



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA
DE MEXICO

FACULTAD DE CIENCIAS

Desarrollo del óvulo, fecundación y
germinación de las semillas de *Furcraea*
parmentieri (Agavaceae).

TESIS

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE

BIÓLOGA

PRESENTA:

ANABEL SOFÍA ÁLVAREZ POREBSKA

DIRECTORA DE TESIS:

DRA. GUADALUPE JUDITH MÁRQUEZ GUZMÁN



2013



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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



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:

Desarrollo del óvulo, fecundación y germinación de las semillas de Furcraea parmentieri (Agavaceae)

realizado por **Álvarez Porebska Anabel Sofía** con número de cuenta **3-0529402-7** quien ha decidido titularse mediante la opción de **tesis** en la licenciatura en **Biología**. Dicho trabajo cuenta con nuestro voto aprobatorio.

Propietario Dra. Martha Juana Martínez Gordillo

Propietario Dr. Abisai Josué García Mendoza

Propietario Dra. Guadalupe Judith Márquez Guzmán

Tutora Dra. Sonia Vázquez Santana

Suplente M. en C. Mónica Karina Pérez Pacheco

Atentamente

"POR MI RAZA HABLARÁ EL ESPÍRITU "
Ciudad Universitaria, D. F., a 21 de febrero de 2013
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/mdm

**Muchas son las lecciones que se pueden extraer del estudio de las plantas,
si se procura el verdadero espíritu de la sabiduría.**

John Balfour

A Mama y Papa

Por siempre cuidarme, brindarme su amor, comprensión y por el gran apoyo que me han dado a lo largo de mis estudios. Gracias.

A mi hermano Piotr

Que con su ejemplo se ha convertido en mi modelo a seguir.

A Julián

Por el cariño, los grandiosos momentos y enseñanzas que me ha brindado.

A mis queridos Cuyos

Mayra, Gabi, Lulu, Ray, Sara, Isac, por ser mis grandes amigos de la carrera y por todos los momentos que disfrutamos juntos en esta facultad.

A mis Compañeros del laboratorio

Nadia, Alde, Moni, Carlita, Isabel, David, Rodrigo, Ricardo, Magali, Saul, Luis, Diana, por los buenos momentos que pasamos.

Agradecimientos

Esta tesis se realizó dentro del taller titulado “Biología de la reproducción, propagación y fisiología de angiospermas que crecen en ambientes contrastantes”.

A la Dra. Guadalupe Judith Márquez Guzmán, por ser mi asesora y brindarme el apoyo para la realización de esta tesis.

A la Dra. Sonia Vázquez santana y a la Dra. Margarita collazo Ortega, por acompañarme en mi formación y brindarme su amistad, cariño y los mejores consejos.

A la M. en C. Mónica Karina Pérez Pacheco y a M. en C. Ricardo Wong, por enseñarme las metodologías utilizadas para la realización de esta tesis, como su amistad y cariño.

A la Dra. María Teresa Valverde Valdés por su colaboración para la realización de este proyecto.

A la M. en C. Anabel Bieler y al M. en C. Alejandro Martínez del laboratorio de Microcine por la toma de fotografías y fotomicrografías.

A Dra. Silvia Espinosa Matías del laboratorio de MEB de la Facultad de Ciencias, por la toma de fotografías.

Al Biol. Aldebaran Camacho, por sus buenos consejos y revisión de esta tesis.

Índice

Resumen	1
Introducción	3
Antecedentes	5
El género <i>Furcraea</i>	5
Biología reproductiva del género <i>Furcraea</i>	6
Características embriológicas de la familia y el género.....	9
Características de la semillas del género <i>Furcraea</i>	11
Germinación y plántulas del género <i>Furcraea</i>	12
Importancia de la familia Agavaceae y el género <i>Furcraea</i>	13
Objetivos	14
Materiales y Métodos	16
Zona de colecta.....	16
Procesamiento del material vegetal.....	18
Cuantificación de semillas y germinación.....	20
Resultados	22
Morfología de la floral.....	22
Desarrollo del óvulo, megasporogénesis y megagametogénesis.....	25
Morfología del estilo y del estigma.....	32
Fecundación.....	32
Desarrollo de la semilla.....	38
Distribución de semillas en el fruto.....	43
Germinación y plántulas.....	46
Discusión	49
Conclusiones	59
Referencias	61
Anexo I	66
Anexo II	70

Resumen

Furcraea parmentieri (Roezl ex Ortgies) García-Mend. Es una planta que se caracteriza por su reproducción, ya que presenta eventos de floración masivos y sincrónicos en sus poblaciones. En esta especie se reporta una baja producción de frutos, los cuales presentan aproximadamente el 24.96% de semillas no viables. En este trabajo se exploran algunas de las causas que conllevan a la formación de semillas no viables en los frutos; dada esta última característica se aborda el estudio del desarrollo del óvulo, el gametofito femenino y el proceso de fecundación, debido a que en diversos estudios de este tipo realizados en miembros de la familia Agavaceae se mencionan fallas durante estos eventos.

Furcraea parmentieri presenta un ovario tricarpelar y trilocular, el óvulo es anátropo, bitégmico, crasinucelado, endóstomo, funiculado, con obturador y placentación axilar; el desarrollo de los óvulos es asincrónico. La célula madre de la megaspora por meiosis da lugar a una tétrada lineal, cuya megaspora calazal se desarrolla en un saco embrionario de tipo *Polygonum*. Los núcleos polares se fusionan antes de la fecundación. Durante este proceso no se observaron anomalías en el desarrollo del gametofito femenino en ninguno de los óvulos estudiados.

El estigma es trilobulado y papilado; el estilo es hueco y se encuentra recubierto en su interior por células secretoras. Los tubos polínicos crecen a través del estilo hueco y la placenta axial. La fecundación es porógama.

En las semillas viables, el embrión se desarrolla en la región micropilar, el endospermo es helobial; la cubierta seminal se desarrolla a partir del tegumento externo y el tegmen del interno. En la semilla madura la cubierta seminal es pigmentada.

La aborción de las semillas ocurre posterior a la fecundación y ésta es notoria desde las primeras etapas de la formación del fruto. Las semillas abortadas pierden su contenido interno, mientras la testa continua creciendo hasta alcanzar la talla de las semillas viables y no se pigmenta. Las semillas no viables se pueden ubicar en la parte media del fruto y se presentan intercaladas con semillas viables, a diferencia de las ubicadas en los extremos superior e inferior del fruto, donde todas las semillas son inviables. No obstante, la cantidad de semillas inviables (blancas) presentes en cada una de las regiones no es significativa y pueden aparecer con una frecuencia similar en cada región. El porcentaje de germinación en las semillas viables fue de 95%; la plántula presenta un desarrollo de tipo cotiledón largo, el cual corresponde al descrito para el subgénero *Flexiles*.

Introducción

La familia Agavaceae fue propuesta por Dumortier en 1829, pertenece al orden Asparagales de las monocotiledóneas. Se encuentra conformada por alrededor de 340 especies (García-Mendoza, 2011). Su distribución se restringe al continente Americano, donde México es considerado su centro de origen y diversificación (Eguiarte *et al.*, 2000), ya que alberga aproximadamente el 76% de las especies, de las cuales el 70% son endémicas (García-Mendoza, 2004).

Los miembros de esta familia presentan una amplia gama de adaptaciones ecológicas, fisiológicas, reproductivas y morfológicas a los ambientes áridos y semiáridos (García-Mendoza, 2007). Uno de los aspectos más importantes son las adaptaciones que presentan en su reproducción, ya que cuentan con especies policárpicas (iteróparas), que se pueden reproducir varias veces durante su vida y especies monocárpicas (semélparas), que se caracterizan por presentar un único evento reproductivo en su vida, el cual culmina con la muerte del individuo (Eguiarte *et al.*, 2000).

El género *Furcraea* es monocárpico y en él se encuentran algunas de las especies más interesantes debido a su estrategia reproductiva, caracterizada por presentar eventos de reproducción masivos y sincrónicos en sus poblaciones, además de que las inflorescencias de estas especies son muy diferentes a las de otros géneros y producen una gran cantidad de flores (García-Mendoza, 2001). Tal es el caso de algunas poblaciones de *Furcraea parmentieri* (ubicadas en el

Volcán Xitle, Volcán el Pelado, Los Dinamos, El Ajusco en el Distrito Federal, Las Lagunas de Zempoala en Morelos y El Chico en Hidalgo) que en el año 2007 presentaron este característico evento de floración (Hernández-Pedrero, 2009; Albarrán- Hernández, 2011).

En *F. parmentieri*, a pesar de la gran cantidad de flores que se producen, sólo se desarrolla una escasa cantidad de frutos, los cuales presentan un porcentaje de semillas que son inviables, debido a que no se desarrolla el embrión ni el endospermo, quizás por la ausencia de fecundación (Albarrán-Hernández, 2011). Estos resultados proporcionaron la pauta para investigar el proceso de desarrollo del gametofito femenino, la fecundación y la germinación en *F. parmentieri*, ya que en diversos estudios realizados en la familia Agavaceae mencionan anomalías durante su desarrollo, así como la presencia de semillas no viables, lo cual podría estar relacionado con la producción de este tipo de semillas (Nevis, 1927; Cappetelleti, 1927; en Regen, 1941; Panchaksharappa, *et al.*, 1965).

Antecedentes

El género *Furcraea*

El género *Furcraea* es endémico de América, se encuentra conformado por 25 especies (Álvarez de Zayas, 1986; en García-Mendoza, 2000) de las cuales, nueve son especies endémicas de México (Rocha *et al.*, 2006).

Este género se divide en dos subgéneros: *Flexiles* y *Furcraea*. El subgénero *Flexiles* incluye cuatro especies que son endémicas de México y Guatemala; se caracterizan por presentar semillas que producen plántulas de cotiledón largo, hojas con márgenes denticulados y ápice no mucronado, son plantas arborescentes y producen bulbilos foliosos, con hojillas coriáceas. El subgénero *Furcraea* contiene 21 especies, que se distribuyen desde México hasta Bolivia; las plantas son acaules, subacaules o arborescentes, sus hojas presentan márgenes dentados, enteros o dentado-enteros, el ápice es mucronado y córneo, las semillas producen plántulas de cotiledón corto y los bulbilos son bracteolados o foliosos con hojillas suculentas (García-Mendoza, 2001).

En el género, las inflorescencias son de tipo panícula, las flores son bisexuales, epíginas, campanuladas, con seis tépalos, de colores blanco-verdosos o blanco-amarillentos, con seis estambres, cuyos filamentos están engrosados en su región basal y un estilo grueso y triquetro, ovario ínfero, trilocular y tricarpelar,

con dos series de óvulos por lóculo y con placentación axilar (García-Mendoza, 2000).

El patrón de distribución del género es neotropical, presente entre los trópicos de cáncer y de capricornio, su límite de distribución continental abarca desde el norte de México, en el estado de Nayarit, continuando hacia el sur por Centroamérica y Sudamérica, hasta Bolivia y quizás Paraguay. En el Caribe se encuentran en todas las islas, desde las Bahamas hasta Trinidad y Tobago, así como en las islas Galápagos del océano Pacífico; colonizando ambientes que van desde las selvas bajas cauducifolias y selvas medianas subperennifolias, desde el nivel del mar, hasta bosques mesófilos de montaña y de *Pinus-Quercus*, entre 3000 y 3400 metros de altitud (García-Mendoza, 2000).

Biología reproductiva del género

Las especies del género *Furcraea* son monocárpicas y de vida longeva; la floración ocurre después de varios años, en los que la planta acumula sustancias de reserva, debido al alto costo energético que ésta conlleva. Se estima que las especies no arborescentes florecen entre los 8 y 15 años de edad, mientras que las especies arborescentes pueden hacerlo a los 50 años y quizás hasta los 80 y 100 años (García-Mendoza, 2000). En *F. parmentieri* se realizó una estimación aproximada de las edades en que se reproducen algunos individuos. En plantas juveniles la edad se estima entre los 49 y 56 años, que presentan una altura de 50

cm a 1 m. En plantas adultas, con edades que van desde de 60 a 90 años, con una altura de la planta mayor de 6 m (Hernández-Pedrero, 2009).

Una característica interesante, es que algunas de las especies del género *Furcraea*, presentan eventos de reproducción masiva, seguido de varios años en los que no se presenta una inflorescencia (García-Mendoza *com pers.* en Hernández-Pedrero, 2009). Se estima que la periodicidad probable de floración ocurre cada 10 años para *F. parmentieri* (Hernández-Pedrero, 2009; Albarrán-Hernández, 2011). Sin embargo, no se conocen los factores que disparan la floración, pero posiblemente se relacionan con la temperatura, fotoperiodo y lluvias abundantes durante los años anteriores a este evento (García-Mendoza, 2000).

En el género se han determinado tres periodos de floración: 1) en la época de lluvia (abarca de junio-septiembre), 2) época de secas (febrero-abril) y 3) todo el año. Se observó que *Furcraea acaulis*, *F. antillana*, *F. cubaya*, *F. cahum*, *F. guatemalensis*, *F. geminispina*, *F. ixtli*, *F. parmentieri* y *F. pubescens* florecen en la época de lluvias, ésta comprende de tres a cinco meses; sin embargo, en *F. cubaya* y *F. parmentieri* no se presenta un patrón claro, ya que puede iniciarse en temporada de secas y proseguir durante la época de lluvias hasta septiembre y octubre. Los frutos maduros se presentan hacia finales de año y la dispersión de semillas ocurre en los meses de poca precipitación (García-Mendoza, 2001).

Reproducción

Durante la reproducción sexual, los individuos de *F. parmentieri* desarrollan una inflorescencia durante varios meses que alcanza grandes dimensiones (3 a 12 m), las cuales pueden ser densas o laxas. Las inflorescencias densas son muy ramificadas y presentan un mayor número de flores, tal es el caso de *Furcraea longaeva* que produce alrededor de 58,000 flores (García-Mendoza, 2001) y *F. parmentieri* con 17,500 flores (Albarrán-Hernández, 2011). Otras especies con este tipo de inflorescencia son *F. martinezii*, *F. guatemalensis* y *F. macdougallii*. En contraste, las inflorescencias laxas presentan un menor número de ramificaciones y flores, como es el caso de *F. quicheensis*, con 3,000 flores (García-Mendoza, 2001).

A pesar de la gran cantidad de flores que se producen por planta, únicamente se desarrolla una baja cantidad de frutos (4-30) y semillas, por lo que muchas de las especies en este género se reproducen asexualmente. Junto a las flores no polinizadas se desarrollan bulbilos, que contribuyen a la formación clonal de las poblaciones. De las 25 especies del género, 23 presentan bulbilos y 15 de éstas se reproducen únicamente por esta vía; un claro ejemplo es la planta de *F. macdougallii* que produjo cuatro frutos y más de 15,000 bulbilos (García-Mendoza, 2001).

Para *Furcraea parmentieri*, también se reporta una baja producción de frutos, hecho en el que los factores de polinización, especialmente la polinización cruzada juega un papel importante, que se refleja en una mayor obtención de

frutos. También con la polinización geitónogámica se pueden producir frutos, pero la posibilidad de que éstos concluyan su desarrollo es baja. Adicionalmente para esta especie se reporta una abundante producción de bulbilos (Albarrán-Hernández, 2011).

Esto significa que los vectores de polinización son necesarios para la producción de frutos y semillas, sin embargo, en cuanto al género *Furcraea* se conoce poco acerca de los polinizadores. Estudios realizados en *Furcraea parmentieri*, indican que estas plantas no presentan un polinizador específico y son visitadas por una gran variedad de especies nocturnas, de palomillas y polillas de las familias *Noctuidae*, *Geometridae*, *Sphingidae* y especies diurnas que comprenden dos géneros de colibríes, *Hylocaris* y *Cynanthus*, al igual que abejas, avispas y moscas. La producción de néctar es mayor por la mañana (1.34 µl) y presenta un 28% de concentración de azúcares. No obstante, la frecuencia de visitantes es baja y se refleja en un transporte deficiente del polen (Albarrán-Hernández, 2011).

Caracteres embriológicos en la familia Agavaceae y el género *Furcraea*

- Gineceo

Para la familia Agavaceae, Jorhi *et al.* (1992), proponen que el óvulo es anátropo, bitégmico y crasinucelado; la célula madre de la megaspora se divide, originando una tétrada lineal de megasporas, en la cual la megaspora calazal dará origen al saco embrionario de tipo *Polygonum*. Los núcleos de la célula central se fusionan

antes de la fecundación. En cuanto a características de la fecundación, no hay información de cómo se realiza la entrada del tubo polínico al óvulo.

El desarrollo del endospermo para la familia es helobial, pero en el género *Furcraea* el desarrollo del mismo puede ser nuclear (Dalhgren *et al.*, 1985).

- Androceo

Para la familia Agavaceae se describe que la antera se encuentra compuesta por la epidermis, el endotecio fibroso, una capa media y el tapete de tipo secretor (Jorhi *et al.*, 1992). La microporogénesis es sucesiva (Panchaksharappa *et al.*, 1965) y los granos de polen son monocarpados y la exina es tectada-perforada y se dispersan en tétradas tetragonales (Álvarez y Köhler, 1987).

En varios miembros de la familia Agavaceae, se ha reportado esterilidad en los gametofitos femenino y masculino; provocando que esto sea una de las causas de baja fertilidad que se refleja en una menor producción de frutos y semillas. Tal es el caso de *Agave virginica* (Regen, 1941) y *A. chloracantha* (Cappetelleti, 1927 en Regen, 1941) que produce algunos óvulos estériles. En *A. fourcroydes* y *A. angustifolia* se presentan fallas durante el desarrollo del gametofito masculino y femenino, principalmente en la meiosis (Piven *et al.*, 2001).

Este mismo acontecimiento ocurre en algunas especies del género *Furcraea*, como en *F. andina* donde se observaron varias flores que se marchitaban prematuramente. El estudio del desarrollo del gametofito femenino puso en evidencia la degeneración del saco embrionario en varios óvulos que conllevaba a una baja producción de semillas (Nevins, 1927). Similar es el caso de

F. gigantea; ésta planta no produce semillas debido a que los óvulos degeneran al alcanzar la madurez, provocando que únicamente se reproduzca asexualmente por medio de la formación de bulbilos (Panchaksharappa *et al.*, 1966).

Panchaksharappa *et al.*, (1965), mencionan que se presenta esterilidad del polen en *Furcraea gigantea*, *F. hexapetala*, *F. macrophylla* y *F. altissima*, mientras que Albarrán-Hernández (2011), describe que los granos de polen analizados en *F. parmentieri* son viables.

Características de las semillas

Los pocos frutos que se desarrollan durante la reproducción en diversas especies del género *Furcraea*, contienen una gran cantidad de semillas. Algunos conteos promedio indican que *Furcraea cahum* presenta 268 semillas por fruto, *F. martinezii*, 280 (García-Mendoza, 2001), *F. parmentieri*, 207 y el número de óvulos se corresponde con el número de semillas encontradas en el fruto (Albarrán-Hernández, 2011).

Las semillas del género son planas, asimétricas, de formas plano-convexas y se encuentran rodeadas por una pequeña ala de color negro brillante. Tienen fitomelano en la testa, la cual se encuentra compuesta de 3-20 estratos de células; este tipo de semillas pigmentadas son viables, a diferencia de las semillas que no se pigmentan y presentan una coloración blanquecina (García-Mendoza, 2001). *Furcraea parmentieri* presenta un cierto porcentaje de semillas no viables en sus frutos, las cuales carecen de embrión, endospermo y pigmento; pero los efectos

de la polinización (geitonogamia, polinización cruzada y control abierto) no afectan la proporción de semillas viables en el fruto, ni al peso de las mismas (Albarrán-Hernández, 2011).

El embrión tiene una orientación paralela, las sustancias de reserva están constituidas por carbohidratos proteínas y lípidos (De la Rosa, 2010).

