



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA
DE MÉXICO**

FACULTAD DE CIENCIAS

**DESARROLLO DE FRUTOS Y SEMILLAS DE
BDALLOPHYTUM ANDRIEUXII EICHLER (CYTINACEAE)**

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

BIÓLOGA

P R E S E N T A:

GABRIELA DELGADO PÉREZ



**DIRECTORA DE TESIS:
DRA. SONIA VÁZQUEZ SANTANA
Ciudad Universitaria, CDMX, 2021**



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.

1. Datos del alumno

Delgado

Pérez

Gabriela

55 3086 9850

Universidad Nacional Autónoma de México

Facultad de Ciencias

Biología

312295785

2. Datos del asesor

Dra.

Sonia

Vázquez Santana

3. Datos del sinodal 1

Dra.

Guadalupe Judith

Márquez Juzmán

4. Datos del sinodal 2

Dra.

Martha Juana

Martínez Gordillo

5. Datos del sinodal 3

Dra.

Florencia Tiberia Aucán

García Campusano

6. Datos del sinodal 4

Dr.

Daniel

Sánchez Carbajal

7. Datos de la tesis

Desarrollo de frutos y semillas de *Bdallophytum andrieuxii* Eichler. (Malvales: Cytinaceae)

60 pp.

2021

A mis padres, por ser los dos grandes pilares en mi vida, por todo su amor y apoyo incondicional.

A mi hermana por brindarme su ayuda siempre que lo necesito, escucharme y animarme en todo momento.

A mi segunda familia (Adela, Memo y Fer), por poder contar con ellos siempre y por todas las pláticas que terminan en risas.

A Lulú y Luna por el más amoroso recibimiento siempre y acompañarme en todos mis desvelos.

A Tona por estar a mi lado en cualquier momento que he vivido, por siempre tener las palabras que necesito escuchar, por motivarme y apoyarme.

A todas las personas que me brindaron su apoyo durante la carrera.

AGRADECIMIENTOS

A la Universidad Nacional Autónoma de México por brindarme las herramientas necesarias para cumplir mis objetivos y permitirme conocer profesores que me transmitieron su pasión por la Biología.

Al Laboratorio de Desarrollo en Plantas y a todas las personas que lo conforman, por brindarme todo lo necesario para la realización de este trabajo, por sus consejos y su apoyo.

Al Taller “Biología de la reproducción, propagación y fisiología de angiospermas que viven en ambientes contrastantes”, por ser el inicio de este proyecto.

A la Dra. Sonia Vázquez Santana por todo su apoyo, consejos, sugerencias y por proporcionarme los recursos necesarios para la realización de este trabajo.

A la Dra. Guadalupe Judith Márquez Guzmán, a la Dra. Martha Juana Martínez Gordillo, a la Dra. Florencia Tiberia Aucán García Campusano y al Dr. Daniel Sánchez Carbajal por formar parte de mi jurado de tesis y por sus aportaciones que enriquecieron este escrito.

A la M. en C. Sandra Rios Carrasco por todas sus enseñanzas en el laboratorio, por su tiempo, consejos, sugerencias y apoyo durante el trabajo.

A la Dra. Silvia Espinosa Matías, por el procesamiento del material y la toma de fotografías en el Laboratorio de Microscopía Electrónica de Barrido de la Facultad de Ciencias.

A la M. en F.P. Ana Isabel Bieler Antolín por la toma de fotomicrografías en el Laboratorio de Microcine de la Facultad de Ciencias, UNAM.

A mis compañeros del laboratorio por su apoyo y consejos a lo largo de la realización de este trabajo.

La presente tesis se realizó en el Laboratorio de Desarrollo en Plantas del Departamento de Biología Comparada de la Facultad de Ciencias, UNAM, bajo la dirección de la Dra. Sonia Vázquez Santana. El financiamiento recibido fue del **proyecto otorgado por DGAPA, PAPIIT IN223118: *Biología reproductiva de plantas endoparásitas de las familias Apodanthaceae, Mitrastemonaceae y Cytinaceae en México***, otorgado a la directora de tesis.

