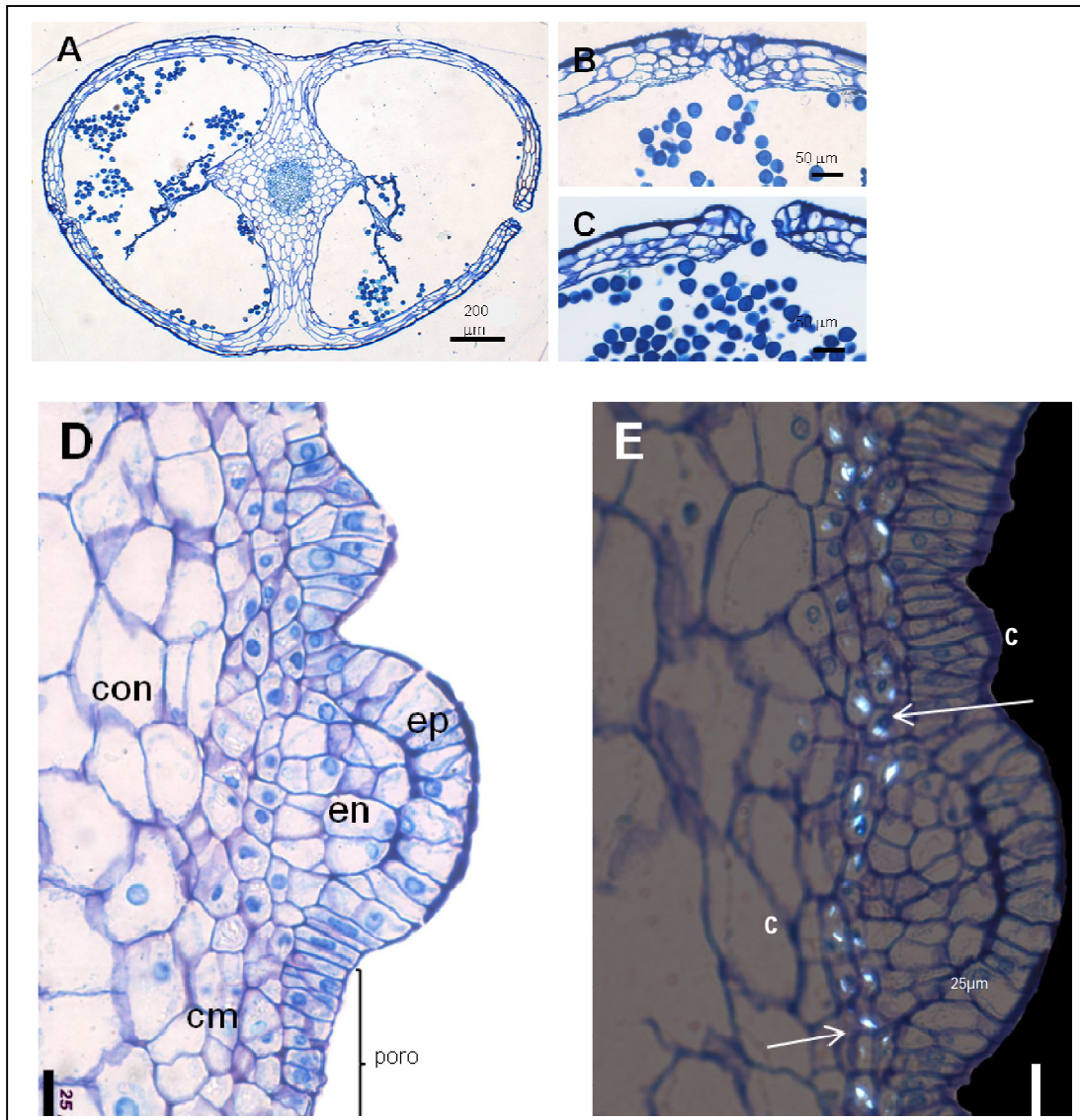


Fig. 19. A. antera de polinización con septos disueltos. B. Acercamiento a la pared de la antera en zona donde no hay poro latetal mostrando la continuidad de la epidermis. C. Pared de la antera en un poro lateral, la epidermis es discontinua. D-E. Micrografías con microscopio óptico a campo claro y luz polarizada para observar cristales de oxalato de calcio poligonales. E. Fueron superpuestas dos micrografías, una a campo claro y otra con luz polarizada utilizando GIMP.2.6. . c, cristales poligonales de oxalato de calcio; cm, capas medias; con, conectivo; en, endotecio; ep, epidermis.