Germinación y plántulas

En el género *Furcraea* la germinación es epígea; ésta presenta un buen porcentaje de viabilidad en sus semillas, lo cual se correlaciona con la edad de las mismas y el efecto de la temperatura en la germinación, como es el caso de *Furcraea pubescens* que alcanzó un 100% de germinación, *F. cahum*, 95%, *F. longaeva*, 95% (García-Mendoza, 2001) hasta un 100% (De la Rosa, 2010), *F. parmentieri*, 98%. Albarrán-Hernández (2011) menciona que las semillas presentan el mismo porcentaje de germinación, sin importar el tratamiento de polinización del que provienen.

En el género *Furcraea* hay dos tipos de plántulas, las de cotiledón corto, presentes en *Furcraea cahum*, *F. guatemalensis*, *F. macdougallii* y *F. pubescens*, las cuales durante la germinación, se determinan porque la radícula no surge por la región micropilar, la raíz crece profusamente, las hojas emergen y se desarrollan rápidamente, son de tipo laminar y la cubierta seminal no se eleva del sustrato. El otro tipo de plántulas son las de cotiledón largo y corresponden a *Furcraea martinezii*, *F. parmentieri*, *F. quicheensis* y *F. longeva*, estas últimas se

caracterizan porque la radícula emerge de la región micropilar, la raíz no se desarrolla profusamente, las hojas nacen tardíamente con respecto a las plantas de cotiledón corto, son lineares y tienen forma de “v”, en sección transversal. La cubierta seminal es llevada por el crecimiento del cotiledón (García-Mendoza, 2001).

Importancia de la familia Agavaceae y el género *Furcraea*

Dentro de la familia Agavaceae, 39 especies se encuentran enlistadas en la Norma Oficial Mexicana NOM-059-ECOL-2010, entre ellas se encuentran dos especies del género *Furcraea*. Una de ellas es *Furcraea macdougallii* bajo la categoría de especie endémica y probablemente extinta en el medio silvestre; la otra es *Furcraea parmentieri*, en la categoría de especie endémica y amenazada (SEMARNAT, 2010).

En general, muchas especies de la familia Agavaceae presentan un gran potencial económico, ya que se obtienen varios recursos, como la extracción de fibras (Rocha *et al.*, 2006), esteroides, la fabricación de bebidas alcohólicas y su uso como plantas ornamentales.

Específicamente las plantas del género *Furcraea* fueron muy valoradas por los horticultores durante los siglos XVIII, XIX y principios del siglo XX siendo introducidas a los mercados de Europa (García-Mendoza, 2003).

Objetivo general

Indagar las causas que permitan explicar la presencia de semillas no viables en los frutos de *Furcraea parmentieri*, mediante el estudio del desarrollo del óvulo (la megasporogénesis y la megagametogénesis), la fecundación y la formación de la semilla.

Objetivos particulares

Gineceo

- Describir el desarrollo del óvulo.
- Describir la megasporogénesis y la megagametogénesis.
- Describir la morfología del estilo y el estigma.
- Describir la germinación del grano de polen y el recorrido del tubo polínico hasta el óvulo.
- Determinar el tipo de desarrollo del endospermo y su presencia en semillas viables y no viables.

Semillas

- Cuantificar la cantidad de semillas viables y no viables en el fruto próximo a la dehiscencia.

- Averiguar si existe una relación posicional entre las semillas viables (negras) y no viables (blancas), dentro del fruto.
- Describir la estructura morfológica de las semillas no viables (blancas) y viables (negras), durante el desarrollo del fruto.
- Determinar la tasa de germinación de las semillas.
- Describir el desarrollo de la plántula durante primeros dos meses de vida.

Materiales y métodos

Zona de colecta

Durante el 2011 se colectaron diferentes etapas de botones florales, flores y frutos de *F. parmentieri*, en los alrededores del Volcán Xitle, al sur del Distrito Federal, en la delegación Tlalpan, N 19.265552°, W 99.20667°, Altitud 2651m (Fig. 1).

Esta zona presenta suelos de origen volcánico, con un pH ácido. La zona presenta un clima C (w)(w)(b´), subhúmedo, con precipitación en verano. La temperatura media anual es de 14.7°C, con una mínima de 11.9°C en el mes de enero y una máxima de 16.9°C en mayo. La precipitación anual es de 910mm de la cual el 92.2% cae en la temporada de lluvias. La vegetación de la zona corresponde a bosque de pino-encino, las especies dominantes son *Pinus pseudostrobus*, *Quercus laurina*, *Q. rugosa*, *Arbutus xalapensis* y en el estrato herbáceo domina la gramínea *Muhlenbergia macroura* (Hiroishi, 1974; Benitez-Badillo, 1986; Castillo-Agüero *et al.*, 2007).

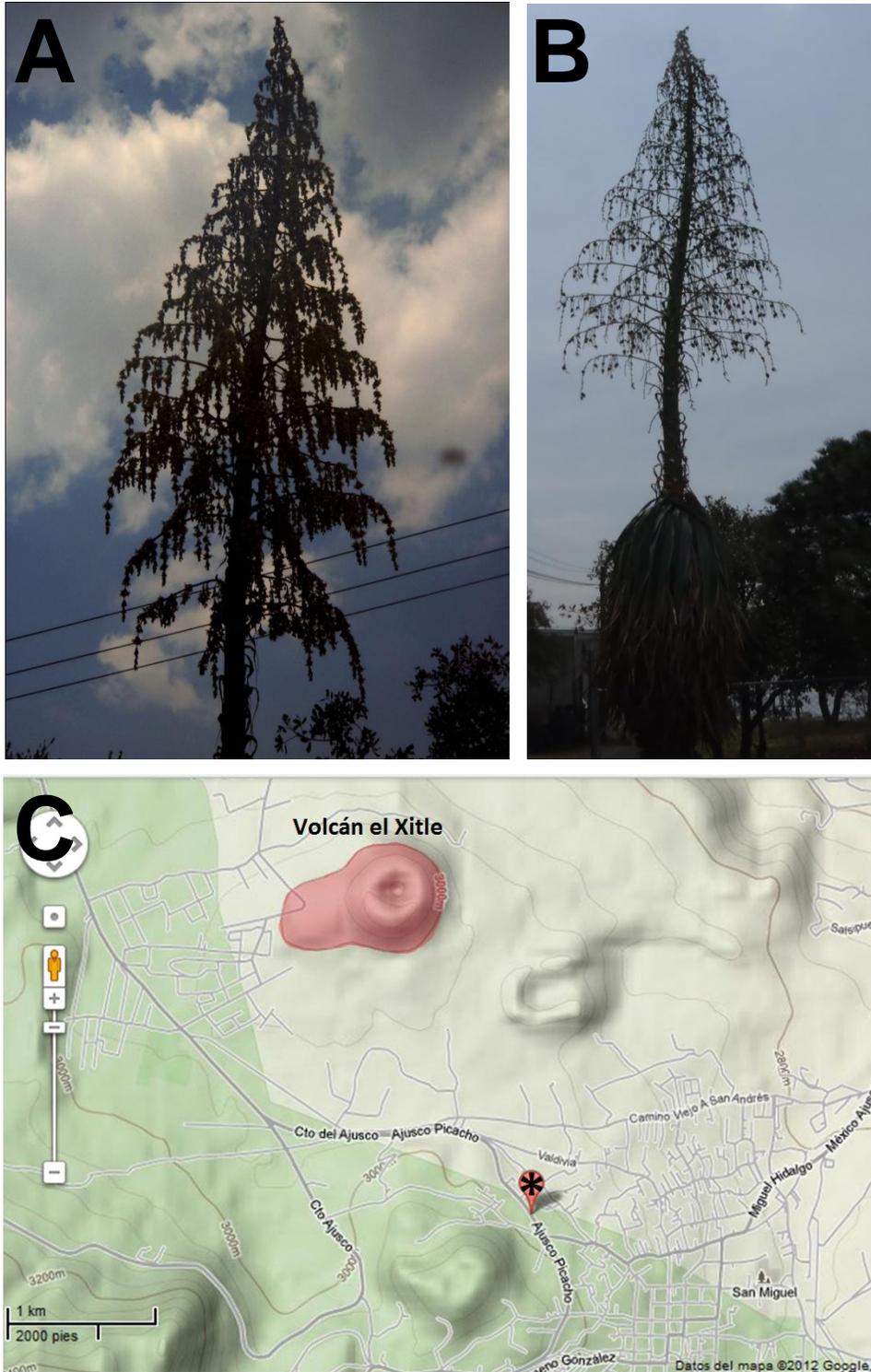


Figura 1. *Furcraea parmentieri*. **A)** inflorescencia con gran cantidad de flores. **B)** inflorescencia con frutos y bulbilos. **C)** Mapa de ubicación del Volcán Xitle (Google, 2012); el asterisco indica el sitio de la colecta.

Procesamiento del material vegetal

Los botones florales, flores en antesis, posantesis y los frutos, fueron fijados en FAA (formol, ácido acético, etanol al 96% y agua, 1:5:0.5:3.5) durante un mínimo de 24h; para eliminar el exceso de fijador, las muestras se lavaron con agua y se llevaron hasta alcohol al 70%.

- Inclusión en paraplast

En el laboratorio el material fue deshidratado una serie gradual de etanoles (70%, 85%, 96%, 100%), durante una hora en cada uno y posteriormente se pasaron a soluciones de etanol 100%-xilol (1:1) por una hora, xilol puro por 20 min, xilol-paraplast (1:1) por 12 h y finalmente paraplast puro durante 24 h a 60°C. Las muestras se colocaron en un molde para su solidificación. Los cortes se hicieron a 9 µm de grosor con el microtomo de rotación (American optical 820).

- Tinción

Los cortes se desparafinaron en la estufa a 60°C alrededor de una hora y se llevaron a tres cambios de xilol; uno de etanol 100% y otro de etanol al 96%, durante tres minutos en cada uno. Los cortes se tiñeron, con safranina-metilcelosolve-verde rápido-metilcelosolve (López *et al.*, 2005).

- Tinción para la detección de calosa

Los cortes se desparafinaron en la estufa a 60°C alrededor de 1 hora, posteriormente se llevaron a tres cambios de xilol, y una serie gradual de etanoles, 100%, 96%, 85%, 70%, 50%, 30% y agua, durante 3 min en cada uno. En obscuridad, a los cortes se les coloca una gota de azul de anilina, y se observan bajo el microscopio de fluorescencia (Olympus-Provis AX750).

- Inclusión en LR-White

El material se deshidrató en una serie gradual de etanoles (70%, 96% y 100%), durante una hora en cada uno y serie gradual de LR-White-etanol 100% 1:2, 1:1, 2:1, en una hora en cada uno, finalizando con dos cambios de LR-White puro, durante una hora, por cada cambio. Las muestras se colocaron en cápsulas de gelatina para polimerizar el LR-White en la estufa a 60°C, durante 12 h. Los cortes de 1-1.5 µm de grosor se realizaron en el ultramicrotomo JMC-MT 990, utilizando cuchillas de vidrio y se tiñeron con azul de toluidina al 0.5%.

- Microscopía electrónica de barrido

En el microscopio electrónico de barrido se observó el desarrollo de los óvulos, la estructura del estigma, el estilo, los granos de polen, así como semillas negras y blancas. Para ello el material se deshidrató en una serie gradual de etanoles (70%, 85%, 96%, 100%), durante una hora en cada uno. Las muestras se llevaron a punto crítico con CO₂ y se montaron en porta muestras se cubrieron con una fina capa de oro. Del material observado se tomaron electrónmicrografías.

Cuantificación de semillas por fruto y germinación

En un total de 14 frutos se determinó el porcentaje de semillas no viables (blancas) y viables (negras), así como su ubicación en el fruto próximo a la dehiscencia.

Para determinar la distribución de las semillas blancas en el fruto, éste se seccionó en tres regiones (tomando como límite regional la ausencia de semillas blancas), A) apical (semillas blancas que se ubican hacia la región estilar del fruto) B) central (semillas en la región central del fruto) y C) basal (semillas ubicadas hacia la región pedicelar del fruto) Se cuantificó el tipo de semillas presentes en cada región (Fig.2).

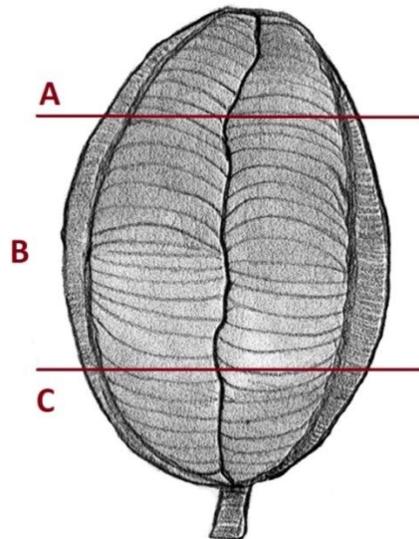


Figura 2. Delimitación de las regiones donde se distribuyen las semillas en el fruto.

– Análisis estadísticos

Los resultados se presentan como el promedio \pm el error estándar de la media. Se realizó la prueba estadística de ANOVA, para determinar si la cantidad de semillas no viables, presentes en cada una de las regiones del fruto era similar, o si éstas se presentan con mayor frecuencia en alguna de las tres regiones.

– Germinación de semillas

Se germinaron en cajas petri con papel humedecido, un total de 140 semillas de cada tipo (blancas y negras). Se colocaron 20 semillas de cada tipo por caja. Las semillas se mantuvieron en condiciones de laboratorio $\pm 23^{\circ}\text{C}$. Se cuantificó el porcentaje de germinación.

Las semillas germinadas se dejaron crecer y describieron las características de las plántulas, desde los primeros días, hasta alcanzar dos meses de vida.

Resultados

Morfología floral

Las flores de *Furcraea parmentieri* son bisexuales; los verticilos que conforman a la flor constan de seis tépalos; el androceo está compuesto por seis estambres con el filamento engrosado en su base; el gineceo es sincárpico, tricarpelar y trilocular, ovario ínfero, con dos hileras de óvulos por lóculo. Un estilo que se encuentra ensanchado en su base conformado por tres costillas y un estigma que se encuentra ligeramente trilobulado (García-Mendoza, 2000) (Figs.3B, C, D).

Para este estudio se establecieron catorce etapas florales, que van desde el botón, hasta la flor en anthesis, las cuales se determinaron, tomando como criterio la longitud del botón floral y el diámetro del ovario. Las etapas florales se correlacionan con el grado del desarrollo del gametofito femenino (Tabla 1).

La primera etapa del botón floral presenta en promedio, una longitud de 3-9 mm de diámetro en el ovario; los botones florales continúan en constante crecimiento y diferenciación de sus verticilos. La flor madura (anthesis) en promedio presenta 32 mm de longitud y 5 mm de diámetro en el ovario. Aproximadamente a partir de la etapa nueve en adelante, la longitud de la flor y el diámetro del ovario no varían mucho, sin embargo, los óvulos continúan diferenciándose (Fig. 3E).

Al comienzo de la formación del fruto, el ovario de la flor se ensancha hasta que alcanza la morfología de un fruto maduro, el cual crece constantemente en

tamaño, hasta alcanzar un promedio de 42 mm de longitud y 30 mm de diámetro (Fig. 3F).

Tabla 1. Etapas florales en relación con el desarrollo del ovario y gametofito femenino.

Etapa del botón floral	Longitud botón floral (mm)	Diámetro del ovario (mm)	Desarrollo del gametofito
1	9	3	Primordio del óvulo
2	11	3	
3	11	3.5	Célula madre de la megaspora
4	15	4	
5	19	4	Diada de megasporas
6	22	4	Tétrada de megasporas
7	24	4	
8	27	4.5	Megaspora funcional
9	30	5	Saco embrionario, núcleos polares
10	31	5	
11	31	5	
12	32	5	
13	32	5	Saco embrionario maduro, núcleos polares fusionados
14	32	5	

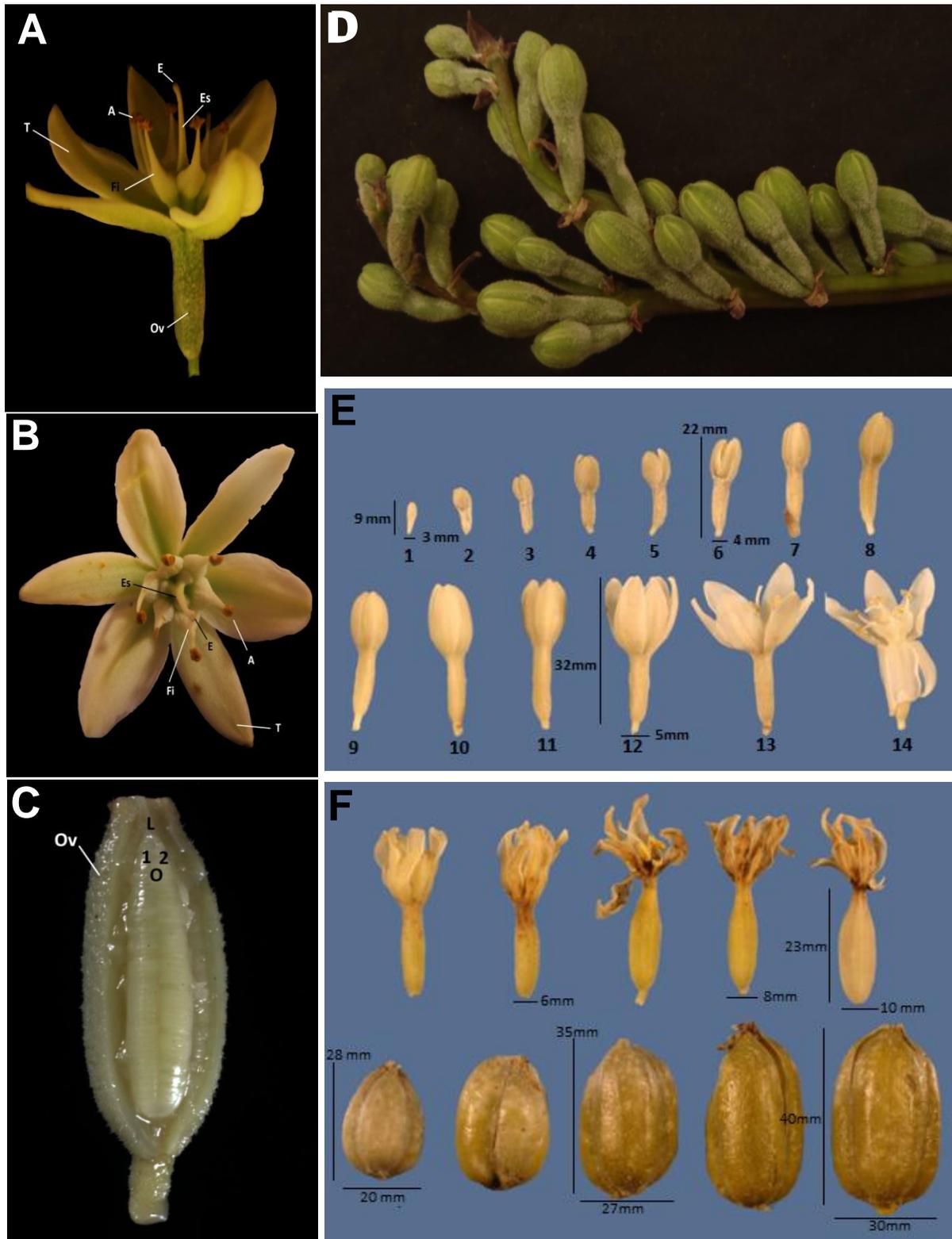


Figura 3. Flores y frutos de *Furcraea parmentieri*. **A), B)** Flores en antesis exponiendo sus verticilos. **C)** Ovario disecado longitudinalmente, se observan dos hileras de óvulos por lóculo. **D)** Parte de una inflorescencia fresca mostrando los botones florales en diferente grado de desarrollo. **E)** Etapas florales establecidas que van desde el botón floral hasta la flor en antesis. **F)** Etapas florales en post-antesis, hasta la formación del fruto. **A.** Antera; **E.** Estigma; **Es.** Estilo; **Fi.** Filamento; **L.** Lóculo; **O.** Óvulos; **Ov.** Ovario; **T.** Tépalos.