La presente investigación fue iniciada en la materia del Taller: **Biología de la reproducción, propagación y fisiología de angiospermas que viven en ambientes contrastantes** del Plan de estudios de la Carrera de Biología en la Facultad de Ciencias de la Universidad Nacional Autónoma de México.

RESUMEN	8
1. INTRODUCCIÓN	9
2. ANTECEDENTES	12
2.1. EL HAUSTORIO	12
2.2. TIPOS DE PARASITISMO	13
2.3. DISTRIBUCIÓN DEL PARASITISMO EN PLANTAS	16
2.4. AFECTACIONES DE LAS PLANTAS PARÁSITAS SOBRE SUS HOSPEDEROS	18
2.5. FRUTOS Y SEMILLAS.....	19
3. JUSTIFICACIÓN.....	23
4. OBJETIVOS.....	23
5. MATERIALES Y MÉTODOS	24
5.1. SITIOS DE ESTUDIO.....	24
5.2. ESPECIE DE ESTUDIO	25
5.3. COLECTA Y FIJACIÓN DEL MATERIAL BIOLÓGICO	25
5.4. SEPARACIÓN DEL MATERIAL POR ETAPAS DE DESARROLLO.....	25
5.5. ABLANDAMIENTO DEL MATERIAL BIOLÓGICO.....	26
5.6. DESHIDRATACIÓN DEL MATERIAL.....	26
5.7. INFILTRACIÓN E INCLUSIÓN EN PARAPLAST.....	26
5.8. INFILTRACIÓN E INCLUSIÓN EN LR-WHITE	27
5.9. MICROSCOPIA ELECTRÓNICA DE BARRIDO (MEB)	27
5.10. PRUEBAS HISTOQUÍMICAS	28
6. RESULTADOS.....	29
6.1. MORFOLOGÍA DE LAS INFRUTESCENCIAS Y DEL FRUTO.....	29
6.2. DESARROLLO DEL PERICARPIO	32
6.3. MORFOANATOMÍA DE LAS SEMILLAS.....	34
6.4. EMBRIOGÉNESIS.....	36
6.5. ENDOSPERMOGÉNESIS.....	37
6.6. DESARROLLO DE LA CUBIERTA SEMINAL Y PERISPERMO	39
6.7. PRUEBAS HISTOQUÍMICAS EN LAS SEMILLAS.....	42
7. DISCUSIÓN.....	44
7.1. MORFOANATOMÍA DE LA INFRUTESCENCIA Y DEL FRUTO	44
7.2. LARVAS EN LA INFRUTESCENCIA.....	45

7.3. MORFOANATOMÍA DE SEMILLAS.....	47
7.4. EMBRIOGÉNESIS.....	51
7.5. COMPOSICIÓN HISTOQUÍMICA DE LAS SEMILLAS.....	52
8. CONCLUSIONES.....	54
LITERATURA CONSULTADA	55

RESUMEN

Bdallophytum (Cytinaceae, Malvales) es un género de plantas endoparásitas de raíces de *Bursera* (Burseraceae). Crecen dentro de los tejidos de la planta hospedera, se nutren de ella y emergen de la corteza sólo durante la etapa reproductiva. Existen muy pocos trabajos sobre el desarrollo de frutos y semillas de plantas endoparásitas. Este estudio aborda a la especie *Bdallophytum andrieuxii*, endoparásita de *Bursera bicolor*. Se analizó el desarrollo e histoquímica de los frutos y las semillas mediante cortes histológicos en Paraplast y LR-White. Se describe la micromorfología por medio de microscopía electrónica de barrido.