Granos de polen

En ambos tipos de anteras los granos de polen son de tamaño pequeño de acuerdo a la clasificación de Erdmant (1966), ya que miden cerca de 20 μm . Los granos de polen maduros son tricolporado con exina granulosa (Fig. 20).

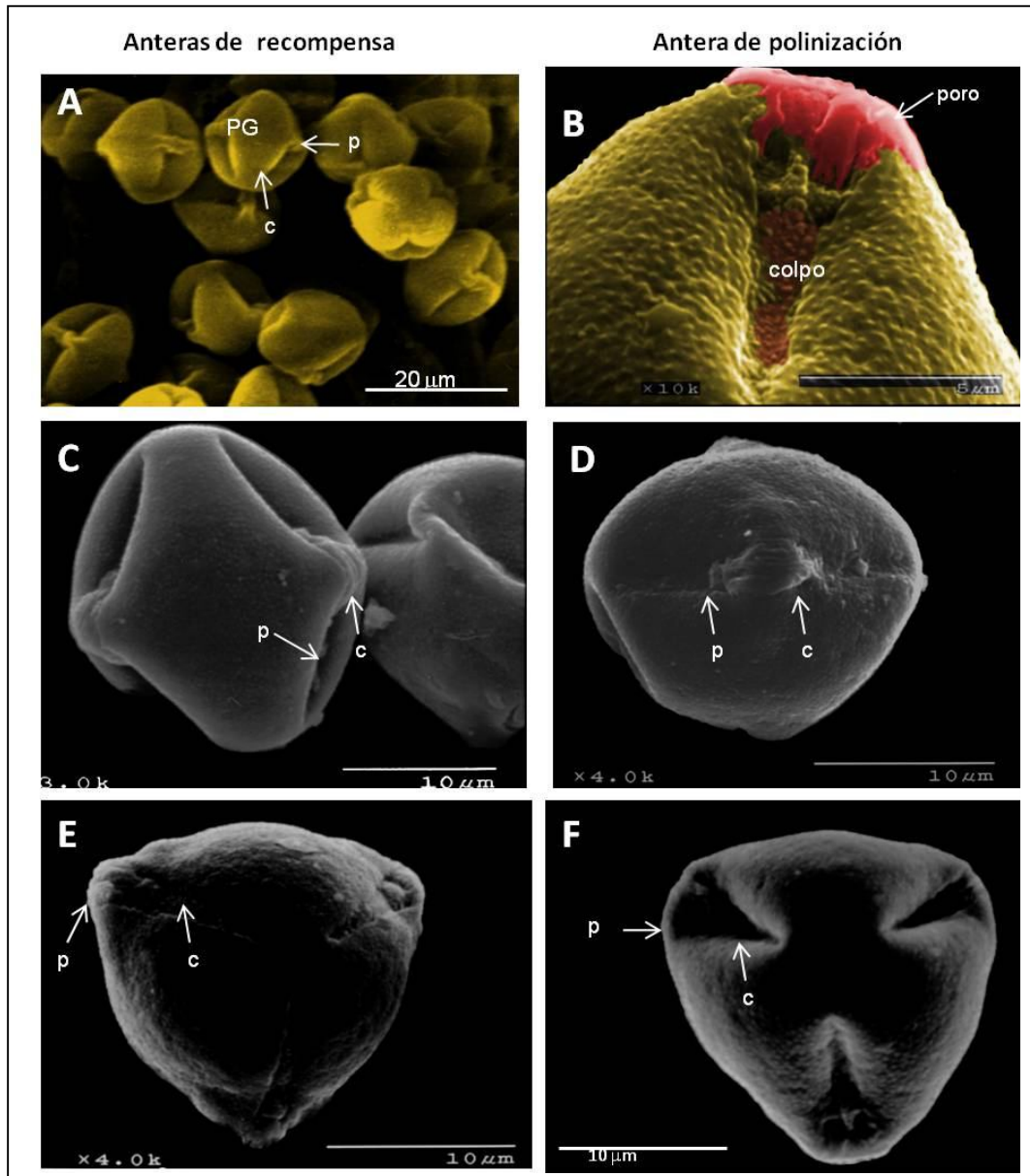


Fig. 20. Micrográficas del MEB de granos de polen. **A-B.** Fueron coloreadas. **A, C y E.** Corresponden al polen obtenido de una antera de recompensa. **B, D y F.** Corresponden al polen de una antera de polinización. **B.** La exina es granulosa. **C-D.** Vista ecuatorial **E-F.** Vista polar. **C.** colpo. **P.** poro. **PG.** grano de polen.

DISCUSIÓN

Se detectaron algunas novedades embriológicas durante el estudio del androceo de *Solanum rostratum*, las cuales podrían estar relacionadas con la eficiencia de la polinización y con la formación de las semillas.

Los granos de polen producidos por esta especie son muy pequeños entre 12-15µm, los cuales por su bajo peso pueden desplazarse más fácilmente cuando el polinizador zumba sobre las flores. La característica principal del androceo es que presenta dos tipos de anteras. A diferencia de otras especies de la familia Solanaceae o incluso otras especies del género *Solanum* las cuales no son heterantéricas (Endress, 1994).

La pared de la antera carece de engrosamientos lignificados en el endotecio a lo largo de los microsporangios como normalmente ocurre en aquellas especies donde la línea de dehiscencia es longitudinal. Los engrosamientos del endotecio de *S. rostratum* se restringen a los poros apicales, el resto de las células del endotecio son parenquimáticas. Sin embargo, alrededor de cada uno de estos poros, el endotecio multiplica los estratos celulares y es únicamente en el poro apical donde se observa con paredes uniformes, ligeramente engrosadas. También presenta cristales poligonales de oxalato de calcio. Otro tipo de cristales, como los arenosos, han sido descritos en otros géneros de Solanaceae como en *Petunia*, *Nicotiana* y *Lycopersicum*, pero su ubicación es diferente (Endress, 1994), en esos géneros se encuentran en el estomio de la antera (en una zona conocida como células bizarra); cuando éstas se rompen bañan a los granos de polen, los cuales al ser tomados por el polinizador los transportan a los estigmas para que se efectúe la