Desarrollo del óvulo, megasporogénesis y megagametogénesis

En el interior de cada uno de los carpelos, los primordios del óvulo comienzan a diferenciarse como una pequeña protuberancia de células, que surgen de la placenta axial del ovario, posteriormente estas células continúan multiplicándose, presentando divisiones mitóticas, conformando el tejido nucelar, limitado por una capa de células protodérmicas (Fig. 4A, B).

En el interior de la nucela, la célula arquesporial se divide mitóticamente, forma a la célula madre de la megaspora y a la célula parietal, por lo cual el óvulo es crasinucelado (Fig. 4C, D); en esta etapa se puede observar al funículo y tegumentos en desarrollo. El primordio del tegumento interno crece más rápido que el del tegumento externo, el cual apenas comienza a diferenciarse; ambos tegumentos presentan un origen epidérmico y el funículo es corto (Fig. 4E, F).

La célula madre de la megaspora aumenta de tamaño y presenta un núcleo evidente, se divide meióticamente generando dos células hijas (díadas), para esta etapa, el óvulo tiene una mayor curvatura y la capa parietal presenta más estratos (Fig. 5A, B).

Posteriormente las células de las díadas presentan la segunda división meiótica, dando lugar a una tétrada lineal de megasporas (Fig. 5C). Cada megaspora se encuentra rodeada por una pared de calosa (Fig. 5D). En esta etapa floral los tegumentos continúan desarrollándose, donde el tegumento extremo se hace más evidente y funículo comienza a curvarse (Fig. 5E).

La megaspora calazal es la funcional y dará origen al saco embrionario de tipo monospórico; las otras tres megasporas ubicadas hacia la región micropilar degeneran (Fig. 5F). La megaspora funcional presenta tres divisiones mitóticas consecutivas y da lugar a un saco embrionario de tipo *Polygonum*. Para estas etapas, el óvulo ya presenta las características de un óvulo anátropo, el cual durante su desarrollo, comienza a orientarse de manera curva, hasta que el micrópilo queda próximo al funículo; la cálaza se encuentra en el extremo opuesto y el saco embrionario se encuentra en posición recta.

El saco embrionario maduro presenta forma piriforme. En extremo calazal que es estrecho se posicionan tres antípodas, éstas persisten hasta la fecundación (Fig. 6A, B, C, E). En la región micropilar se posicionan dos sinérgidas, estas se encuentran presentes hasta la antesis (Fig. 6A, B, D, E, F); en las sinérgidas se observa el aparato filiforme (Fig. 7A). La ovocélula se encuentra posicionada por arriba de las sinérgidas; las dos sinérgidas y la ovocélula conforman el aparato del huevo (Fig. 6B, D, E, F). La célula central posee dos núcleos polares (Fig. 6A, B), los cuales se fusionan antes de que ocurra la antesis (Fig. 6A, 6E).

El desarrollo de los óvulos, como el del gametofito, es asincrónico, desarrollándose más lentamente los posicionados hacia los extremos superior e inferior del ovario. El óvulo maduro es anátropo, funiculado, crasinucelado, bitégmico, endóstomo, de placentación axial. El funículo es recorrido por un haz vascular que termina en la región calazal (Fig. 7B, C, D). El óvulo presenta un

obturador originado del funículo, cuya función es facilitar la entrada del tubo polínico al óvulo (Fig. 7B, E, F).

En los óvulos que se estudiaron, pertenecientes a diversos ovarios, no se encontró ninguna anomalía en ninguna de las etapas de la megasporogénesis y megagametogénesis y tampoco se detectaron óvulos abortivos.

Adicionalmente se siguió el desarrollo de los óvulos que se encuentran ubicados en los extremos del ovario, ya que cuando se desarrollan en semillas, la mayor parte de estas no son viables (blancas). Se encontró que los óvulos ubicados en esta posición se desarrollan adecuadamente, llegando hasta la formación del saco embrionario con ocho núcleos y siete células; sin embargo, también se observó que estos óvulos presentan un tamaño mucho menor y su desarrollo presenta una asincronía ya que es más lento, en comparación a los óvulos ubicados en el centro del ovario (Fig. 2, posición A, C).

En etapas de fruto muy joven (pasada la fecundación), se pudo observar que algunos de los óvulos no presentan el ingreso del tubo polínico a través del micrópilo y tampoco presentan desarrollo del endospermo y embrión, lo que tal vez origina a las semillas vanas en el interior del fruto, debido a la ausencia de la fecundación.

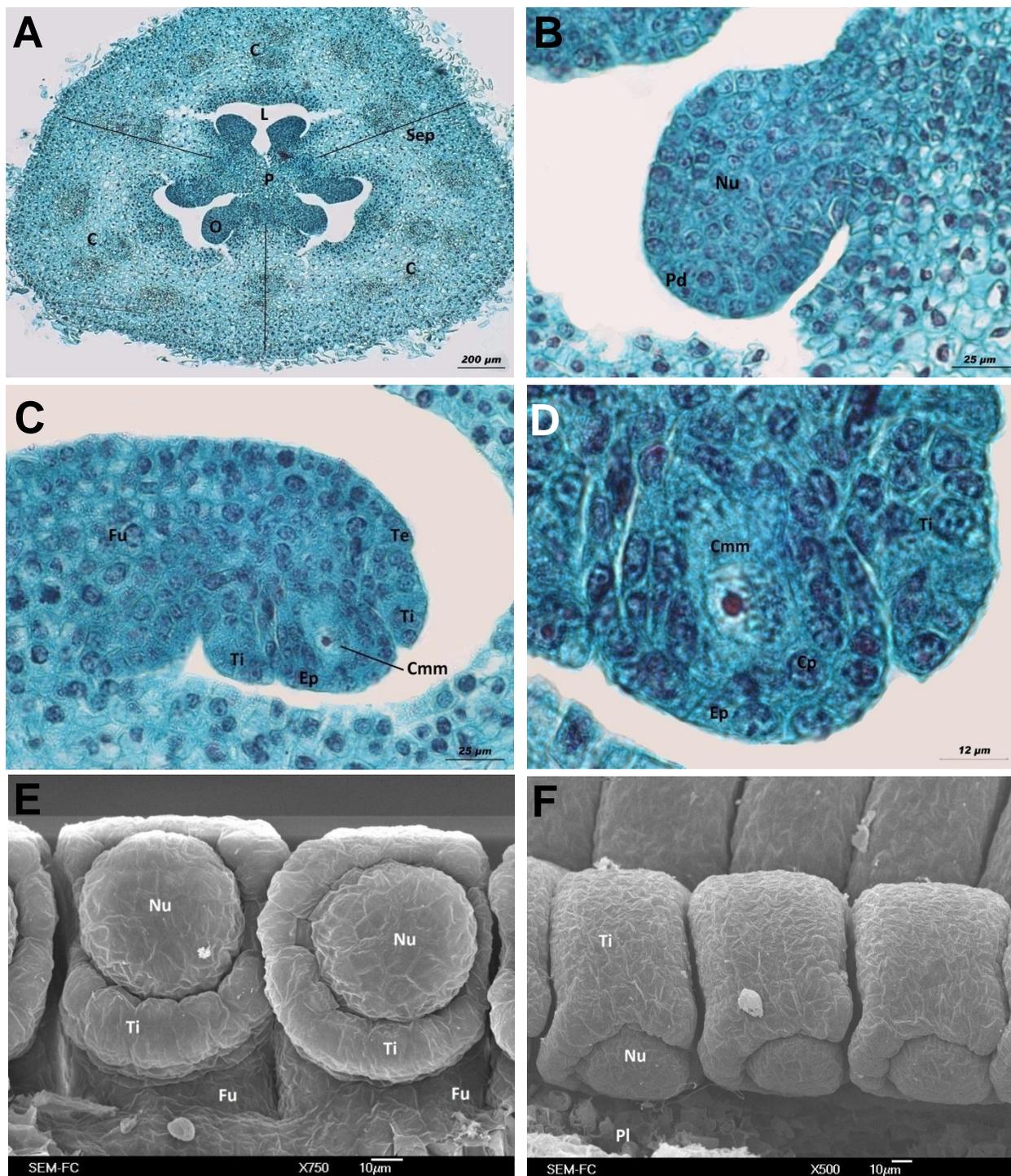


Figura 4. Megasporogénesis (parte 1). **A)** Corte transversal del ovario, con tres carpelos, tres lóculos, y seis primordios de óvulos que comienzan a desarrollarse a partir de la placenta axial. **B)** Primordio de óvulo con nucela en desarrollo, rodeada por la protodermis. **C)** Célula madre de la megaspora. **D)** Acercamiento a célula madre de la megaspora, la cual se posiciona por debajo de la epidermis y una capa parietal. **E)**(Vista frontal),**F)** (vista superior)Óvulos mostrando el desarrollo del tegumento interno que envuelve a la nucela (MEB). **C.** Carpelo; **Cmm.** Célula madre de la megaspora; **Cp.** Capa parietal; **Ep.** Epidermis; **Fu.** Funículo; **Nu.** Nucela; **P.** Placenta; **Sep.** Septo; **Te.** Tegumento externo; **Ti.** Tegumento interno.

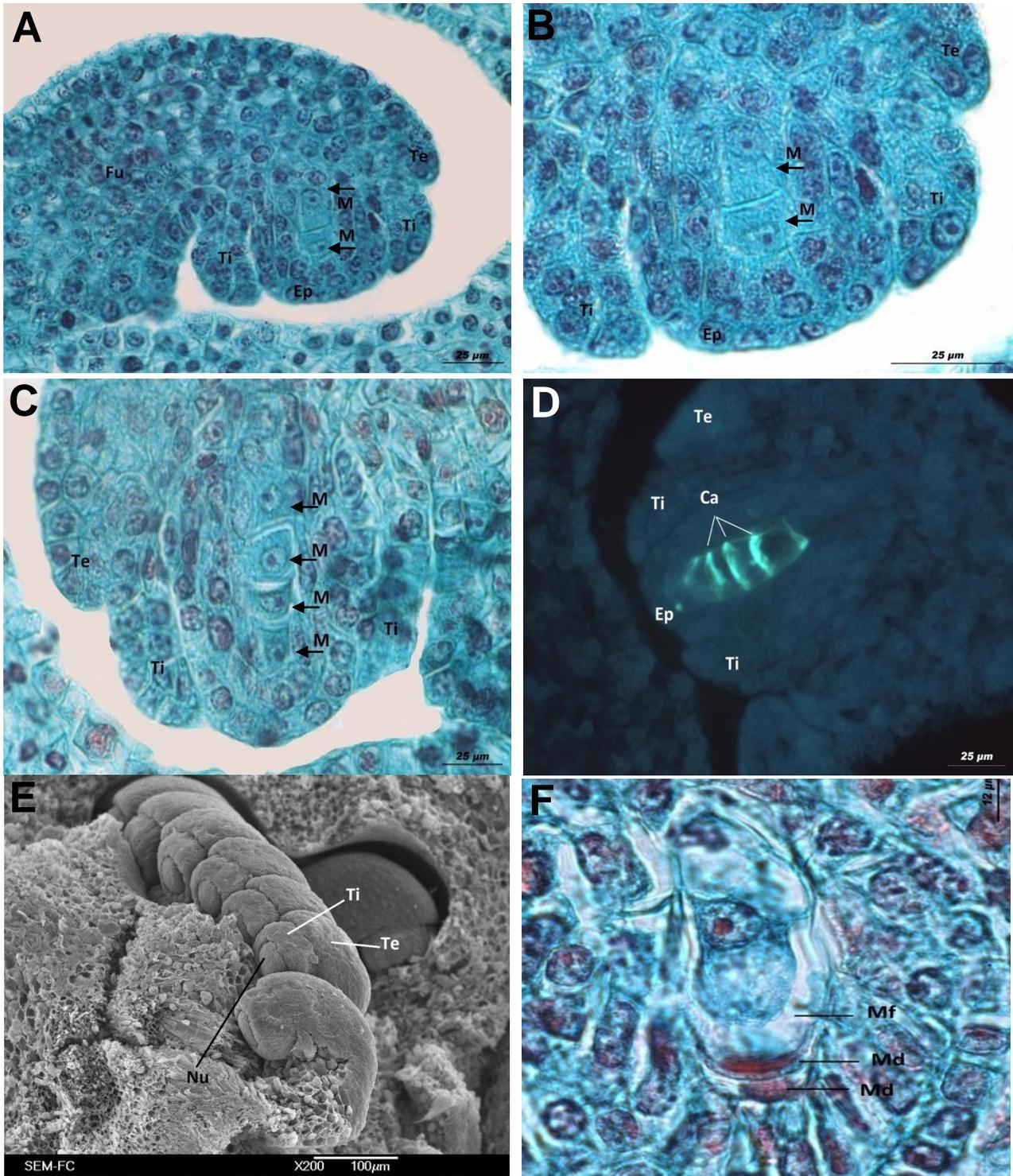


Figura 5. Megasporeogénesis (parte 2). **A)** Díada de megasporas, el tegumento interno continúa creciendo y el óvulo comienza a curvarse. **B)** Acercamiento a la díada de megasporas. **C)** Tétrada lineal de megasporas. **D)** Tétrada lineal de megasporas rodeada por la pared de calosa (fluorescencia). **E)** Óvulos en el que se muestra el desarrollo de ambos tegumentos (MEB). **F)** Degeneración de las megasporas ubicadas en la región micropilar. **Ca.** Calosa, **Ep.** Epidermis; **Fu.** Funiculo; **M.** Megaspora; **Md.** Megaspora degenerada; **Mf.** Megaspora funcional; **Te.** Tegumento externo; **Ti.** Tegumento interno.

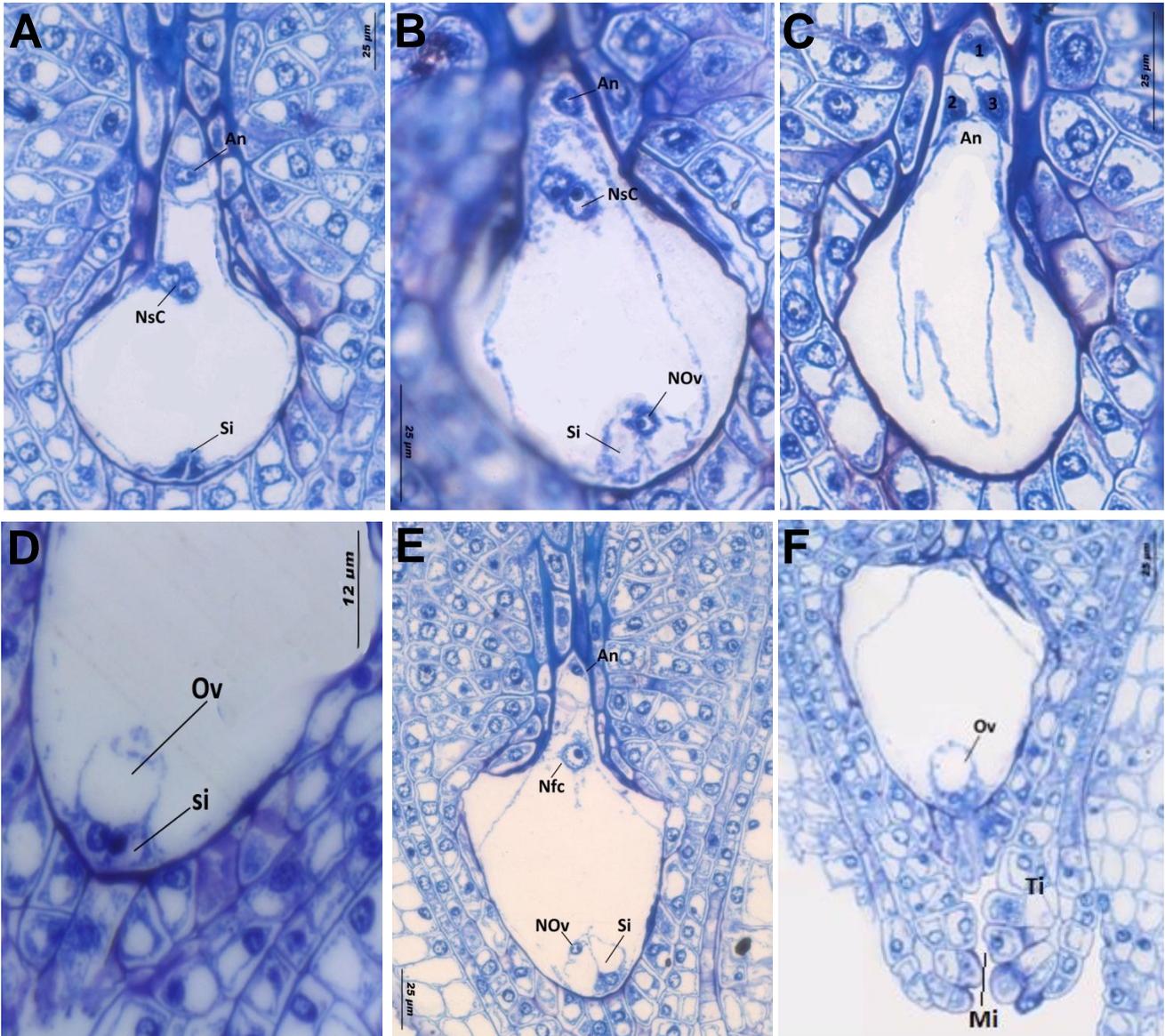


Figura 6. Megagametogénesis. **A)** Saco embrionario exponiendo los dos núcleos de la célula central. **B)** Saco embrionario constituido por los núcleos de la célula central, una antípoda, el núcleo de la ovocélula posicionada por arriba de las células de las sinérgidas. **C)** Tres antípodas posicionadas en la región calazal. **D)** Aparato de huevo, se observan dos núcleos de las sinérgidas y la ovocélula. **E)** Saco embrionario maduro, con los núcleos de la célula central se fusionan. **F)** Ovocélula y el micrópilo conformado por el tegumento interno. **An.** Antípodas; **Nfc.** Núcleo célula central; **NOv.** Núcleo de la ovocélula; **Nsc.** Núcleos de la célula central; **Mi.** Micrópilo; **Ov.** Ovocélula; **Si.** Sinérgidas. **Ti.** Tegumento interno.