B. andrieuxii presenta una infrutescencia ovoide a subglobosa, que sostiene bayas concrecentes y carnosas, sostenida por un pedúnculo. La familia Cytinaceae se caracteriza por presentar infrutescencias carnosas, pero la concrecencia de los frutos puede estar ausente en algunos géneros. La pared del fruto está conformada por tres partes principales: exocarpio, mesocarpio y endocarpio. El exocarpio conformado por células alargadas, glandulares, mesocarpio con abundantes braquiesclereidas y los estratos más internos con células de apariencia secretora; el endocarpio con células secretoras de mucílago. Cada fruto contiene numerosas y pequeñas semillas, amarillentas y embebidas en mucílago, siendo muy similar al fruto de *Muntingia calabura*, de la familia Muntingiaceae, grupo hermano de Cytinaceae. Las células epidérmicas de la testa son globosas y con cutícula estriada. Las semillas maduras tienen una testa biestratificada, un perispermo reducido a pocos estratos de células parenquimáticas diminutas, que rodea a un endospermo relativamente abundante, con células de mayor tamaño que las del perispermo y un embrión reducido a unas cuantas células, de apariencia globular. Los embriones reducidos e indiferenciados están presentes en todas las familias de plantas holoparasitas. El principal tejido de reserva en las semillas es el endospermo cualitativamente se aprecian lípidos como principal reserva, seguidos de almidón y proteínas, como ocurre en distintas familias de plantas parásitas.

Se reporta por primera vez la presencia de un perispermo persistente en semillas maduras de *B. andrieuxii*. El estudio morfoanatómico y de desarrollo genera caracteres para apoyar o corroborar las hipótesis de relaciones filogenéticas en Cytinaceae y grupos hermanos.

1. INTRODUCCIÓN

El parasitismo es una relación ecológica entre las poblaciones de dos especies diferentes de organismos, uno de ellos denominado parásito y el otro hospedero (Crofton, 1971). Dicha forma de vida está ampliamente distribuida en todos los grupos de organismos y es una de las formas de vida más exitosas, mediada por la frecuencia con la que evolucionó y la cantidad de especies parásitas que existen actualmente (Poulin y Morand, 2000).

Las plantas parásitas están conformadas por 292 géneros y 4750 especies, aproximadamente, representando el 1.6% de las especies de angiospermas (Nickrent, 2020). Presentan una distribución global, desde el ártico hasta los trópicos (Watling y Press, 2001) y son morfológicamente muy diversas, con representantes herbáceos de talla diminuta, hasta grandes árboles, así como formas muy reducidas que carecen de raíces y hojas y que se desarrollan dentro de sus hospederos; estas últimas se conocen como endoparásitas, representando la manifestación más extrema del parasitismo (Twiford, 2018).

La familia Cytinaceae está conformada por plantas holoparásitas, particularmente endoparásitas de raíces, con un sistema endofítico embebido en el hospedero (Alvarado-Cárdenas, 2015). Dicha familia se consideraba conformada por dos géneros (*Bdallophytum* Eichler. y *Cytinus* L.) (Burgoyne, 2006), posteriormente se incluyó en esta familia al género *Sanguisuga* Fern.Alonso & H. Cuadros (Fernández-Alonso y Cuadros-Villalobos, 2012). Las especies de Cytinaceae parasitan a las familias Burseraceae, Euphorbiaceae, Cupressaceae, Asteraceae, Rosaceae y Rhamnaceae (Burgoyne, 2006; Alvarado-Cárdenas, 2009; Fernández-Alonso y Cuadros-Villalobos, 2012; Alvarado-Cárdenas, 2015). *Cytinus* se distribuye alrededor

del Mediterráneo (Europa, África y Asia) (Smithies y Burgoyne, 2010), *Sanguisuga* en Sudamérica (Fernández-Alonso y Cuadros-Villalobos 2012) y *Bdallophytum* es endémico de América, distribuyéndose desde el norte de México hasta Centroamérica (Alvarado-Cárdenas, 2009). Cytinaceae se reconoce actualmente como grupo hermano de la familia Muntingiaceae en el orden Malvales (Nickrent, 2007).