fecundación. Se reporta que en algunas líneas de *Petunia* cuyas anteras carecen de estos cristales, cuando los granos de polen llegan a los estigmas, la germinación no se presenta, sugiriendo que la presencia de calcio parece jugar un papel importante para la germinación de los granos de polen (Iwano *et al.*, 2004).

Al realizar la observación morfológica de las anteras encontramos la presencia de cristales de oxalato de calcio en la región periférica al aerénquima y en la pared de la antera, especialmente cercana al endotecio de las zonas con poros, tanto laterales como apicales. D'arcy *et al.* (1996) reportaron que en anteras poricidas que requieren de la polinización por zumbido, los cristales se mezclan con el polen aumentando la atracción que los polinizadores sienten a través del estímulo visual y/o químico. En *S. rostratum* detectamos esos cristales mezclados con los granos de polen y muy cerca de los poros y dado que los insectos perciben la luz ultravioleta y los cristales de Oxalato de Calcio reflejan mucho esta frecuencia del espectro electromagnético, haciendo evidente su presencia, visualmente a los insectos, por lo que proponemos que estos cristales podrían estar jugando un importante papel para la atracción de los polinizadores y al mismo tiempo que éstos cristales pudieran ser utilizados como alimento por parte de estos polinizadores.

A pesar de que *S. rostratum* es la especie enantiofílita y heterantérica relativamente más estudiada, las características de la presentación del polen hacia los polinizadores por medio de los dos tipos de anteras (de recompensa y de alimentación) no ha sido descrita completamente. Llama la atención que no había sido mencionada la

presencia de los poros laterales y su funcionamiento, sin embargo sabemos que esto puede jugar un papel importante en la transferencia precisa del polen desde las anteras hasta el estigma, puesto que se encontraron granos de polen en ellos.