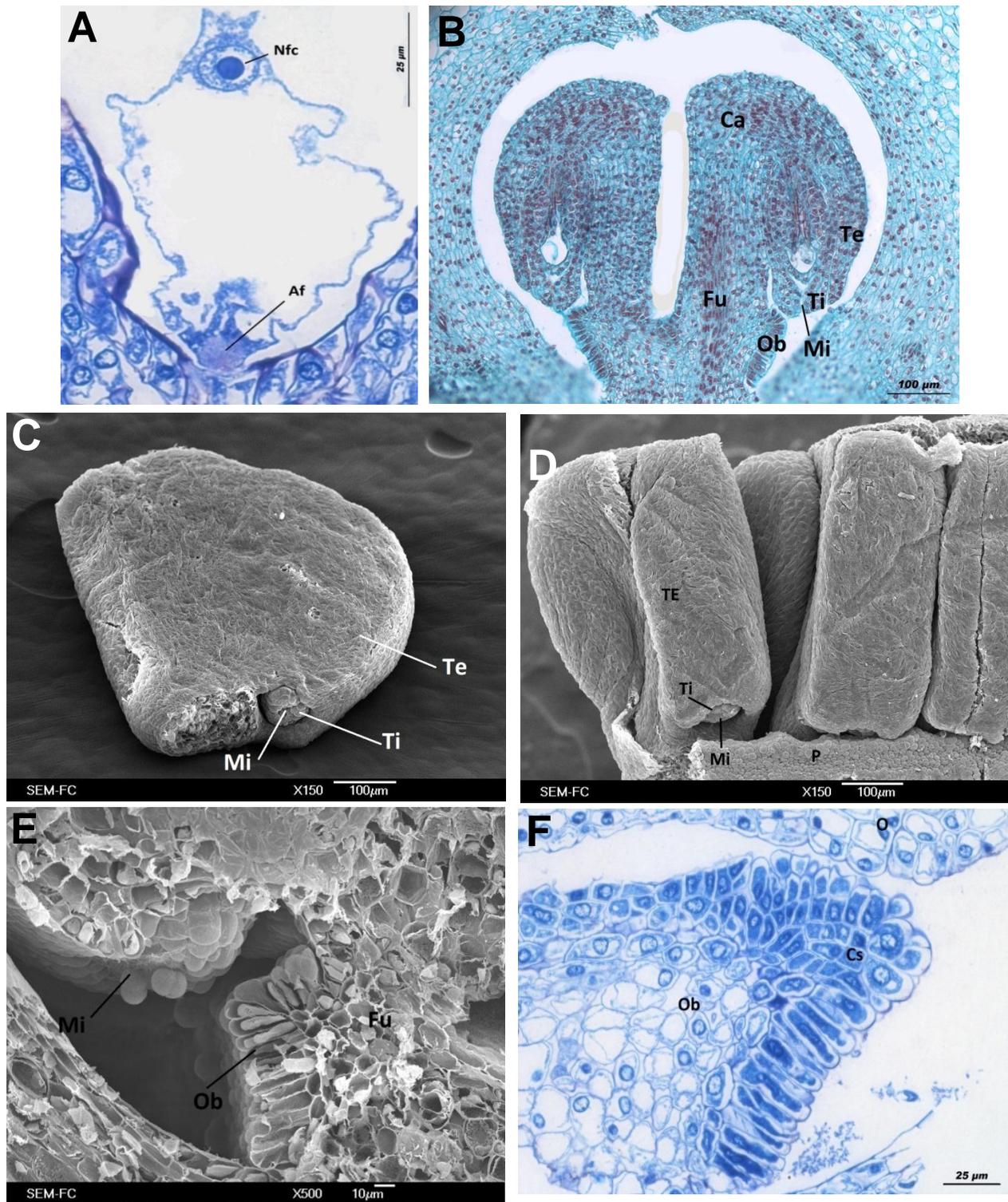


Figura 7. Óvulo maduro. **A)** Núcleos fusionados de la central y el aparato filiforme ubicado en la sinergida **B)** Lóculo con dos óvulos anátropos. **C)** Óvulo maduro, mostrando el tegumento externo, interno y el micrópilo (MEB). **D)** Óvulos alineados sobre el tejido placentario (MEB). **E)** Obturador (MEB). **F)** Células secretoras del obturador. **Af.** Aparato filiforme; **Ca.** Cálaza; **Cs.** Células secretoras; **Fu.** Funiculo; **Mi.** Micrópilo; **Nfc.** Núcleos de la célula central fusionados; **O.** Óvulo; **Ob.** Obturador; **P.** Placenta **Te.** Tegumento externo; **Ti.** Tegumento interno.

Morfología del estilo y del estigma

Durante etapas jóvenes del botón floral, el estilo de *Furcraea parmentieri* comienza a alargarse. En esta misma etapa la región estigmática apenas presenta papilas (Fig. 8A). En etapas cercanas a la antesis las papilas estigmáticas son más abundantes y alargadas obstruyendo el canal estilar; el estigma es ligeramente trilobulado (Fig. 8B).

El estilo en su base presenta tres costillas, las cuales se encuentran recubiertas por una abundante cantidad de papilas (Fig. 8C, D); en la parte superior del estilo se observó la presencia de estomas (Fig. 8E).

El estilo es de tipo hueco (Fig. 9A-D). El canal estilar se encuentra recubierto por aproximadamente tres estratos de células secretoras de mucílago, que presentan un citoplasma denso y un núcleo prominente (Fig. 9C, D).

Fecundación

Durante la antesis, el grano de polen de *F. parmentieri* es liberado en tétradas, éstas se posicionan sobre la superficie estigmática y una vez hidratadas germinan (Fig. 10A, B, C).

Mediante azul de anilina y microscopía de fluorescencia se observaron una gran cantidad de tubos polínicos que crecen a través del canal estilar. (Fig. 10D-G). Una vez que los tubos polínicos ingresan al ovario, recorren toda la longitud de

este hasta su base. Se desplazan a lo largo de la placenta axial, en la cual los óvulos se alinean (Fig. 11A-E). El obturador de cada óvulo facilita la entrada del tubo polínico. El tipo de fecundación que ocurre es porógama, ya que el tubo polínico ingresa por el micrópilo, que se encuentra conformado por el tegumento interno, para llevar a cabo la doble fecundación, donde uno de los núcleos espermáticos se une a los núcleos polares de la célula central, formando el núcleo primario del endospermo y el otro núcleo espermático se une con la ovocélula para formar el cigoto (Fig. 11F, G, H).

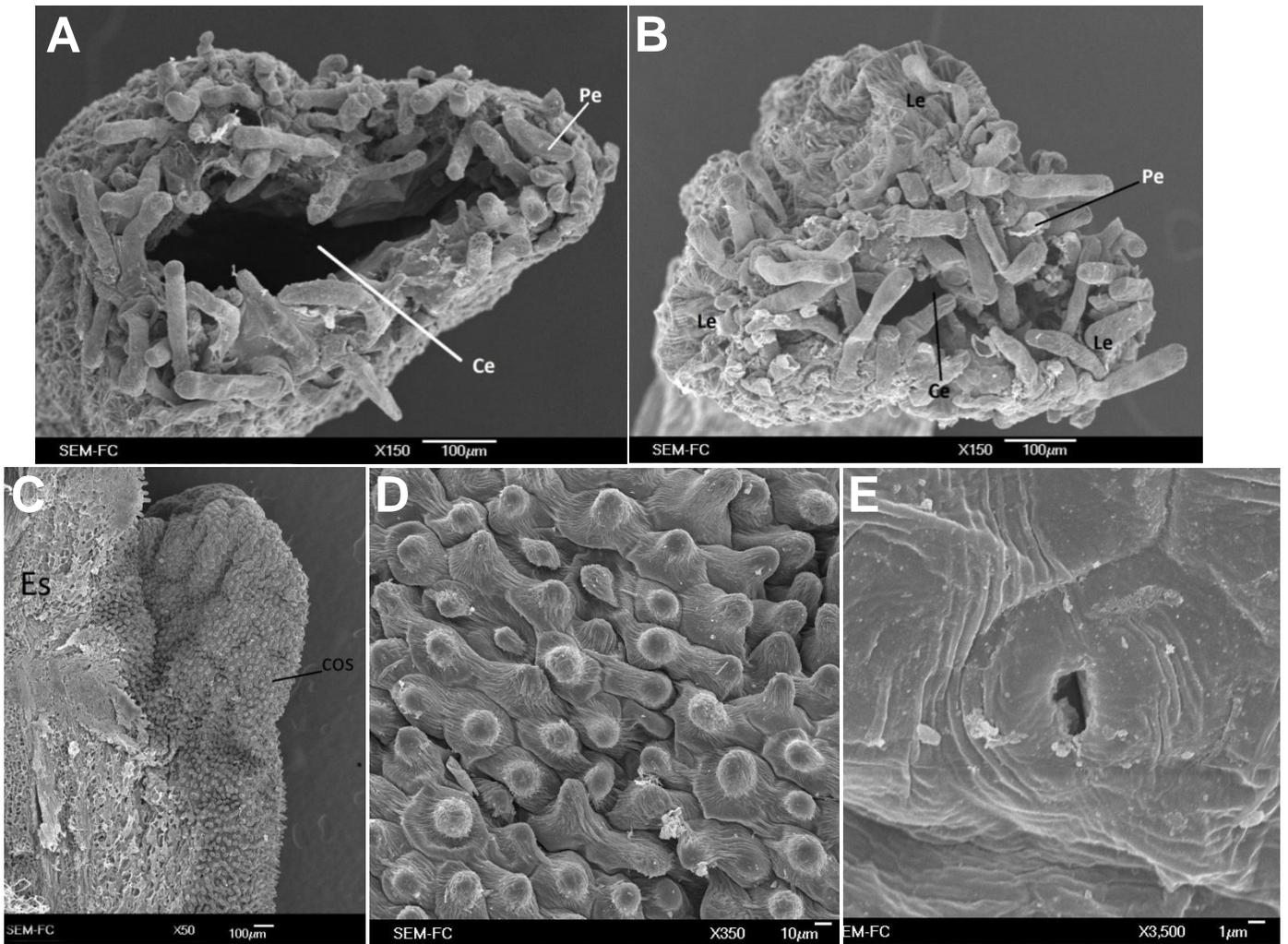


Figura 8. Morfología del estigma y el estilo (parte 1). **A)** Estigma en desarrollo, las papilas aún no cubren la cavidad estilar (MEB). **B)** Estigma maduro, ligeramente trilobulado y las papilas cubriendo la cavidad estilar (MEB). **C), D)** Costilla de la base del estilo, recubierto de papilas (MEB). **E)** Estoma en el estilo. **Ce.** Canal estilar; **Cos.** Costilla; **Es.** Estilo; **Le.** Lóbulo estigmático; **Pe.** Papila estigmática.

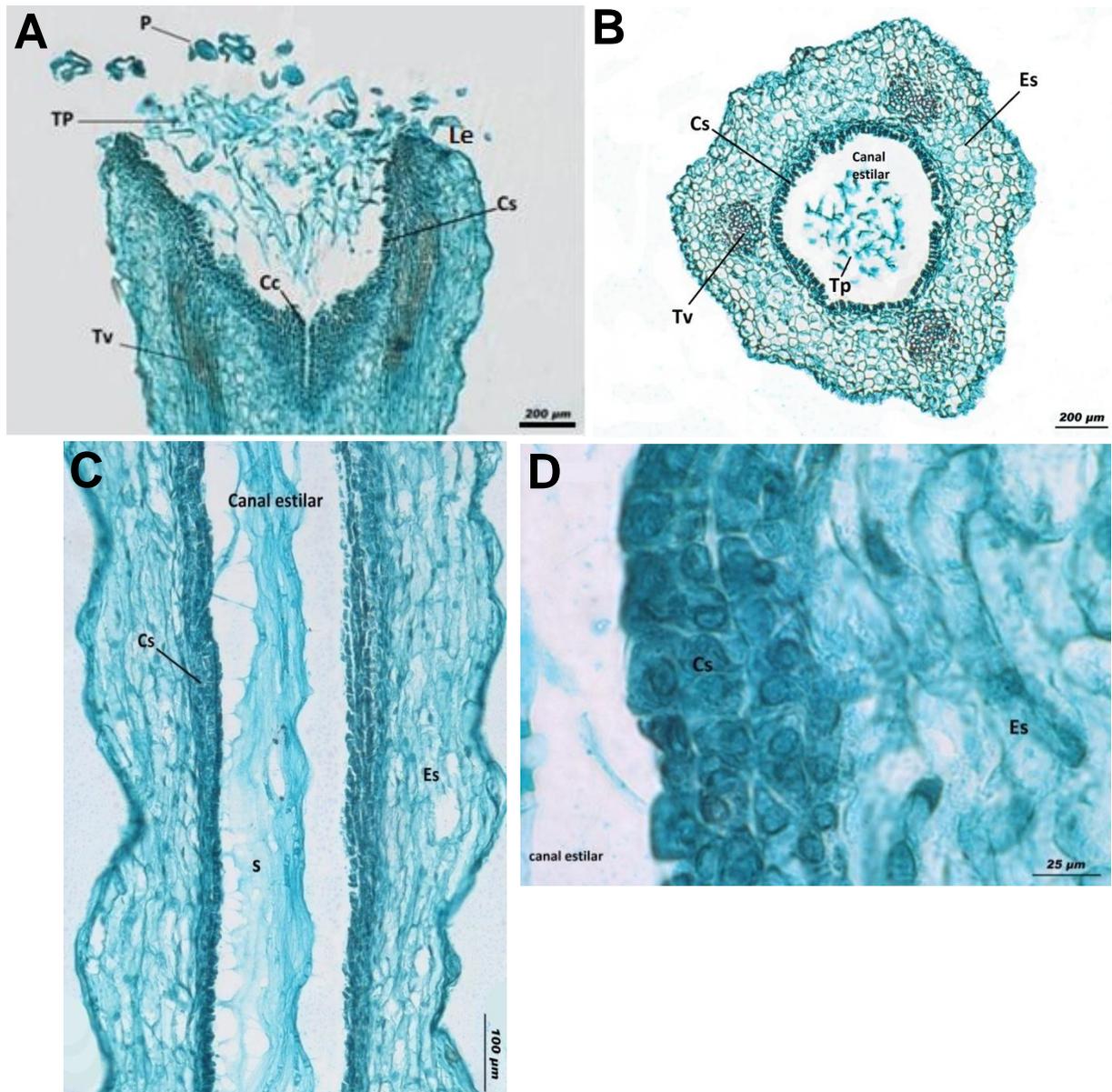


Figura 9. Morfología del estigma y el estilo (parte 2). **A)** Corte longitudinal del estigma, con células secretoras en su interior. **B)** Corte transversal del estilo hueco, recubierto por células secretoras que forman el canal. **C),D)** Corte longitudinal del estilo, se observa que la superficie interna está compuesta de tres estratos de células secretoras. **Cc.** Cavidad central; **Ce.** Canal estilar; **Cs.** Célula secretora; **Es.** Estilo; **Le.** Lobulo estigmático; **P.** Polen; **Tp.** Tubo polínico; **S.** Secreción; **Tv.** Tejido vascular.

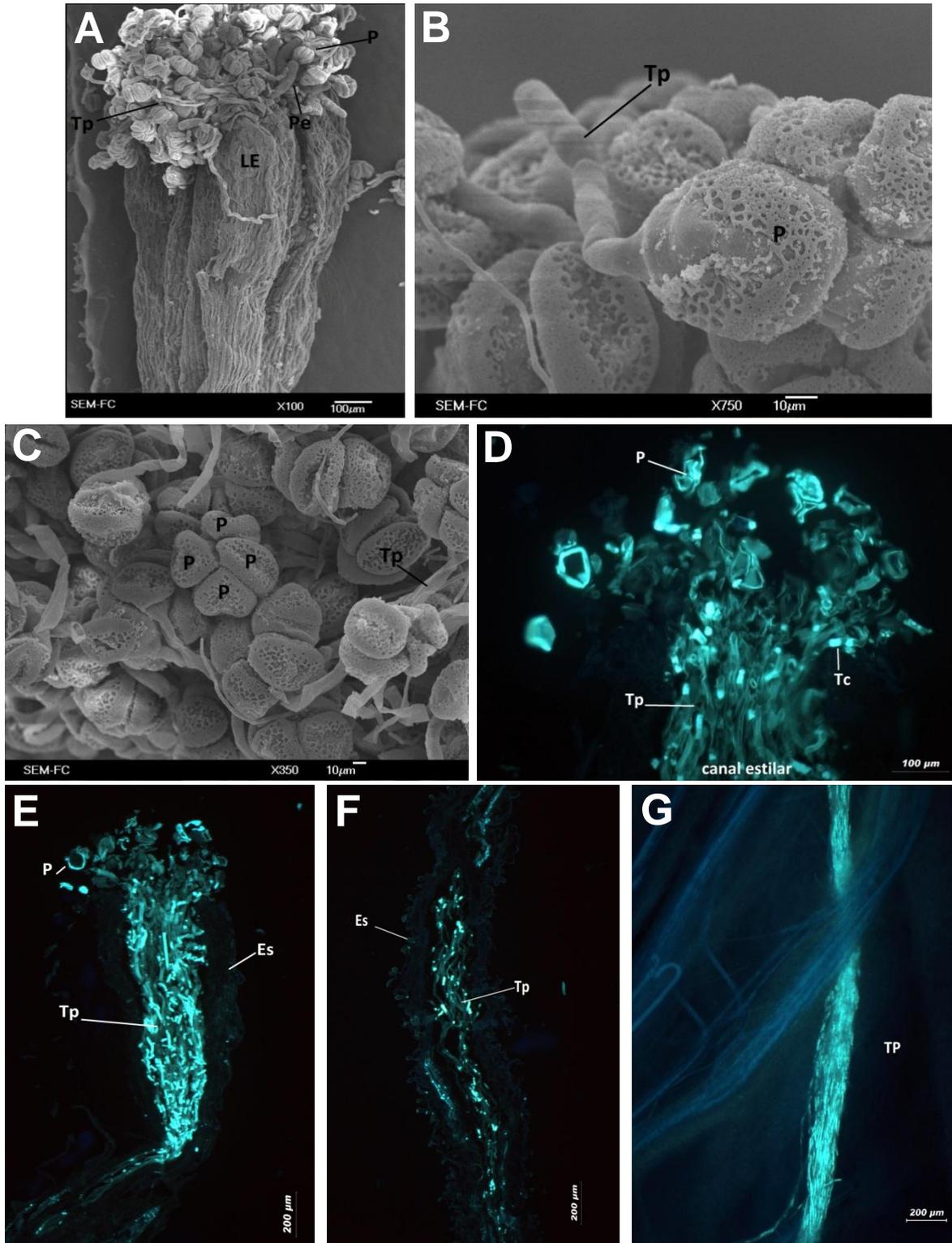


Figura 10. Germinación del grano de polen. **A)** Granos de polen germinando sobre la superficie estigmática (MEB). **B)** Granos de polen germinando (MEB). **C)** Granos de polen agrupados en tétradas y germinado (MEB). **D)** Corte longitudinal del estigma, con granos de polen germinando sobre el estigma (fluorescencia). **E)** Tubos polínicos ingresando a la cavidad estilar (fluorescencia). **F),G)** Tubos polínicos viajando en el interior del estilo (fluorescencia). **Es.** Estilo; **Le.** Lóbulos estigmáticos; **P.** Polen; **Pe.** Papila estigmática; **Tc.** Tapones de calosa; **Tp.** Tubo polínico.

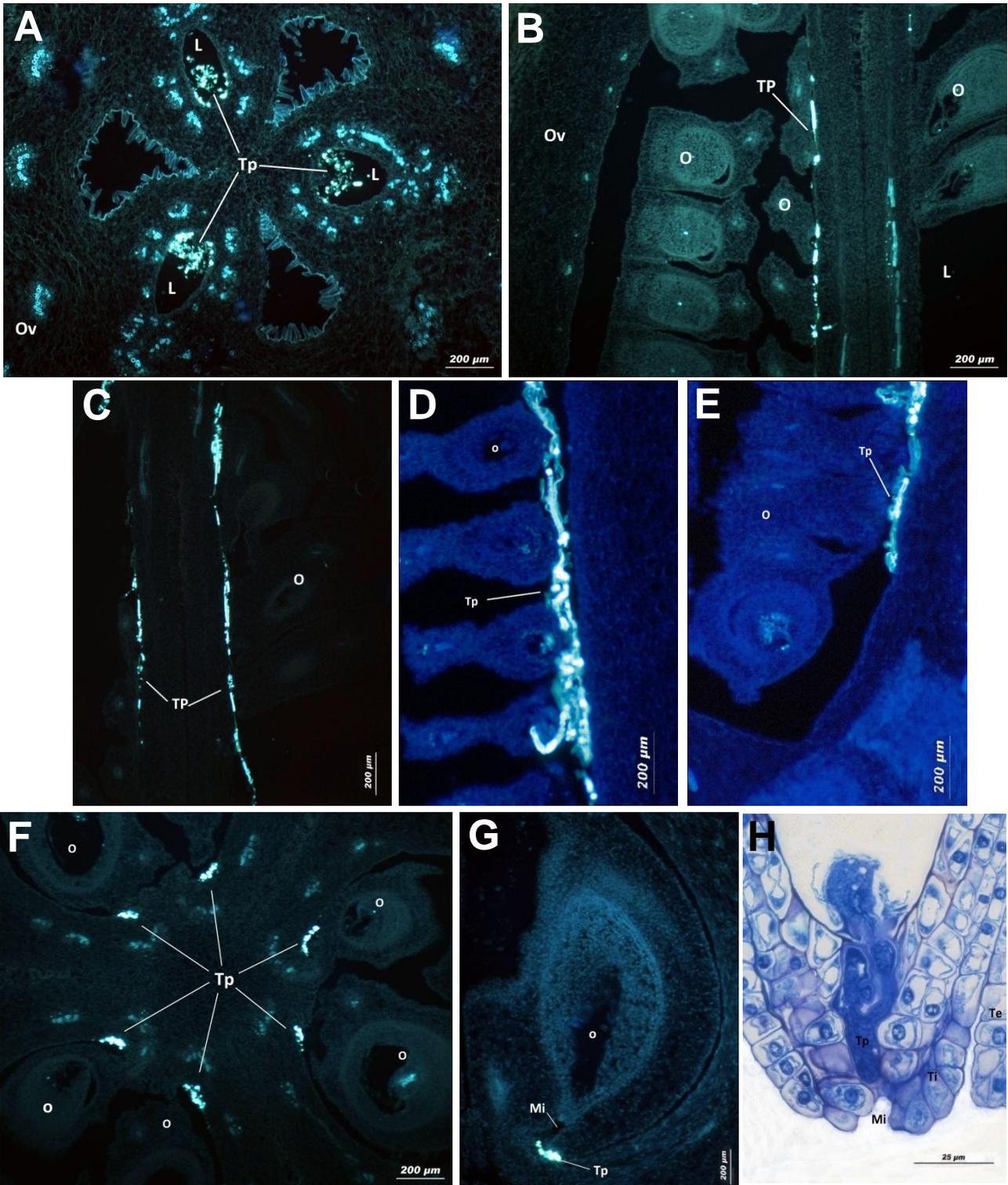


Figura 11. Crecimiento de los tubos polínicos en el ovario. **A)** Corte transversal de la parte superior del ovario, en los lóculos se observan tubos polínicos ingresando a la cavidad del ovario. **B),C),D)** Corte longitudinal del ovario en el cual los tubos polínicos viajan a través de la placenta axilar, hacia la base del ovario. **E)** Los tubos polínicos llegan hasta la base del ovario. **F)** Corte transversal del ovario, mostrando tres loculos con óvulos en cada uno, mientras que el tubo polínico ingresa a su interior **G), H)** Ingreso del tubo polínico a través del micrópilo del óvulo. **L.** Lóculo; **Mi.** Micrópilo; **O.** Óvulo; **Ov.** Ovario; **Ti.** Tegumento interno; **Te.** Tegumento externo; **Tp.** Tubo polínico.

Desarrollo de la semilla

Posterior a la doble fecundación, dentro del saco embrionario comienza a desarrollarse el endospermo y un embrión hacia la región micropilar.

El endospermo que se desarrolla, es de tipo helobial; el cual, tras la primera división del núcleo primario del endospermo da lugar a dos núcleos hijos, que quedan separados (Fig. 13 A, B); uno de estos núcleos se dirige hacia la región calazal y el otro hacia la región micropilar. La cámara calazal ocupa menos espacio y se divide por mitosis más rápidamente, mientras que la cámara micropilar rodea el contorno del saco embrionario y se divide más lentamente (Fig.13 C-E).

El embrión en etapa globular, presenta un suspensor formado por una hilera de células que lo unen a la región basal del saco embrionario; en esta etapa ya se puede observar que el endospermo ocupa gran parte de la semilla (Fig. 14 C, D, E). Los tegumentos de los óvulos también sufren cambios, para dar origen a la cubierta seminal, donde el tegumento externo da origen a la testa y su estrato más externo se pigmenta. Mientras que el tegumento interno origina al tegmen (Fig.13 F), el cual, durante el desarrollo de la semilla, presenta inclusiones de taninos.

Desde etapas muy tempranas del desarrollo del fruto, se observa que éste ya presenta dos tipos de semillas en desarrollo, unas que presentan contenido y posteriormente se desarrollarán en semillas viables (negras) y otras que son traslúcidas y se desarrollarán en semillas inviables (blancas) Fig.14 A, B.

Durante el desarrollo de las semillas blancas no se diferencia el embrión ni el endospermo en su interior; sin embargo, el tegumento externo se diferencia en la testa de la semilla, pero ésta no se pigmenta (Fig.12 B). En el interior de las semillas maduras blancas, lo único que se aprecia es la reminiscencia de un haz vascular; la superficie de la testa es más corrugada a comparación de las semillas negras (Fig. 15 B, D, I).

Las semillas negras (maduras) (Fig. 12 A) presentan en su interior un embrión con un cotiledón desarrollado, que ocupa el eje longitudinal de la semilla y se encuentra rodeado por el endospermo y la cubierta seminal (Fig. 14 F-H), el cual contiene gran cantidad de gránulos de almidón (Fig.15 A, C, E, F). La testa es pigmentada, brillante y ópticamente lisa (Fig. 15 G, H).

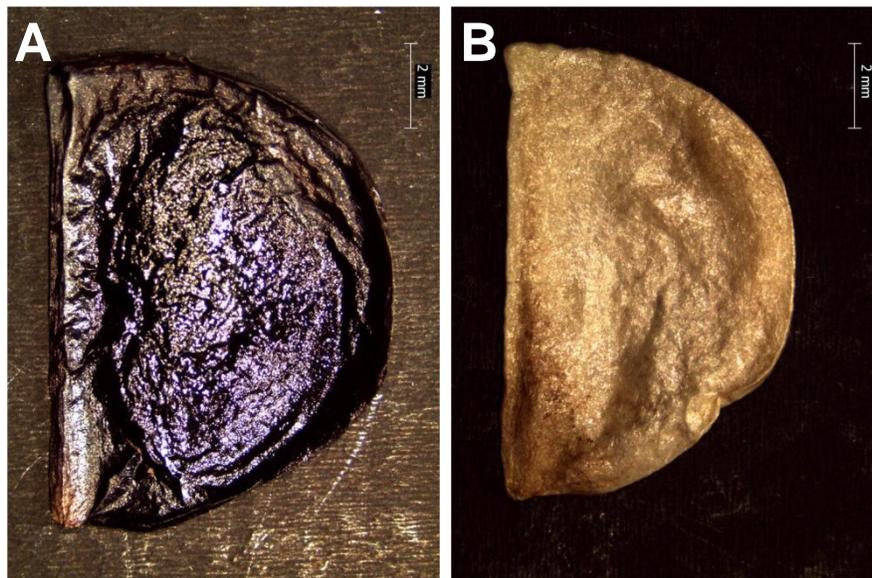


Figura 12. Semillas. A) semilla viable (negra). **B)** semilla inviable (blanca).

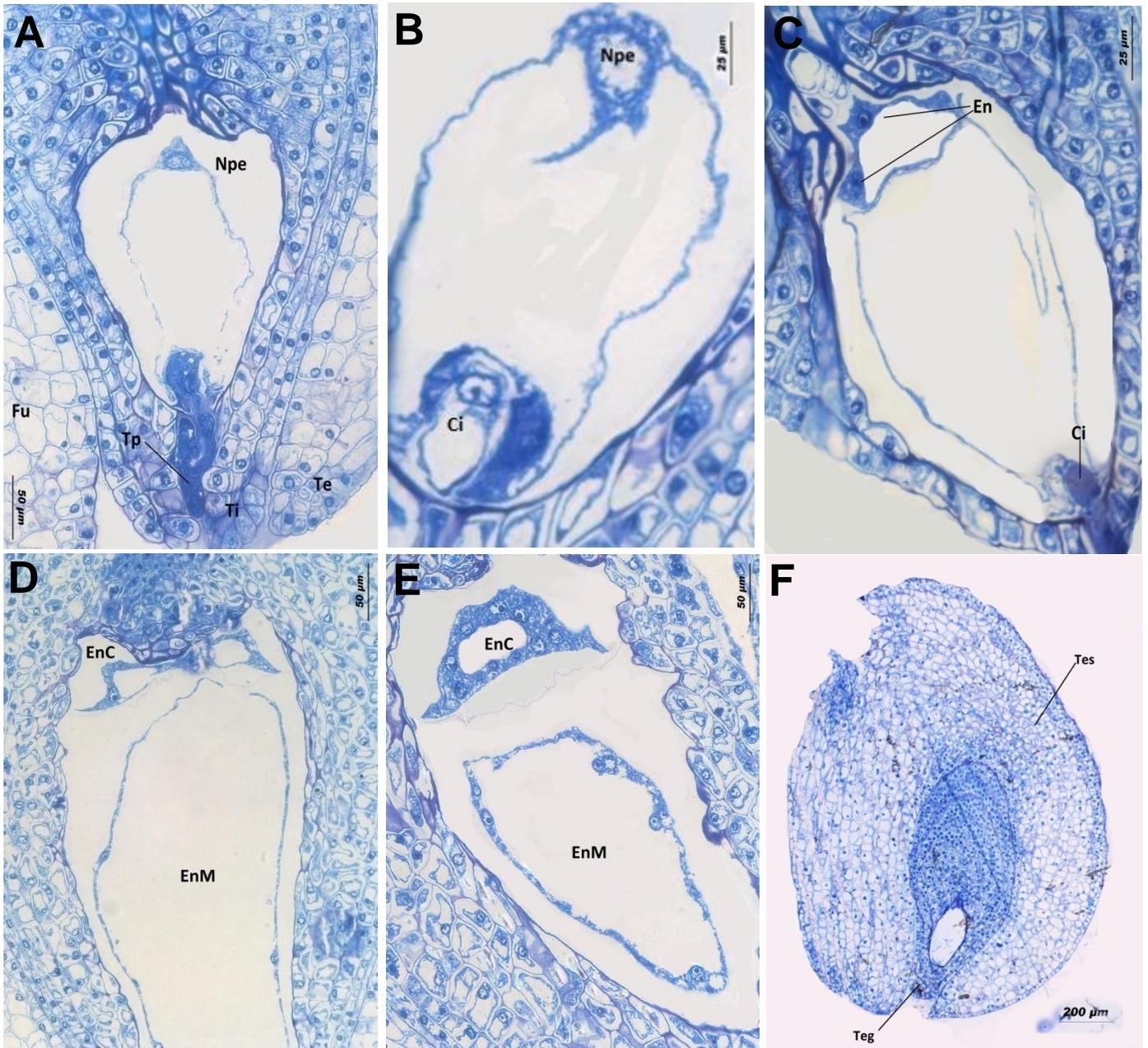


Figura 13. Endospermo y cubierta seminal. **A)** Tubo polínico ingresando al óvulo. **B)** Núcleo primario del endospermo y el cigoto. **C)** Primeras divisiones del endospermo. **D)** Formación de las dos cámaras del endospermo, la calazal y la micropilar. **E)** División del endospermo en cada una de las regiones. **F)** Desarrollo de la cubierta seminal, el tegumento externo presenta más estratos celulares originando la testa y el tegumento interno el tegmen. **Ci.** Cigoto; **En.** Endospermo; **EnC;** Endospermo calazal; **EnM.** Endospermo micropilar; **Fu.** Funiculo; **Npe.** Núcleo primario del endospermo. **Ov.** Ovocélula; **Te.** Tegumento externo; **Teg.** Tegmen; **Tes.** Testa; **Ti.** Tegumento interno. **Tp.** Tubo polínico.

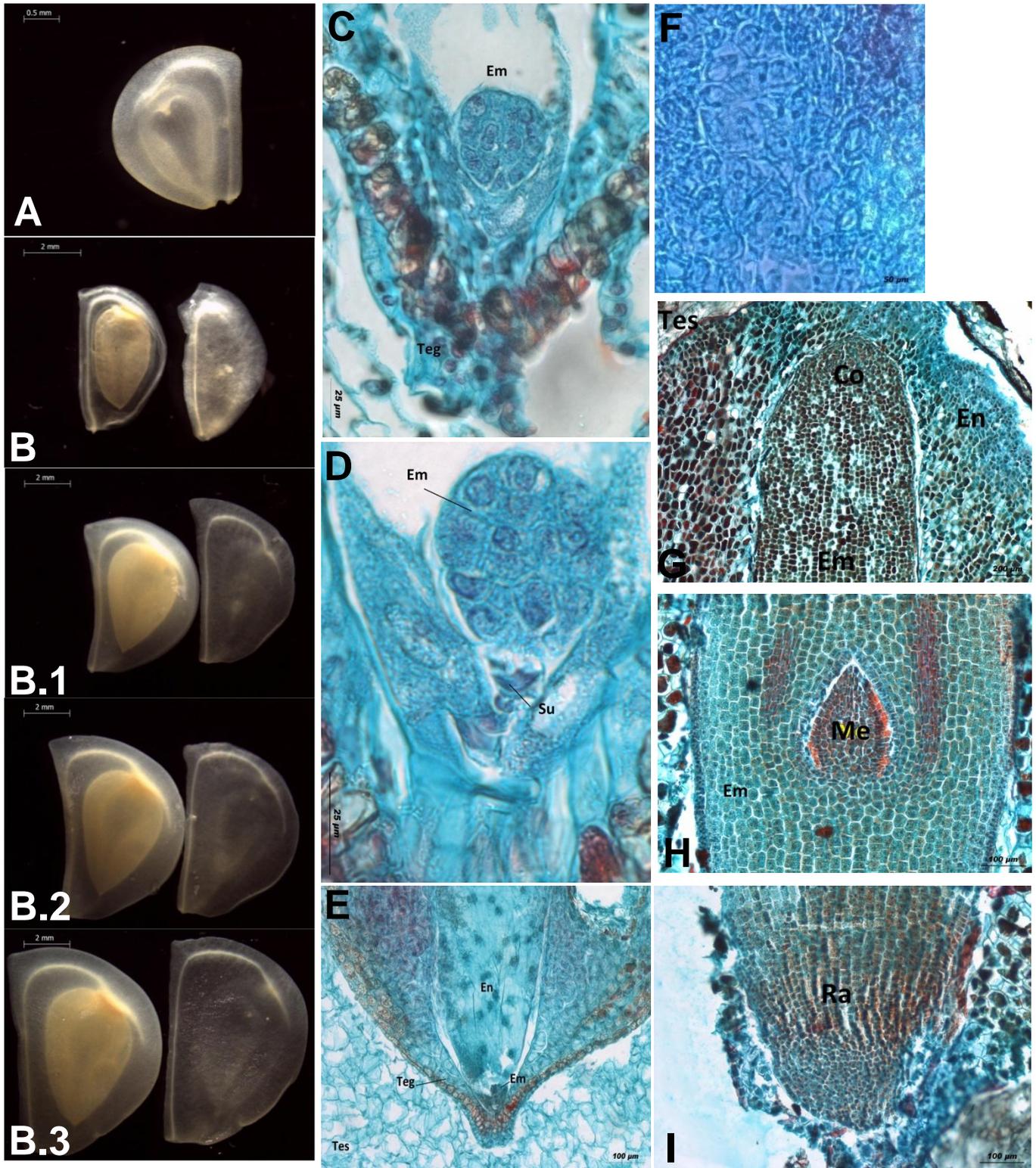


Figura 14. Desarrollo de la semilla. **A)** Semilla de fruto joven (aún no se distingue el tipo de semilla que originará). **B-B.3)** Semillas de frutos en maduración, del lado izquierdo las semillas que serán viables y las del lado derecho semillas que serán inviables. **C), D)** Embrión en desarrollo, en fase globular y con suspensor. **E)** Desarrollo de la cubierta seminal, el endospermo y el embrión. **F)** Endospermo celularizado, en contraste de fases. **G)** Embrión maduro; región apical. **H)** Región central del embrión, el meristemo apical del tallo. **I)** Región basal del embrión, la radícula. **Co.** Cotiledón; **En.** Endospermo; **Em.** Embrión; **Me.** Meristemo. **Teg.** Tegmen; **Tes.** Testa; **Ra.** Radícula; **Su.** Suspensor.

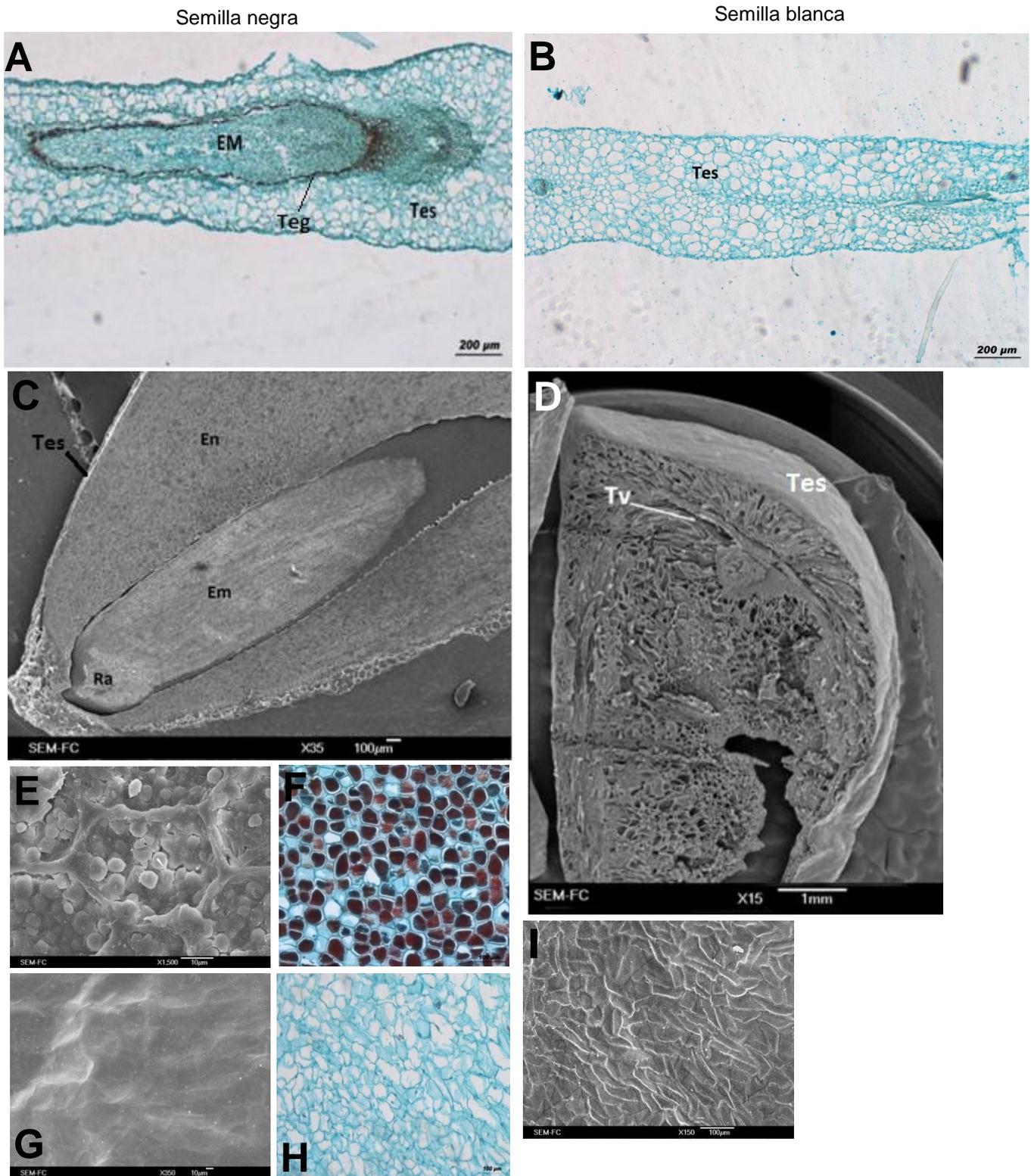


Figura 15. Morfología de las semillas negras y blancas. **A)** Corte transversal de semilla negra, se observa el embrión rodeado por el tegmen y la testa. **B)** Corte trasversal de semilla blanca en el cual no hay embrión, únicamente se observa la testa. **C)** Interior de la semilla negra, embrión y endospermo (MEB). **D)** Interior de la semilla blanca, no presenta embrión ni endospermo, sólo se aprecia el tejido vascular y la cubierta seminal (MEB). **E), F)** Endospermo de semilla negra en MEB y corte. **G), H)** Morfología de la epidermis de la testa, semilla negra (MEB) y corte. **I)** Morfología de la testa en la semilla blanca MEB. **En.** Endospermo; **Em.** Embrión; **Ra.** Radícula; **Tes.** Testa; **Teg.** Tegmen; **Tv.** Tejido vascular.