Desde etapas muy tempranas del desarrollo, los dos tipos de anteras presentan depresiones laterales en la epidermis, a lo largo de la zona del estomio, estas depresiones en las últimas etapas de desarrollo se abren formando poros laterales, que ningún otro autor ha considerado como parte de las características de la enantiofilia, ni en *S. rostratum* ni en otras especies, lo cual es relevante.

El tamaño de dichos poros permite el paso de polen maduro ya que se abren en una etapa floral posterior a la desaparición de los septos entre los dos lóculos de la antera y encontramos granos de polen considerados pequeños (aprox. 15 μm) que pueden desplazarse fácilmente por ser poco pesados.

La enantiofilia ha surgido múltiples veces en diferentes linajes evolutivos, se ha reportado que incluso esos linajes comparten algunas similitudes del desarrollo floral (Jesson *et al.*, 2003). En el presente estudio consideramos interesante comparar en detalle tanto la morfología como el desarrollo de los dos tipos de anteras presentes en *S. rostratum*, haciendo referencia en aquellas estructuras y tejidos relacionados con la dehiscencia, zonas de reforzamiento de la antera y zonas de flexibilidad en la antera. Todas estas regiones parecen ser importantes durante el bombeo de aire, para la liberación del polen a través de diversos tipos de poros.

En la literatura de la biología reproductiva de *S. rostratum*, se ha dicho que la dehiscencia de las anteras es poricida y siempre se hizo referencia a los poros apicales; sin embargo, describimos la presencia de poros laterales funcionales y presentamos una propuesta sobre el mecanismo de su funcionamiento. El mecanismo por el cual pueden funcionar los poros laterales es la de la salida secundaria para los granos de polen y la entrada de aire, pues cuando los polinizadores (abejas y abejorros) sujetan las anteras de recompensa con sus mandíbulas y producen un zumbido agudo y sin movimiento de sus alas (lo cual lo reportó Bowers, 1975 para *S. rostratum*). Esta vibración del zumbido sin movimiento de alas es transmitida por las mandíbulas, patas y tórax a todas las anteras, provocando compresiones y descompresiones en el aerénquima de las anteras ubicado en la parte adaxial y abaxial de éstas (es decir entre los dos lóbulos de cada antera), generando una especie de bombeo de aire (o una resonancia dentro de las cámaras de aerénquima), desde los poros laterales hacia el poro apical, por el que sale la mayor cantidad de granos de polen que son depositados en la parte del tórax del polinizador con el cual hace contacto.

Asimismo, parte de los granos de polen ubicados a lo largo del lóbulo de la antera pueden salir por los pequeños poros laterales y dispersarse en múltiples direcciones, de manera que la abeja puede quedar cubierta por ellos en todo su cuerpo, incluso en regiones donde no lo puede remover, como en la parte dorsal y debajo del ala, de manera que los granos de polen de la antera de polinización pueden no ser los únicos que participan en la polinización, aunque son los que lo hacen principalmente. La presencia de granos de polen funcional en anteras de recompensa, posiblemente se deba a que un

porcentaje de ellos participa en la polinización, por la liberación secundaria, de los poros laterales. Sin embargo ésta es una hipótesis que planteamos y tratamos de evidenciar con nuestros resultados e interpretaciones, pero la evidencia final sólo puede derivarse a partir de una observación minuciosa y de una experimentación subsecuente.

Con los resultados obtenidos en el presente trabajo se encontró que la desviación del estilo en *S. rostratum* ocurre durante la antesis, así como para otras ocho especies enantiostilicas monomórficas y heterantéricas, estudiadas por Jesson *et al.* (2003). Se desconoce si es únicamente por el acomodo de la gran antera de polinización, la que empuja al pistilo a ser desplazado del centro de la flor. Al respecto Endress (1999) menciona que los cambios en la simetría deben de recaer en un proceso especial de desarrollo o deben de estar influenciados (especialmente en fases tempranas) por la simetría de toda la inflorescencia. Es importante remarcar que dentro de las inflorescencias de la especie estudiada la orientación de los estilos se presenta al momento de la antesis y depende de la posición de las flores en la inflorescencia de la planta.