Distribución de semillas en el fruto

En el interior de los frutos secos de *Furcraea parmentieri* se pueden distinguir con mayor facilidad los dos tipos de semillas: negras y blancas. Se revisaron catorce frutos escogidos al azar y en total se cuantificó un promedio de 239.85 ± 8.095 semillas de ambos tipos, del cual, el 60.72% de semillas son negras y 24.96% son blancas.

Las semillas blancas se distribuyen en las tres regiones del fruto: A) apical (semillas que se ubican hacia la región estilar del fruto), B) centro (semillas ubicadas en la región central del fruto) y C) basal (semillas ubicadas hacia la región pedicelar) Fig.16.

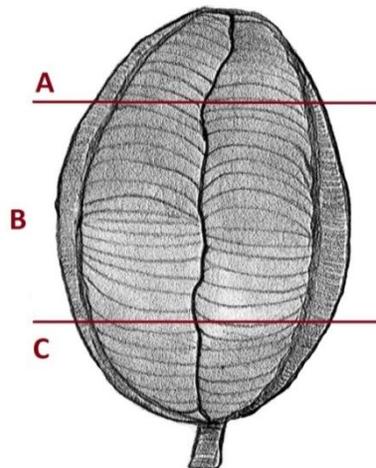


Figura 16. Delimitación de las regiones donde se distribuyen las semillas en el fruto.

Al cuantificar la cantidad de semillas blancas en cada una de las tres regiones, se presenta un promedio de 33.79 ± 4.37 semillas en la región A, 29.29 ± 31.17 en la B y 31.14 ± 4.41 en la C. Sin embargo, al realizar la prueba estadística de ANOVA ($F= 0.3145$ $P=0.4399$); Fig.18, se obtuvo que el número de

semillas blancas en cada una de las regiones del fruto no presenta diferencias significativas.

Las semillas blancas se presentan en diversos tamaños, las más pequeñas corresponden a las posicionadas en los extremos del fruto A y C (Fig. 17). En la figura 19 se pueden observar los posibles patrones de distribución de semillas blancas y negras en diferentes frutos.

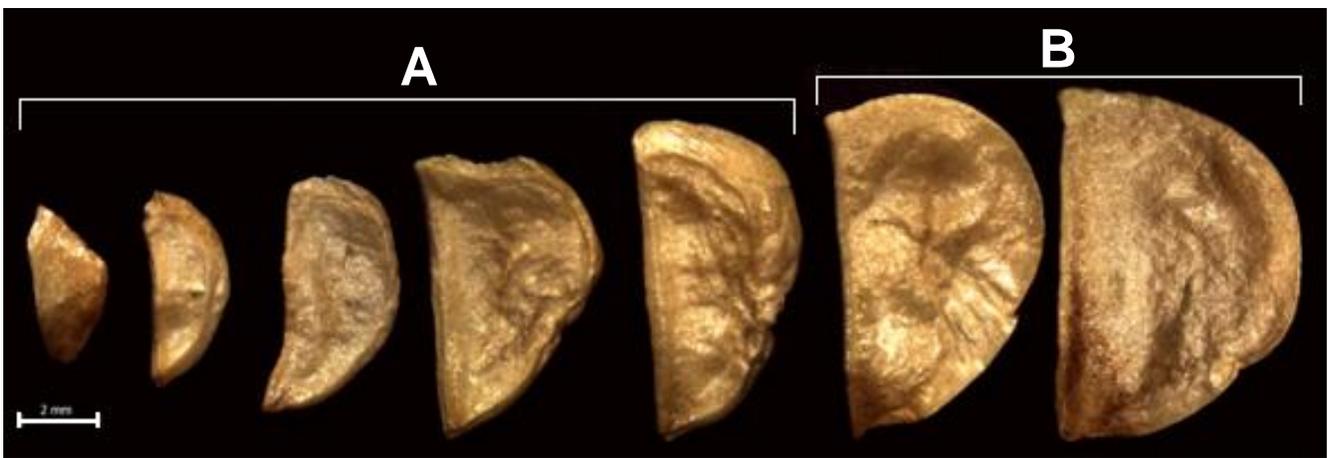


Figura 17. Tamaños de las semillas blancas. A) semillas más pequeñas, éstas ubican hacia la región A y C (superior y basal de futuro). B) semillas más grandes, éstas se ubican hacia la región B (central del fruto).

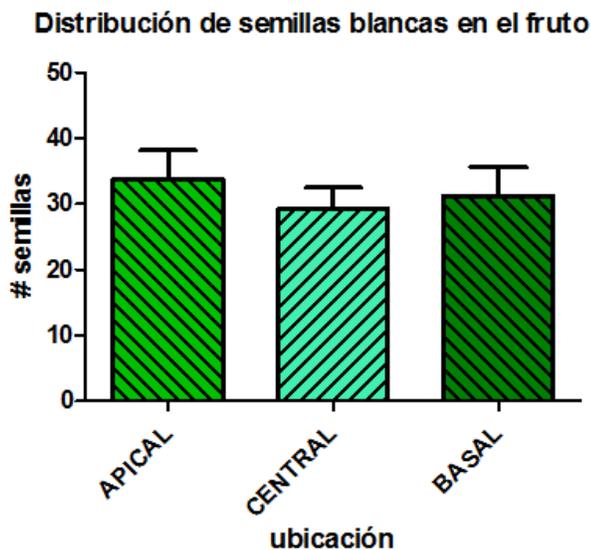


Figura 18. Grafica de la cantidad de semillas blancas con respecto a su ubicación en el fruto, N= 14 P> 0.05

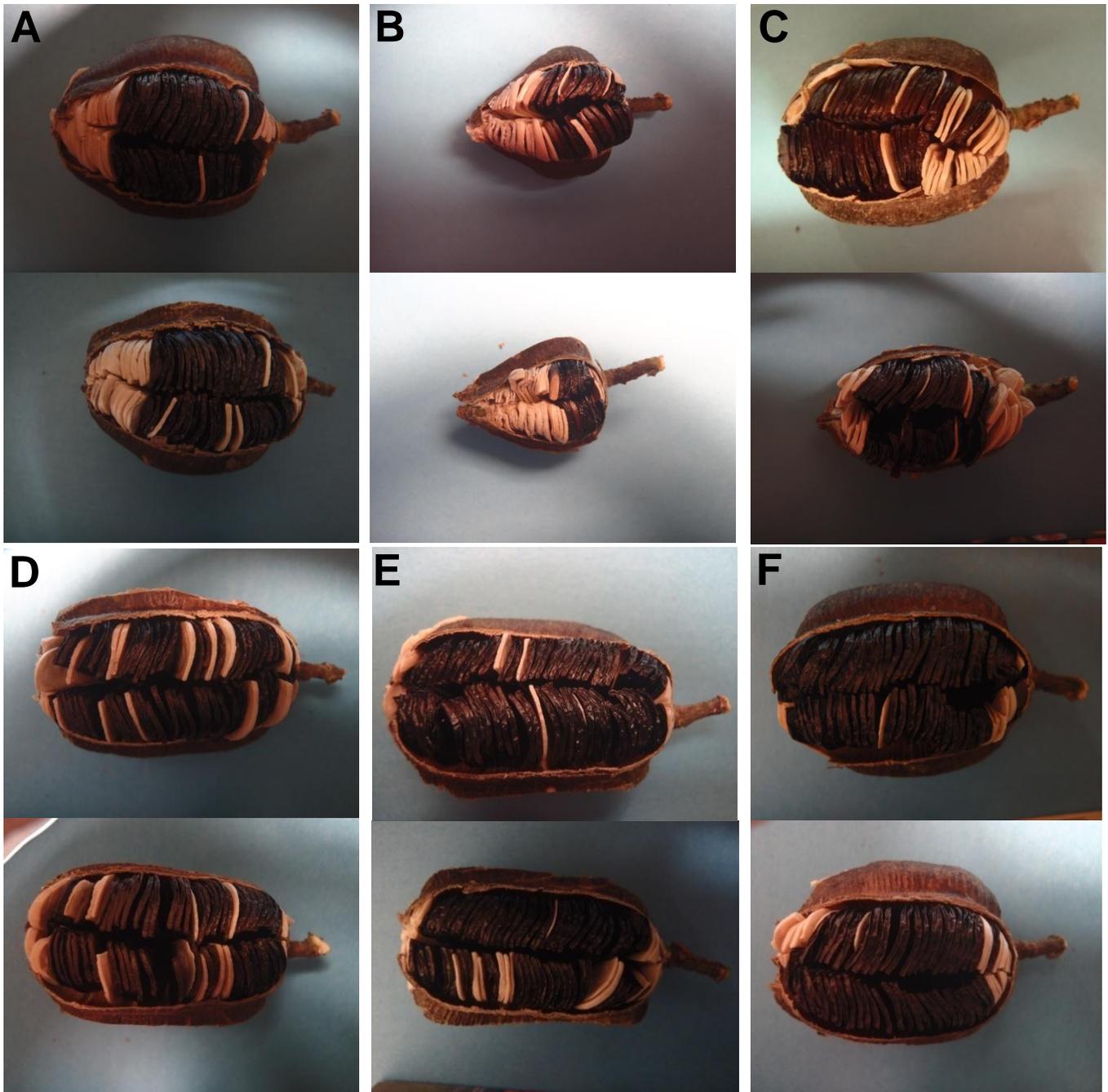
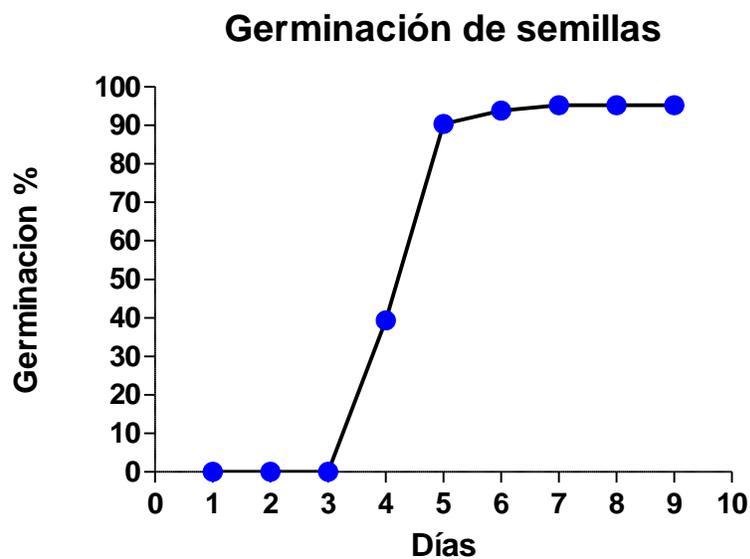


Figura 19. Diversas regiones de distribución de semillas blancas y negras. A) Frutos en los que hay más abundancia de semillas blancas hacia la región A (superior). **B)** Frutos de menor tamaño, con mayor abundancia de semillas blancas en la región A (superior). **C)** Frutos con mayor abundancia de semillas blancas hacia la región A (superior) y C (basal). **D)** Semillas blancas distribuidas en las tres regiones del fruto A, B, C (superior, central, basal). **E), F)** Menor abundancia de semillas blancas ubicadas en las tres regiones del fruto.

Germinación de semillas

Durante la germinación de semillas blancas (140) y negras (140) de *F. parmentieri* se obtuvo una tasa de germinación del 0% para las semillas blancas y del 95.17% para las semillas negras. Al cuarto día germinó el 39.31% de las semillas negras, alcanzando su máximo porcentaje al séptimo día (Grafica 2).



Grafica 2. Porcentaje de semillas germinadas a lo largo del tiempo.

La germinación es epigea y ésta comienza cuando la radícula brota a través de la cubierta seminal en la región micropilar de la semilla (Fig. 20A). Posteriormente, alrededor del tercero o cuarto día, la radícula crece en longitud y en grosor y presenta pelos radiculares, mientras que se hace evidente el surgimiento del hipocótilo a través de la cubierta seminal (Fig. 20B-E).

En el transcurso de los siguientes días, el hipocótilo y la radícula crecen en grosor y longitud. Aproximadamente a los catorce días, el cotiledón se extiende y es fotosintético. La hoja cotiledonaria crece con la cubierta seminal encima. En la plántula de un mes de edad, es evidente el surgimiento de la hoja primaria (Metafila); dos meses después la hoja primaria iguala el tamaño de la hoja cotiledonaria, mientras que la cubierta seminal ya se desprende de la hoja cotiledonaria (Fig. 21).

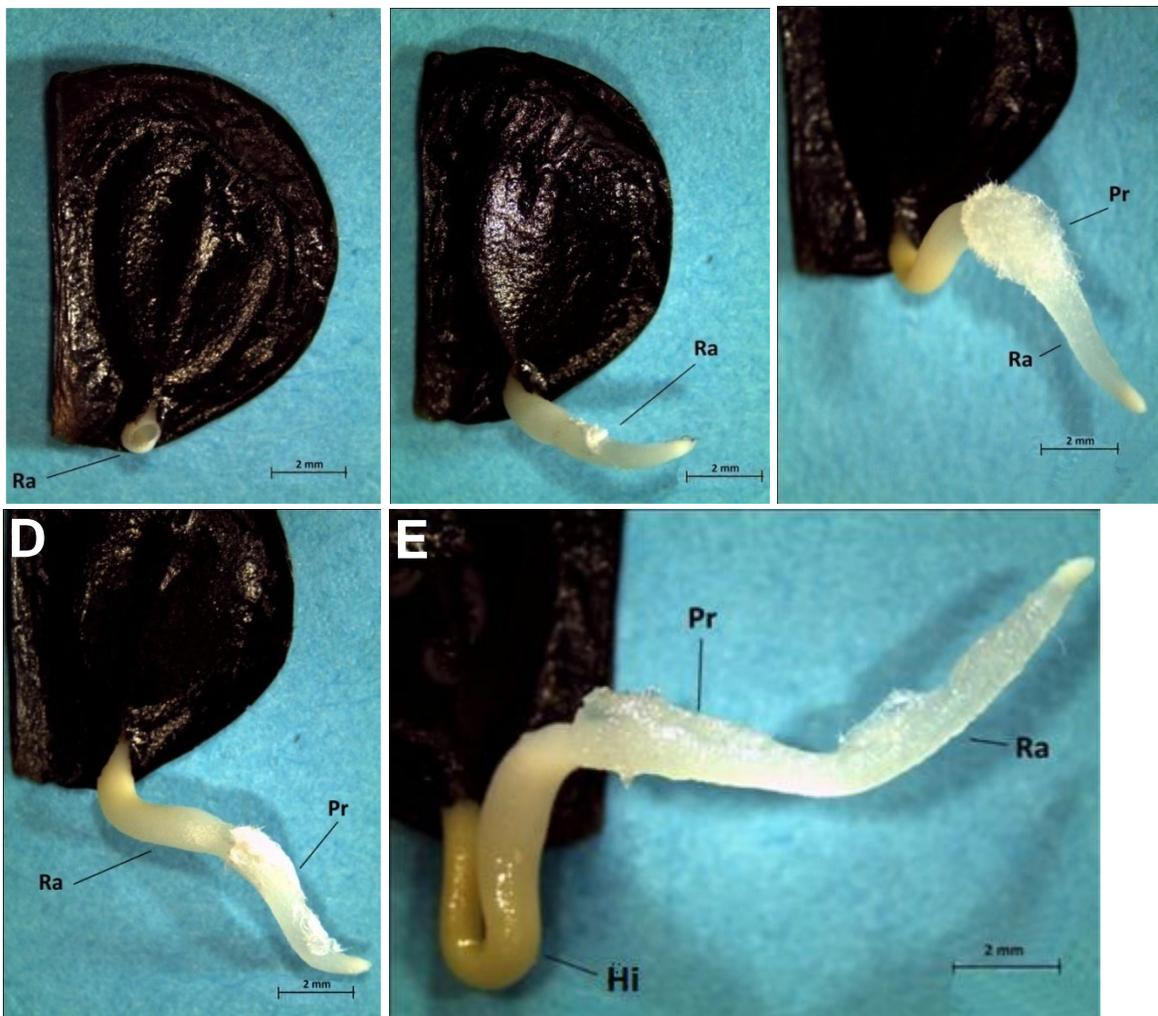


Figura 20. Plántulas (parte 1). **A)** Emergencia de la radícula (día 1). **B)** Elongación de la radícula (días 2-3). **C)** Desarrollo de pelos radiculares (días 3-4). **D)** Crecimiento de la radícula (día 5). **E)** Surgimiento del hipocótilo (día 6). **Ra.** Radícula; **Pr.** Pelos radiculares; **Hi.** Hipocótilo.

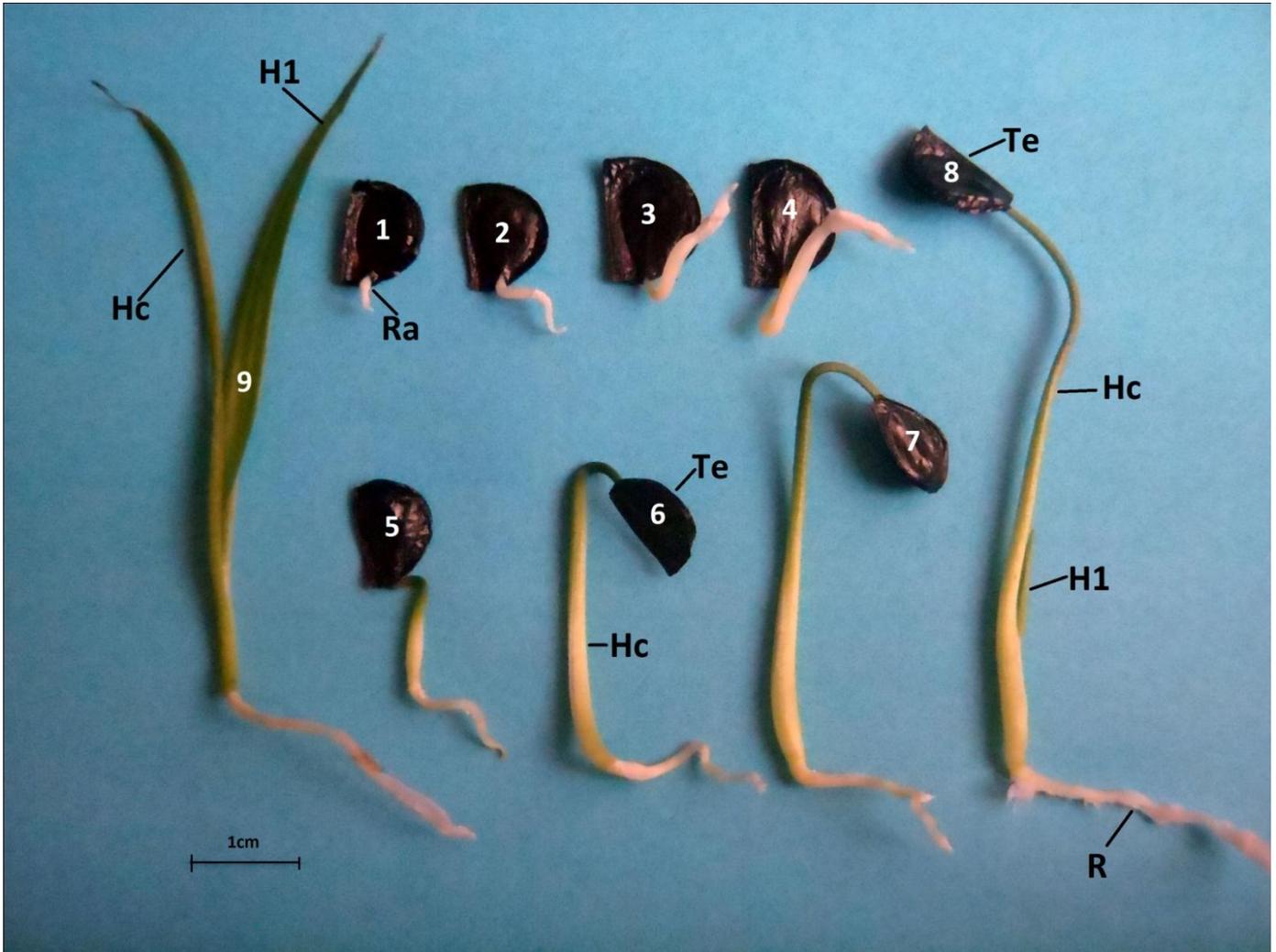


Figura 21. Plántulas (parte 2). Diferentes etapas de desarrollo en las plántulas desde la germinación, hasta dos meses de edad. **Hc.** Hoja cotiledonaria; **H1.** Hoja primaria; **R.** Raíz; **Ra.** Radícula; **Te.** Testa.