La desviación estilar cobra importancia porque minimiza la interferencia entre las funciones masculina y femenina dentro de una flor cuando el polinizador llega a recoger o a depositar el polen. No debe de existir interferencia entre el polen de las anteras pequeñas de recompensa, la antera de polinización y el estigma de una misma flor, puesto que éstas se encuentran alejadas del estigma. El polen de la antera de polinización es depositado en un lugar específico del polinizador (en el dorso debajo del ala). Aunque existe controversia acerca de si las especies enantiostilicas heterantéricas tienen división

de trabajo, en cuanto a la producción de polen como lo apoyan (Vallejo-Marín *et al.* 2009). Considerando que en *S.rostratum*, no hay autoincompatibilidad, ambos tipos de polen son fértiles y que pueden formar semillas (Bowers, 1975). Sin embargo la liberación secundaria de polen, y su participación en la polinización, significa que no existe una especialización completa de funciones de las anteras, sin embargo la cantidad de polen que puede liberarse secundariamente por los poros laterales es menor que el que se libera por los poros apicales, debido a su diámetro y posición, por lo que la especialización de funciones debe de ocurrir parcialmente y la separación espacial de los dos tipos de anteras debe ser una estrategia que las angiospermas han desarrollado para evitar la autofecundación y depresiones endogámicas.

Cuando en un inicio Tood (1882) dió una explicación de división de labores a la enantiostilia y heteranteria en *S. rostratum* propuso que esta división era absoluta y que los dos tipos de anteras tenían funciones específicas, sin embargo, encontramos inconsistencias en la teoría original de división de labores para *S. rostratum*, ya que los granos de polen de las anteras de recompensa son viables puede significar que participan en la polinización, ya que si no lo hicieran habrían perdido su viabilidad pues si el polen de las anteras de recompensa no participara en la polinización, los individuos con granos de polen no viable en estas anteras tendrían un menor gasto energético y podrían estar mejor adaptados respecto a los que produjeran polen viable. La división de labores en anteras de *S. rostratum* no es absoluta, ya que tanto los granos polen provenientes de anteras de polinización como granos de polen de anteras de recompensa participan en la polinización, el polen de las anteras de recompensa debe de participar regularmente,

aunque en menor abundancia, en la polinización. Las interrogantes a futuro son determinar cómo y en qué porcentaje participan las anteras de recompensa en la polinización.

Podemos especular que la participación del polen proveniente a las anteras de recompensa, es una adaptación contra la pérdida de la antera de polinización por herbivoría. Sin embargo para entender la función de la enantiofilia monomórfica y la heteranteria en *S.rostratum* debe de realizarse una observación minuciosa en campo.

CONCLUSIONES

En *Solanum rostratum*:

La orientación del estilo y de la antera de polinización se da al momento de la antesis.

Los granos de polen de las anteras de polinización y de las de recompensa no presentan diferencias morfológicas.

Los dos tipos de anteras presentan desde etapas muy tempranas de desarrollo depresiones laterales que se convierten en poros laterales que participan en la dispersión de polen y presentan cristales poligonales de Oxalato de Calcio.

LITERATURA CONSULTADA

- Bawa K.S. y J.H. Beach. 1981. Evolution of Sexual Systems in Flowering Plants. *Annals of the Missouri Botanical Garden* 68(2):254-274
- Bowers W. A. Karen. 1975. The pollination ecology of *Solanum rostratum* (Solanaceae). *American Journal of Botany* 62 (6) 633-638.
- Barrett S., Jesson L. y A. Baker. 2000. The Evolution and Function of Styler Polymorphisms in Flowering Plants. *Annals of Botany* 85 (suplemento A): 253-265.
- Barrett S. 2003. Mating strategies in flowering plants: the outcrossing-selfing paradigm and beyond. *Phil. Trans. R. Soc. Lond.* 358:991-1004
- Charlesworth D. y B. Charlesworth. 1987. Inbreeding Depression and its Evolutionary Consequences. *Annual Review of Ecology and Systematics* 18: 237-268
- D'Arcy, W.G., R.C. Keating, and S.L. Buchmann. 1996. The Anther: Form, Function, and Phylogeny. Cambridge University Press, New York, NY. 351 pp.
- Davis G. L. 1996. Systematic Embryology of Angiosperms. John Wiley & Sons. New York. 528 pp
- Darwin C.R. 1877. Las distintas formas de las flores en plantas de la misma especie. U.N.A.M. Academia Mexicana de Ciencias. Consejo superior de investigaciones científicas. Catarata. México. 283pp
- Endress K.P. 1994. Diversity and Evolutionary Biology of Tropical Flowers. Cambridge University Press. U.K. 483 pp
- Endress K. P. 1999. Symmetry in Flowers: Diversity and Evolution. *International Journal of Plant Sciences* 160 (6 Suppl.) S3-S23
- Erdtman, C. *Pollen morphology and plant taxonomy-angiosperms* (An introduction to Palynology) Harfer Publ. Co., New York. 553 pp.
- Fenster B.C. 1995. Mirror Image Flowers and their Effect on Outcrossing Rate in *Chamaecrista fasciculata* (Leguminosae) *American journal of Botany* 82 (1): 46-50
- Font Quer. 2001. Diccionario de botánica. Ediciones Península. Barcelona. 1244pp