Discusión

Uno de los grandes riesgos que enfrentan las plantas longevas y semélparas, es que dado que sólo hay un evento reproductivo, éste falle (Arizaga y Ezcurra, 1995). La presencia de semillas viables y no viables dentro de los frutos maduros de las agaváceas, es un hecho ampliamente extendido (Howell y Roth, 1981; Acker, 1982; Sutherland, 1982; Arizaga *et al.*, 2000; Rocha y Eguiarte, 2005). En la mayoría de las investigaciones ecológicas realizadas, es la escasez o baja eficiencia de la polinización la que se menciona como responsable de la presencia de semillas no viables (Howell y Ruth, 1981; Arizaga *et al.*, 2000; Piven *et al.*, 2001; Silva-Montellano, 2003; Rocha y Eguiarte, 2005).

Albarrán-Hernández (2011), menciona para *Furcraea parmentieri* la presencia de semillas negras y blancas, sugiere que estas últimas se deben a la falta de la fecundación y que ésta es la causa de que aparezcan semillas sin embrión ni endospermo (blancas), y por lo tanto sin viabilidad. Sin embargo, ésta es una hipótesis que intenta explicar la presencia de semillas blancas.

En esta investigación se hizo evidente el desarrollo asincrónico de los óvulos, pues los posicionados en los extremos del ovario (regiones A y C), se desarrollan más lentamente que los ubicados en la región central (B). En *Agave fourcroydes*, también se ha descrito asincronía en el desarrollo de los óvulos y la relacionan con una posible causa de baja fertilidad del gametofito femenino (Piven *et al.*, 2001).

Es posible que en *Furcraea parmentieri*, al momento en que los tubos polínicos estén recorriendo la placenta y entrando a los óvulos, se encuentran con óvulos inmaduros, con sacos embrionarios incapaces de fecundarse, por no estar completamente desarrollados (semillas blancas), y otros óvulos con gametos bien formados, que se encuentran aptos para la fecundación del gameto femenino (ovocélula), de los núcleos polares (endospermo) y de esta se desarrollan semillas negras. Por lo tanto, esta asincronía en la maduración de los óvulos puede ser que esté involucrada con la ausencia de la fecundación de algunos óvulos en *F. parmentieri*. Cuando se siguió el recorrido de los tubos polínicos, se observó que éstos se desplazan por la placenta, a lo largo de toda la longitud del ovario; sin embargo, sólo en algunos óvulos se pudo observar su entrada al micrópilo y éstos corresponden a los posicionados en la región central del ovario (región B). No se observó si los tubos polínicos penetran en todos los óvulos de las regiones estilares y pedicelares (regiones A y C) del ovario.

No obstante, la flor de *F. parmentieri* permanece abierta y receptiva durante siete días (Albarrán-Hernández, 2011), lo que quizás daría el tiempo suficiente a que estos óvulos terminaran de desarrollarse. Sin embargo, aún en etapas tempranas del desarrollo del fruto, se observó que las semillas en los extremos del ovario permanecen vacías, indicando que estos óvulos no fueron fecundados, o no se desarrollaron en semillas viables debido a otra causa (se explica más adelante), a diferencia de las semillas centrales, que ya presentan formación del endospermo.

Estos datos concuerdan con la posición de las semillas no viables (blancas) de los frutos analizados, ya que siempre se presentaron en la posición estilar y pedicelar (regiones A y C), sin embargo, a diferencia de las semillas ubicadas en el centro del fruto, que se encuentran intercalados con semillas viables. No obstante, la cantidad de semillas no viables presentes en cada región del fruto no es estadísticamente significativa y esta asincronía en el desarrollo de los óvulos, sólo justifica la presencia de semillas inviables (blancas), en las regiones de los extremos del fruto y no las que se encuentran en el centro; adicionalmente las semillas blancas de los extremos del fruto presentan un tamaño mucho menor a las del centro; tal vez, este tamaño se encuentra relacionado con la forma ovalada del fruto, e influye con que los óvulos no presenten el espacio suficiente para desarrollarse a un tamaño adecuado .

En las agaváceas la polinización cruzada es un mecanismo esencial para la formación de frutos, al igual que en *F. parmentieri*; lo cual indica que la calidad genética del polen que llega al estigma puede ser uno de los determinantes más importantes para evitar la aborción de frutos y semillas (Howell y Ruth, 1981; Arizaga *et al.*, 2000; Piven *et al.*, 2001; Silva-Montellano, 2003; Rocha y Eguiarte, 2005; Albarrán-Hernández, 2011). Sin embargo, en *F. parmentieri* se determinó que la cantidad de semillas viables presentes en el fruto no varían en correlación a los tratamientos de polinización (cruzada, geitogama y control abierto) (Albarrán-Hernández, 2011). Un caso similar se ha reportado en *Agave macroacantha*, donde la cantidad de semillas viables dentro del fruto es similar en los tratamientos de polinización cruzada y control abierto; indicando que se presenta un 72.3% de

semillas viables en el fruto (Arizaga *et al.*, 2000), lo cual es muy parecido al porcentaje de semilla viables encontradas en *F. parmentieri* que es cercano al 75%, indicando que quizás, la presencia de este porcentaje de semillas inviables en las agaváceas, no se encuentra relacionado con la polinización y puede deberse otro factor.

No obstante, en *Furcraea parmentieri*, se reporta que hay una baja efectividad o escasez de los polinizadores; Albarrán-Hernández (2011), explica que las flores quizás no reciben la suficiente cantidad de granos de polen para que se fecunden todos los óvulos, que son más de 200 por ovario; por lo tanto, ésta podría ser una causa de que los frutos de *F. parmentieri* presenten los dos tipos de semillas (viables y no viables) algunas de ellas fecundadas y otras no.

Otro de los factores que pueden influir en la presencia de semillas no viables, es la limitación de recursos en la planta, que puede traducirse en la producción de frutos y semillas abortivas (Lloyd y Weeb, 1980). En especies monocárpicas, como *Agave celsii albicans*, *A. difformis*, *Agave sp.*, se ha determinado que la cantidad de frutos y semillas viables producidas en la planta, se encuentra correlacionada positivamente con el tamaño de la inflorescencia (Rocha y Eguiarte, 2005); al igual que en *F. parmentieri*, (Hernández-Pedrero, 2010), lo cual es reflejo de la cantidad de recursos disponibles que presentan estas especies (Rocha y Eguiarte, 2005; Hernández-Pedrero, 2010; Acker, 1982; Shutherland, 1982). En *Yucca whipplei* y *Agave chysantha* se demostró que la cantidad de frutos y semillas viables que se desarrollan, se encuentra limitada por los recursos de la planta y no por los polinizadores (Acker, 1982; Shutherland,

1982). Un dato interesante es que Albarrán-Hernández (2011), encontró que el peso de las semillas viables provenientes de cada planta de *F. parmentieri* era diferente, lo que se correlaciona con la limitación de recursos en esta especie y podría ser otro factor para que se presenten semillas inviables en esta planta.

Bawa y Weeb (1984), menciona que la competencia por los recursos se puede dar a nivel del ovario, lo cual puede producir semillas Vanas. Un estudio realizado en *Phaseolus*, indica que dentro del ovario, los óvulos que son fecundados antes, tienen más tiempo para desarrollarse en semillas, pues pueden adquirir mayores recursos, a diferencia de los fecundados después; esto provoca una competencia entre los óvulos por la adquisición de recursos, dando como resultado que no todos los óvulos se desarrollen en semillas (Nakamura, 1988). Un caso similar podría presentarse en *F. parmentieri*, ya que los óvulos de la región B, que maduran primero (asincronía) podrían fecundarse antes, en contraste con los óvulos de los extremos (regiones A y C), que al madurar después podrían no fecundarse o en el caso de que lo hicieran, ya no se desarrollarían en semillas viables, debido a que los recursos disponibles ya no son suficientes.

Otro factor involucrado en la aborción de frutos y semillas es la selección sexual, donde la planta puede abortar una progenie genéticamente inferior (Lloyd y Weeb, 1980). Esto también se encuentra relacionado con la calidad genética del polen de *F. parmentieri*, donde no se producen frutos provenientes de la autopolinización (Albarrán-Hernández, 2011), y así evitan la depresión por endogamia.

En algunos trabajos se han puntualizado anomalías en la formación de los gametofitos como los causantes de la baja fertilidad que presentan algunas especies de agaváceas (Nevins, 1927;; Grove, 1941; Catalano, 1928 en Ragen, 1941; Panchaksharapa *et al.*, 1965; Piven *et al.*, 2001), aunque no la relacionan directamente con la presencia de semillas no viables. No obstante, durante el estudio de *F. parmentieri*, no se observaron desviaciones del proceso normal de la megasporogénesis y la megagametogénesis, ni tampoco en el aborto de los óvulos, a diferencia de *F. andina* y *F. gigantea*, donde ambas especies abortan algunos de sus óvulos, al perder el contenido del saco embrionario. Diversos autores relacionan este problema con la atrofia y degeneración de las células nucelares del óvulo, ya que ésta se encontró degenerada en los óvulos abortivos. Este mismo fenómeno también ha sido reportado en *Agave virginica*; *A. chloracantha* (Nevins, 1927; Catalano, 1928, Capelletti, 1927 en Ragen, 1941; Panchaksharapa, 1966). Sin embargo, las células de la nucela de *Furcraea parmentieri*, en todo momento de su desarrollo y en todos los óvulos estudiados, se encontraban en buen estado, por lo cual ésta no es la causa para que se presenten las semillas inviables (blancas) en *F. parmentieri*.

Una estimación de las semillas que produce una planta de *F. parmentieri*, oscila alrededor de 21,000 y el seed-set de esta especie se encuentra entre los más altos que se han reportado en las Agaváceas (Albarrán-Hernández, 2011), por lo tanto, que un 24.96% de semillas no viables (blancas) se presente en los frutos analizados, no afecta a su reproducción, ya que se justifica con que las semillas viables (negras) presentan un alto porcentaje de germinación (del 95%),

que es similar en varias especies del género *Furcraea* (García-Mendoza, 2001; Hernández-Pedrero, 2009; De la Rosa, 2010; Albarrán-Hernández, 2011). Esto se refleja en el reclutamiento sexual poblacional, que se estima en un 99%. Además, las tasas de supervivencia de las plántulas son elevadas durante las fases tempranas de desarrollo (Hernández-Pedrero, 2009). Adicionalmente las poblaciones de *F. parmentieri*, presentan un alto índice de diversidad genética (Barceinas-Cruz, 2011), a pesar de la gran producción de bulbilos que se presenta en esta especie, pues sólo el 1% de estos se recluta en la población por este medio (Hernández-Pedrero, 2009).

Arizaga y Ezcurra (1995); García-Mendoza (2001) indican que la reproducción asexual que se presenta en el género *Furcraea*, es un mecanismo de emergencia, para cuando la reproducción sexual no se produce.

Sin duda, el máximo riesgo que presenta *F. parmentieri* en sus poblaciones, se halla en la transformación de su hábitat debido a los efectos antropogénicos; al igual que su utilización para diversos fines materiales (García-Mendoza, 2000; Hernández-Pedrero, 2009; Albarrán-Hernández, 2011; Barceinas-Cruz, 2011). Es por esto que esta especie se encuentra enlistada en la NOM- 059-ECOL-2010.

Embriología de *Furcraea parmentieri*

Adicional al objetivo de este trabajo, que fue sugerir algunas de las causas del desarrollo de semillas no viables en *Furcraea parmentieri*, también se aportan conocimientos embriológicos de esta especie.

El tipo de desarrollo del óvulo descrito para la familia Agavaceae por Jorhi *et al.* (1992) y Davis (1966), corresponde a las características encontradas para *Furcraea parmentieri*, sin embargo, un carácter no descrito anteriormente para la familia que se ha observado, es que el origen de los tegumentos es dérmico. En la familia Agavaceae se reporta que la célula madre de la megaspora da lugar a una tétrada lineal de megasporas; esta característica fue encontrada tanto en *F. parmentieri*, como en *F. andina* (Nevins, 1927). Sin embargo, en *F. gigantea* se reporta que también se pueden presentar tétradas de megasporas en forma de “T” (Panchaksharapa, 1966). La megaspora calazal es la que da origen al saco embrionario del tipo *Polygonum* en *F. parmentieri*, al igual que en *F. gigantea* (Panchaksharapa, 1966) y otros miembros de la familia Agavaceae así ocurre (Jorhi *et al.*, 1992). No obstante en *F. andina*, el saco embrionario se origina a partir de la megaspora micropilar (Nevins, 1927). En *Agave fourcroydes* y *A. angustifolia*, El origen del saco embrionario es bispórico (Piven *et al.*, 2001); estas características tan contrastantes, en cuanto al número y la posición de la megaspora, que dará origen al saco embrionario y el tipo mismo de saco embrionario, podría indicar un tipo de desarrollo, *Oenothera* (megaspora micrópilar) o *Allium* (bisporico). Por lo cual este tema requiere una mayor investigación puesto que los resultados obtenidos en diferentes investigaciones

parecen indicar que el desarrollo para el género *Furcraea* como para el resto de la familia Agavaceae es del tipo *Polygonum*.

El desarrollo del endospermo para *Furcraea parmentieri* es helobial, al igual que el descrito por Jorhi (1992) para la familia Agavaceae; Dahlgren (1985) reporta para el género *Furcraea* un desarrollo del tipo nuclear; parece ser que dentro de la familia Agavaceae se presentan ambos tipos de desarrollo de endospermo: helobial y nuclear, este último también presente en *Agave chloracantha*, *A. attenuata*, *A. virginica* (Ragen, 1941).

No hay información sobre el proceso de fecundación que se lleva a cabo para las agaváceas; para *F. parmentieri* esta es de tipo porógama. La base del estilo de *F. parmentieri* se encuentra conformada por tres costillas que están recubiertas por papilas, esta característica se reporta para el género *Furcraea* (García-Mendoza, 2001), además la presencia de estomas en el estilo no se había reportado previamente.

La germinación y plántulas

Furcraea parmentieri presenta una germinación en semillas negras del 95%, cercano a los porcentajes obtenidos en otras especies del género que oscilan entre el 98 al 100%.

El desarrollo de las plántulas corresponde al tipo del subgénero *Flexiles* de cotiledón largo, las cuales corresponden a las descripciones de García-Mendoza (2001), para *F. parmentieri*.

Conclusiones

No se observaron anomalías durante desarrollo del óvulo ni del gametofito femenino de *Furcraea parmentieri*, por lo cual ésta no es la causa para que se desarrollen semillas inviables (blancas), en los frutos.

El desarrollo asincrónico de los óvulos en el interior del ovario, puede ser una posible causa de que se desarrollen este tipo de semillas en los extremos del fruto, que se encuentra relacionado con la ausencia de fecundación de los óvulos, es por esto que las etapas tempranas del desarrollo del fruto ya es apreciable la presencia de los dos tipos de semillas.

- El óvulo es anátropo, de placentación axilar, bitégmico, crasinucelado, endóstomo, funiculado, con obturador.
- El saco embrionario presenta un desarrollo monospórico y de tipo *Polygonum*.
- La fecundación es porógama.
- El endospermo es helobial.
- La aborción de semillas se da desde las primeras etapas de la formación del fruto.
- En los frutos se presenta un 24.96% de semillas inviables (blancas) y 75.04% de semillas negras.
- La cantidad de semillas inviables en cada una de las regiones del fruto no presenta diferencias significativas; sin embargo, éstas siempre se presentan en la región estilar y pedicelar de fruto, a diferencia de las posicionadas en la región central, que se encuentran intercaladas con semillas viables.

- La germinación es epígea y alcanzó un 95% en semillas negras y 0% en semillas blancas.
- Las plántulas se desarrollan como del tipo del cotiledón largo como en el subgénero *Flexiles*.

Referencias

- Acker C.L. 1982. Regulation of flower, fruit, and seed production by a monocarpic perennial, *Yucca whipplei*. *Journal of ecology* 70:357-372.
- Albarrán-Hernández, M. 2011. Biología Reproductiva de *Furcraea parmentieri* (Agavaceae). Tesis de licenciatura. Facultad de Ciencias, Universidad Nacional Autónoma de México. México D.F.
- Álvarez A., Köhler E. 1987. Morfología del polen de las Agavaceae y algunos géneros afines. *Grana* 26(1):25-46.
- Arizaga S., Ezcurra E. 1995. Insurance against reproductive failure in a semelparous plant: bulbil formation in *Agave macrocantha* flowering stalks. *Oecologia* 101:329-334.
- Arizaga S., Ezcurra E., Peters E., Ramírez de Arellano F., Vega E. 2000. Pollination ecology of *Agave macrocantha* (Agavaceae) in a Mexican tropical desert. I. floral biology and pollination mechanisms. *American Journal of Botany* 87(7): 1004-1010.
- Barcenias-Cruz A. 2011. Genética de poblaciones de *Furcraea parmentieri* (Agavaceae): estimaciones de variación y estructura genética usando ISSR\2019s. Tesis de licenciatura. Facultad de Ciencias, Universidad Nacional Autónoma de México. México D.F.
- Bawa K.S., Weeb. C.J. 1984. Flower, fruit and seed abortion in tropical forest trees: implication for the evolution of parental and maternal reproductive patterns. *American Journal of Botany* 71:736-751.

- Benítez Badillo G. 1986. Árboles y flores del Ajusco. Instituto de Ecología. Museo de Historia Natural de la ciudad de México. México D.F. 183p.

- Castillo-Argüero S., Martínez Orea. Y., Romero Romero M.A., Guadarrama-Chávez P., Núñez-Castillo O., Sánchez-Gallén I. y Meave J. 2007. La reserva ecológica del Pedregal de San Ángel. Aspectos florísticos y ecológicos. Departamento de Ecología y Recursos Naturales, Facultad de Ciencias, Universidad Autónoma de México. 294p.

- Dahlgren R.M. Clifford H.T. y Yeo P.F. 1985. The families of Monocotyledons. Springer-verlag. Berlin. 378p.

- Davis. 1966. Systematic Embryology of the Angiosperms. J. Wiley. New York. 528p.

- De la Rosa. L. 2010. Morfología de semillas, germinación, y plántulas de *Furcraea longeva* Karw. & Zucc. (Agavaceae). Tesis de licenciatura. Facultad de Ciencias, Universidad Nacional Autónoma de México. México D.F.

- Drummond J.R. 1907. The literature of *Furcraea* with Synopsis of the Known species. *Missouri Botanical Garden Annual Report* 1907:25-75.

- Eguiarte, L. E., Souza V. y Silva-Montellano A. 2000. Evolución de la familia Agavaceae: filogenia, biología reproductiva y genética de poblaciones. *Boletín de la Sociedad Botánica de México* 66: 131-150.