- Gross C.L. 1993. The breeding System and Pollinators of *Melastoma affine* (Melastomataceae); A Pioneer Shrub in Tropical Australia. *Biotropica* 25(4):468-474
- Harder L. D and. Barclay R. M. R 1994. The Functional Significance of Poricidal Anthers and Buzz Pollination: Controlled Pollen Removal From *Dodecatheon*. *Functional Ecology* 8 (4): 509-517
- Harter B., Leistilow C., Truylio B., y Engels W. 2002. Bees collecting pollen from flowers with poricidal anthers in a south Brazilian Araucaria forest: a community study. *Journal of Apicultural* 41(1-2) 9-16
- Howell G., Salter A. y R.B. Knox. 1993. Secondary Pollen Presentation in Angiosperms and its Biological Significance. *Aust. J. Bot* 41:417-438
- Iwano M., Entani T., Shiba H., Takayama S., Isogai A. 2004. Calcium crystals in the anther of *Petunia*: the existence and biological significance in the pollination process. *Plant Cell Physiology* 45: 40–47.
- Jesson L. y S. Barrett. 2002a. Enantiostyly in *Wachendorfia* (Haemodoraceae): The Influence of Reproductive Systems on the Maintenance of the Polymorphism. *American Journal of Botany* 89(2): 253-262
- Jesson L. y S. Barrett. 2002b. Solving the puzzle of mirror-image flowers. *Nature* 417: 707.
- Jesson L. y S. Barrett. 2002c. The genetics of mirror-image flowers. *Proc. R. Soc. Land. B.* 02PB0230.1-02PB0230.5
- Jesson L. y S. Barrett. 2003. The Comparative Biology of Mirror-Image Flowers. *Int. J. Plant Sci.* 164 (5 Suppl.):S237-S249
- Jesson L, Barrett S., y T. Day. 2003 a. A Theoretical Investigation of the Evolution and Maintenance of Mirror- Image Flowers. *The American Naturalist* 161(6): 916-930
- Jesson L., Kang J., Wagner L., Barrett S., y N.G. Dengler. 2003b. The Development of Enantiostyly. *American Journal of Botany* 90(2): 183-195
- Jesson L. y S. Barrett. 2005. Experimental tests of the function of mirror-image flowers. *Biological Journal of the Linnean Society* 85: 167-179
- Lawrence D. y Barret S. 2007. Ecology and Evolution of Flowers. Oxford university press. UK. p347

- Levin R., Myers, N.R. y L. Bohs. 2006. Phylogenetic relationships among the "spiny solanums" (*Solanum* subgenus *Leptostemonum*, Solanaceae) *Am. J. Bot.* 93: 157-169.
- Lloyd G. y J. M. A. Yates. 1982. Intrasexual Selection and Segregation of Pollen and Stigmas in Hermaphrodite Plants. Exemplified by *Wahlenburgia albomarginata* (Campanulaceae). *Evolution* 36(5): 903-913
- Lloyd G. y Schoen J. 1992. Self- and Cross-Fertilization in Plants. I. Functional Dimensions. *International Journal of Plant Sciences* 153 (3-1): 358-369
- López M., J. Márquez y G. Murguía. 2005. Técnicas para el estudio del desarrollo en angiospermas. 2ª edición. Las prensas de Ciencias. Facultad de Ciencias. UNAM. 178pp.
- Olmstead G., y D. Palmer. 1997. Implications for the Phylogeny, Classification, and Biogeography of *Solanum* from cpDNA Restriction Site Variation. *Systematic Botany* 22(1):19-29
- Todd J.E. 1882. On the flowers of *Solanum rostratum* and *Cassia chamaecrista*. *The American Naturalist* 16 (4): 281-287
- Vallejo-Marín M., Manson J.S., Thomson J.D. y Barrett S.C.H. 2009. Division of labour within flowers: heteranthy, a floral strategy to reconcile contrasting pollen fates. *J.EVOL.BIOL.* 22:828-839
- Wolfe D.A., Estes R.J. y W.F. Chissoe III. 1991. Tracing pollen flow of *Solanum rostratum* (SOLANACEAE) using backscatter scanning electron microscopy and X ray microanalysis. *American Journal of Botany* 78 (11): 1503-1507
- Wolfe D.A. y R.J. Estes. 1992. Pollination and the Function of Floral parts in *Chamaecrista fasciculata* (Fabaceae). *American Journal of Botany* 79(3):314-317
- Zang D. L. Z. y Renner S.S. 2008. Why two kinds of stamens in buzz-pollinated flowers? Experimental support for Darwin's division-of-labour hypothesis. *Functional Ecology* 22:794-800

Referencias digitales:

Darwin C.R.. 1881 y 1882 :

Darwin Correspondence Project Database. <http://www.darwinproject.ac.uk/namedef-3070> (letter no. 13091-Darwin,C.R. to Müller, J.F.T., 20 Mar 1881; accessed 3 Apr 2011)

Darwin Correspondence Project Database. <http://www.darwinproject.ac.uk/namedef-3070> (letter no. 13776-Darwin,C.R. to Todd, J.E., 10 Apr 1882; accessed 3 Apr 2011)

CONABIO (2011): <http://www.conabio.gob.mx/malezasdemexico/solanaceae/solanum-rostratum/fichas/ficha.htm>

Global Biodiversity Information Facility (GBIF) Data portal):

<http://data.gbif.org/species/13745025> los datos en la presencia de biodiversidad

fueron publicados por : *Australian National Herbarium (CANB), Bernice Pauahi Bishop Museum, University of Washington Burke Museum, Universidad de Extremadura (UNEX), GBIF New Zealand, Oregon State University, Royal Botanic Gardens, Kew, Arizona State University, International Institute for Species Exploration, UK National Biodiversity Network , National Herbarium of New South Wales, Arctos, Utah Valley State College (UVSC), GBIF-Sweden, USDA PLANTS, Natural History Museum, University of Oslo, Bundesamt für Naturschutz / Netzwerk Phytodiversität Deutschland, Conservatoire botanique national du Bassin parisien, Berkeley Natural History Museums, Israel Nature and Parks Authority, Museum national d'histoire naturelle et Réseau des Herbiers de France, Utah State University, CONABIO, National Museum of Natural History, University Museums of Norway (MUSIT), Service du Patrimoine naturel, Muséum national d'Histoire naturelle, Paris, New Mexico Biodiversity Collections Consortium, University of Connecticut, Colorado State University Herbarium (CSU), University of Arizona Herbarium, University of Kansas Biodiversity Research Center, Natural History Museum, University of Oslo, UNIBIO, IBUNAM, Musée national d'histoire naturelle Luxembourg, The New York Botanical Garden, Consortium of California Herbaria, NLBIF, University of Alberta, The Norwegian Biodiversity Information Centre (NBIC), UK National Biodiversity Network y Missouri Botanical Garden.* (Fueron accedidos por el portal de datos GBIF

Data Portal, *data.gbif.org*, 2011-04-04)

SIIT(Sistema Integrado de Información Taxonómica) CONABIO (2011):

http://siit.conabio.gob.mx/pls/itisca/next?v_tsn=30454&taxa=&p_king=Plantae&p_string=containing&p_format=&p_ifx=itismx&p_lang=es