- García-Mendoza. A. y Galván V. 1995. Riqueza de las familias Agavaceae y Nolinaceae en México. *Boletín de la sociedad Botánica de México* 56: 7-24.

- García-Mendoza A.J. 2000. Revisión taxonómica de las especies arborescentes de *Furcraea* (Agavaceae) en México y Guatemala. *Boletín de la sociedad Botánica de México* 66: 113-129.
- García-Mendoza A.J. 2001. Revisión del género *Furcraea* (Agavaceae). Tesis doctoral en ciencias (Biología). Facultad de Ciencias, Universidad Nacional Autónoma de México. México D.F.
- García-Mendoza A.J. 2003. La floración de *Furcraea martinezii* un espectáculo instalado en el jardín botánico. *Ciencias* 72: 32-35.
- García-Mendoza A. J. 2004. Agaváceas. En: Biodiversidad de Oaxaca. Universidad Nacional Autónoma de México. Instituto de Biología. Fondo Oaxaqueño para la conservación de la naturaleza- World Wildlife fund. Mexico. 159-169p.
- García-Mendoza A.J. 2007. Los Agaves de México. *Ciencias* (87): 15-23.
- García-Mendoza A.J. 2011. Flora del valle de Tehuacán-Cuicatlán. Agavaceae, parte 88. Universidad Nacional Autónoma de México. Instituto de Biología. 95p.
- Grove A.R.1941. Morphological study of *Agave lechuguilla*. *Botanical Gazette* 103(2):354-365.
- Hernández-Pedrero, R. 2009. Estudio poblacional de *Furcraea parmentieri* (Agavaceae) en bosques templados del suroeste del Distrito Federal, México. Tesis de licenciatura. Facultad de Ciencias, Universidad Nacional Autónoma de México. México D.F.
- Hiroishi M. S. 1974. Estudio de algunos perfiles de suelos derivados de cenizas volcánicas de los volcanes Xitle, Teuhtli, Chichinautzin y cerro Tres

Cumbres. Tesis de licenciatura. Facultad de Ciencias, Universidad Nacional Autónoma de México. México D.F.

- Howell D.J., Schropfer-Roth B. 1981. Sexual reproduction in Agaves: the benefits of bats; the cost of semelparous advertising. *Ecological Society of America* 62(1):1-7.
- Johri B.M.1984. Embryology of Angiosperms. Springer-verlag. Berlin. 123-153p.
- Johri B.M., Ambergakor K.B., Strivastava P.S. 1992. Comparative embryology of Angiosperms. Vol.2. Springer-Verlag. Berlin. 1221p.
- Lloyd D.G., Weeb C. J. 1980. Sexual strategies in plants. II. Data on the temporal regulation of maternal investment. *New phytologist* 86:81-92.
- López Ma. L., Márquez Guzmán J., Murguía Sánchez G. 2005. Técnicas para el estudio del desarrollo en angiospermas. Segunda edición. Facultad de Ciencias UNAM. México. 178p.
- Nakamura R. R. 1988. Seed abortion and seed size variation within fruits of *Phaseolus vulgaris*: Pollen donor and resource limitation effects. *American Journal of Botany* 75:7: 1003-1010.
- Nevins, B. I. 1927. The developmet of the macrogametophyte of *Furcraea andina*. *American Journal of Botany* 14(7):370-378.
- Panchaksharapa, M.G. and Rangel J. F. 1965. Male gametophyte and pollen structure in *Furcraea gigantea* Vent. *Palynol. Bull* 1:58-60.

- Panchaksharapa, M.G. and J. F. Rangel. 1966. Floral morphology, sporogenesis and gametogenesis in *Furcraea giagantea* vent. Karmatak Univ. J. Sc. 11: 163-173.
- Piven N.; Barredeondo F., Borges L., Herrera M. 2001. Reproductive Biology of Henequén (*Agave fourcroydes*) and its wild antecessor *Agave angustifolia* (Agavaceae). *American Journal of Botany* 88(11):1966-1976.
- Reiser L.; Fischer R. L.1993.The Ovule and the Embryo Sac. *The plant cell.* 5:1291-1301.
- Ragen L. 1941. The development of the Embryo Sac in *Agave virginica*. *Bulletin of the Torrey Botanical Club* 68: 229- 236.
- Rocha M., Valera A., Eguiarte L., 2005. Reproductive ecology of five sympatric *Agave littaea* (Agavaceae) species in central Mexico. *American Journal of Botany* 92(8):1330-1341.
- Rocha, M., Good-Ávila S.V., Molina-Freaner F., Arita H.T., A. Castillo, A. García Mendoza, A. Silva- Montellano, B.S. Gaut, V. Souza y L. Eguiarte. 2006. Pollination biology and adaptative radiation of Agavaceae, whit special emphasis on the genus *Agave*. *Aliso* 22: 327-342.
- SEMARNAT. 2010. Diario oficial: Norma Oficial Mexicana NOM-ECOL-059-2001, protección al ambiente, especies nativas de México de flora y fauna silvestre-categorías de riesgo y especificaciones para su inclusión, exclusión o cambio-lista de especies en riesgo. EN: <http://www.semarnat.gob.mx/leyesynormas/SEMARNAT%20DOF/Norma%20Oficial%20Mexicana%20NOM-059-SEMARNAT-2010.pdf>

- Silva-Montellano A., Eguiarte L.E. 2003. Geographic patterns in the reproductive ecology of *Agave lechuguilla* (Agavaceae) in the chihuahuan desert. I. floral characteristics, visitors, and fecundity. *American Journal of Botany* 90(3):377-387.

- Sutherland S. D. 1982. The pollination biology of paniculate Agaves: documenting the importance of male fitness in plants. Ph. D. Dissertation University of Arizona, Tucson Arizona, USA.

Anexo I

Descripción de la especie bajo estudio

Sinonimias: *Furcraea bendinghausi* K. Koch, (1873). *Furcraea parmetierii*. Hart. ex. Baker,(1891).

Es una planta arborescente, de tronco simple, monopodial, con una roseta en el ápice, de 2.0 a 2.5 metros, compuesta por hojas (hasta 150), las cuales son lanceoladas, fibrosas y coriáceas, con margen finamente denticulado, glauco o verde-azuloso; cuando las hojas mueren no se caen y permanecen postradas cubriendo el tronco.

La inflorescencia se produce a partir del meristemo apical de la roseta, es una panícula en forma de pirámide y puede medir de 2.5 a 9.0 metros de alto; es verdoso, pubescente y con brácteas púrpuras en la base de las ramas primarias y secundarias. Las flores se producen en fascículos, de 2 a 4 y llegan a medir de 3.5 a 5.5 centímetros de largo. Se encuentran compuestas por seis tépalos, verdosos y pubescentes por fuera y amarillento-blancuzcos por dentro. Las flores cambian a color amarillento después de la antesis y permanecen abiertas durante el día y la noche. Cada flor presenta seis estambres con la base engrosada, las anteras son oblongas, con inserción excéntrica y de color amarillo. El ovario es cilíndrico y tricarpelar; el estigma es superficialmente trilobado. El fruto que se produce es una cápsula ovoide, las semillas son plano convexas, de color blanco y negro, brillante.

Las infrutescencias producen bulbilos foliosos, con hojillas lineares, verde-azulosas y con margen finamente denticulado (García-Mendoza, 2000).

En la fenología de *F. parmentieri*, la producción de escapos se inicia en el mes de enero y la floración ocurre de marzo a mayo. Durante el mes de abril se comienza la fructificación y la formación de bulbilos, los frutos maduran entre junio y octubre y la dispersión de semillas se producen entre noviembre y diciembre (Albarrán-Hernández, 2011).

El tiempo de vida de cada flor es aproximadamente de siete días desde que se da la antesis y las flores son ligeramente protogínicas. Entre los polinizadores nocturnos, se encuentran palomillas y polillas de los géneros *Noctuidae*, *Geometridae*, *Sphingidae*; y los polinizadores diurnos comprenden dos géneros de colibríes, *Hylocaris* y *Cynanthus*, al igual que abejas, avispas y moscas. La producción de néctar es mayor por la mañana (1.34 μ l) y presenta un 28% de concentración de azúcares (Albarrán-Hernández, 2011).

Furcraea parmentieri, se distribuye a lo largo del Eje Neovolcánico, abarcando el Distrito Federal, el Estado de México, Guanajuato, Jalisco, Michoacán, Morelos y quizás Veracruz. En el volcán El Ajusco y el volcán El Pelado se han encontrado las poblaciones más numerosas de esta especie. Entre las altitudes de 2300 a 3400 metros; en bosques mesófilos de montaña, asociados con vegetación de *Quercus*, *Pinus* y *Cupresus* y en suelos de origen volcánico (García-Mendoza, 2000).

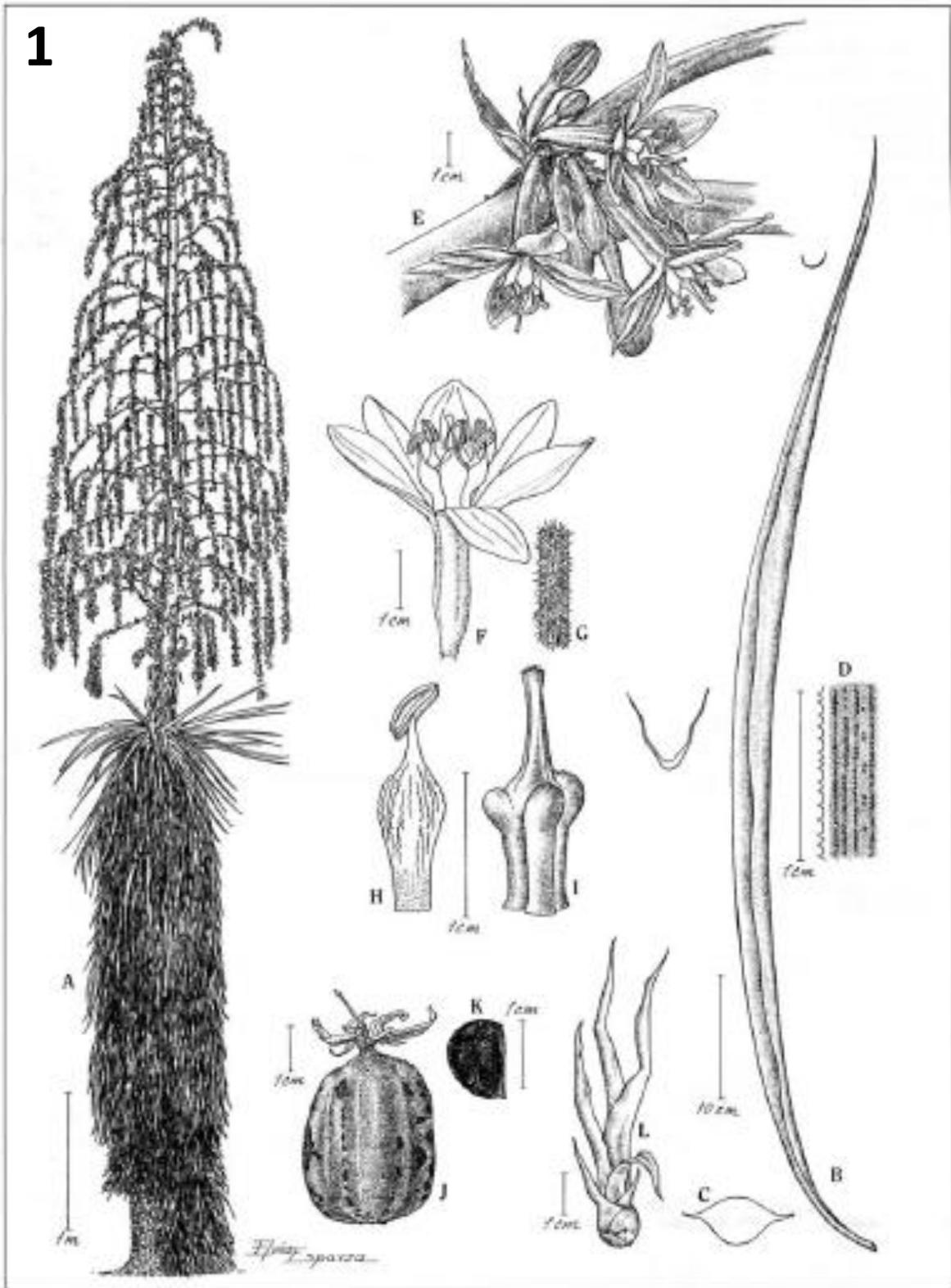


Figura 22. *Furcraea parmentieri*. A) Planta con inflorescencia. B) Hoja. C) Secciones transversales de la hoja. D) Detalle del margen del envés. E) Ramilla secundaria con flores. F) Flor. G) Detalle de la pubescencia del ovario. H) Estambre. I) Pistilo. J) Cápsula. K) Semilla. L) Bulbilo folioso. (Ilustración tomada de García-Mendoza, 2000).

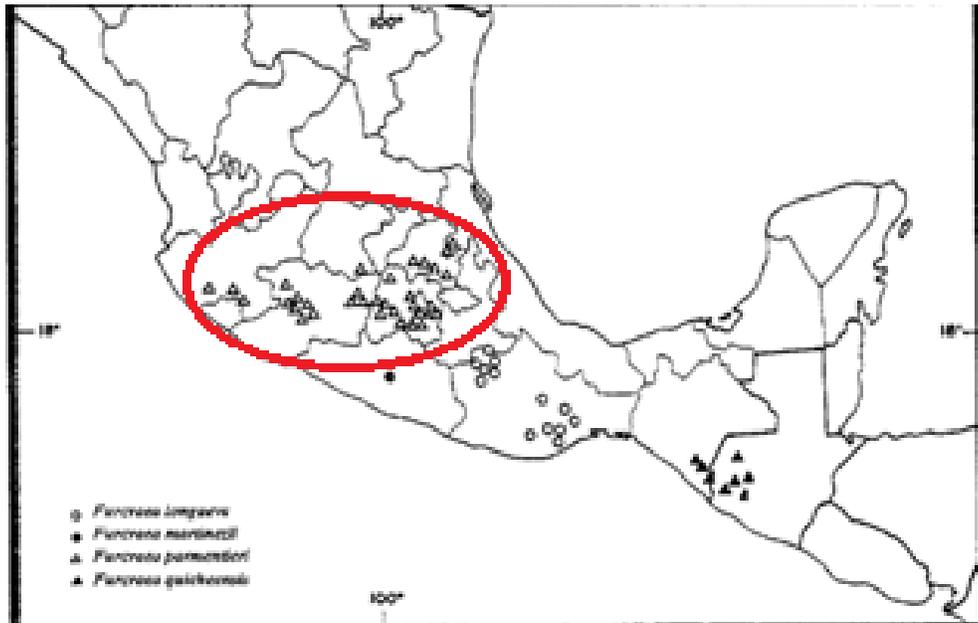


Figura 23. Distribución de *Furcraea parmentieri*. En el círculo se indica la distribución de *Furcraea parmentieri*. (Ilustración tomada de García-Mendoza, 2000).

Anexo II

Sacos embrionarios en angiospermas

El desarrollo del saco embrionario se divide en dos partes: la megasporogénesis y la megagametogénesis, los patrones y los tipos de sacos embrionarios que se desarrollan, se generan por variaciones en la meiosis y por el número de divisiones mitóticas que presentan (Reiser y Fisher, 1993) Fig. 24.

Durante la megasporogénesis, la célula madre de la megaspora lleva a cabo la meiosis, como resultado se producen cuatro megasporas haploides. Dependiendo de la cantidad de megasporas que participan en la formación del saco embrionario, estas se clasifican en monospórico, bispórico o tetraspórico.

En los sacos de tipo monospóricos se presentan dos subtipos. En el tipo *Polygonum*, la megaspora que contribuye a la formación del gametofito es la calazal, donde las tres megasporas posicionadas hacia la región micropilar degeneran; a diferencia del saco embrionario de tipo *Oenothera*, donde la megaspora funcional, es la micrópilar.

El saco embrionario de tipo *Allium* es bispórico, ya que dos megasporas contribuyen a la formación del saco embrionario, donde degenera la megaspora de la región micrópilar.

Durante la megagametogenesis, el gametofito femenino es generado a través de la megaspora funcional. En el saco embrionario de tipo *Polygonum*, se

presentan tres divisiones mitóticas, conformando un saco embrionario con ocho núcleos y siete células; este se encuentra compuesto por una ovocélula y dos sinérgidas ubicadas hacia la región micrópilar, tres antípodas hacia la región calazal y la célula central con dos núcleos (Fig. 25).

Para la formación del saco embrionario de tipo *Oenothera* o *Allium*, se presentan variaciones en el número de divisiones mitóticas, al igual que las células que componen al saco embrionario (Jorhi, 1984) Fig. 24.

Tipo	Megasporogenesis				Megagametogenesis			
	CMM	Meiosis I	Meiosis II	Megaspora funcional	Mitosis	Mitosis	Mitosis	Gametofito
Monosporico (<i>Polygonum</i>)								
Monosporico (<i>Oenothera</i>)							—	
Bisporico (<i>Allium</i>)					—			
Tetrasporico (<i>Adoxa</i>)					—	—		

Figura 24. Patrones de desarrollo del saco embrionario (tomado y modificado de Reiser y Fisher, 1993).

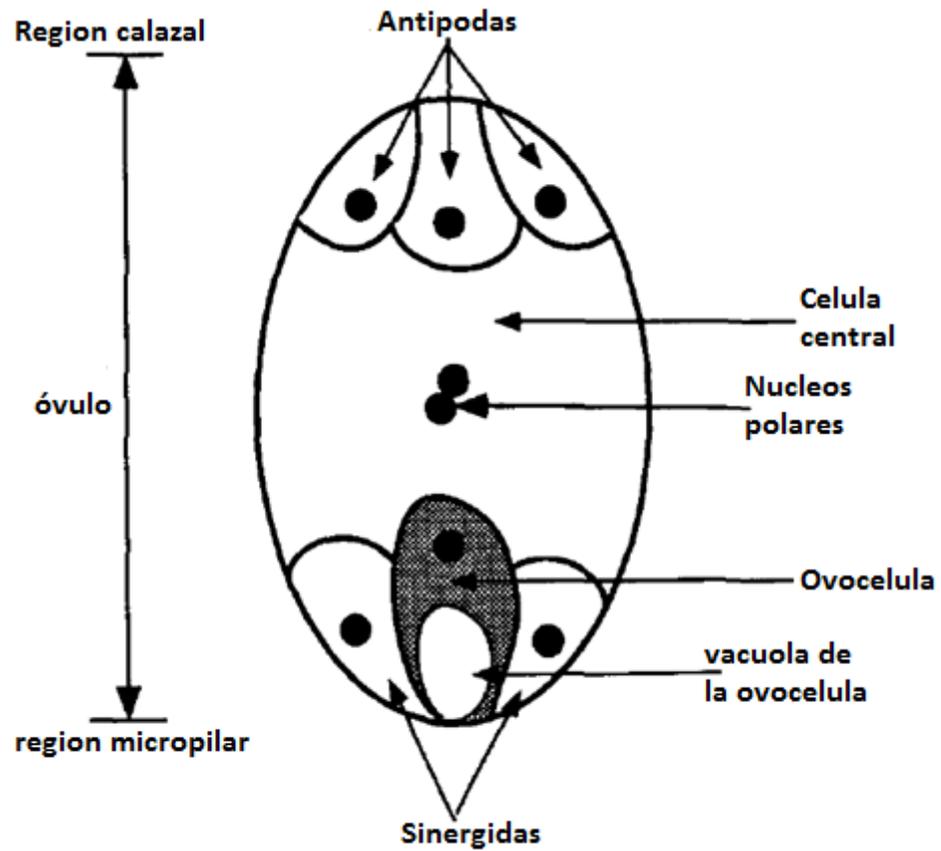


Figura 25. Organización del saco embrionario de tipo *Polygonum* (tomado y modificado de Reiser y Fisher, 1993)