La presencia de plantas parásitas genera impactos en diferentes niveles de organización. Uno de ellos es sobre la planta hospedera, provocando efectos sobre el crecimiento, alometría, reproducción y fisiología; también pueden afectar la biomasa de la comunidad vegetal al reducir la productividad de la comunidad, o en la diversidad al modificar los equilibrios competitivos de las especies que conforman la comunidad; de igual manera regulan la zonificación de la vegetación; modifican los ciclos biogeoquímicos y la disponibilidad de nutrientes y participan de manera directa e indirecta en las interacciones con herbívoros, hongos micorrízicos, otros parásitos, polinizadores y dispersores (Press y Phoenix, 2005).

Actualmente existen escasos trabajos sobre la biología reproductiva de las plantas parásitas; estos trabajos permiten comprender la ecología, el estado actual y el manejo de las especies involucradas (Azpeitia y Lara, 2006). Para la familia Cytinaceae existe muy poca información sobre la germinación, la dispersión de frutos y semillas y la morfoanatomía de dichos órganos. Asimismo, se carece del conocimiento de otros aspectos de su biología reproductiva. Uno de los factores que influye en la falta de información sobre las semillas se debe al tamaño reducido de sus estructuras reproductivas y a lo efímero de su floración y fructificación.

La especie *B. andrieuxii* es parásita de *Bursera bicolor* (Willd. Ex Schtdl.) Engl. (Burseraceae), *Euphorbia* L. sp. (Euphorbiaceae) y *Juniperus* L. sp. (Cupressaceae).

En esta especie se ha estudiado detalladamente la morfología, desarrollo floral y embriología hasta la etapa de antesis (Rios-Carrasco y Vázquez-Santana, 2021), pero aún no existe información sobre el desarrollo de frutos y semillas.

2. ANTECEDENTES

2.1. EL HAUSTORIO

Las plantas parásitas son aquellas que se adhieren morfológica y fisiológicamente a otras plantas (hospederos) a través de un haustorio, mediante el cual obtienen agua y una parte o todos los nutrimentos necesarios para su propia existencia (Heide-Jorgensen, 2008; Westwood *et al.*, 2010; Nickrent, 2020). Los haustorios son órganos multicelulares, especializados para la unión al hospedero (Heide-Jorgensen, 2008; Yoshida *et al.*, 2016). Por lo tanto, funcionan para la adhesión, invasión, la conexión de los tejidos vasculares y la transferencia de los recursos del hospedero hacia la planta parásita (Westwood *et al.*, 2010; Yoshida *et al.*, 2016).

En algunas plantas parásitas se ha demostrado que las fitohormonas como las estrigolactonas, flavonoides, quinonas y citoquininas, liberadas por la raíz del hospedero, son detectadas por las semillas, estimulando la germinación y la formación de los haustorios (Chang y Lynn, 1986; Albrecht *et al.*, 1999; Goyet *et al.*, 2017). La planta parásita percibe dichas fitohormonas secretadas por la raíz del hospedero e inicia una vía de señalización que conduce a la acumulación de especies reactivas de oxígeno en la raíz de la planta parásita y en el sitio de iniciación del haustorio, posteriormente la auxina se acumula en el sitio de formación del haustorio por transporte desde los tejidos proximales o por biosíntesis de novo, después las células corticales de la raíz en el haustorio se expanden y provocan la inflamación del sitio de formación del haustorio. Más

tarde, las células del córtex interna, la epidermis, la endodermis y el periciclo comienzan a dividirse y a unirse al hospedero, las células epidérmicas en el ápice del haustorio secretan enzimas que degradan la pared celular para suavizar y penetrar el tejido del hospedero, formando la conexión vascular entre el hospedero y la planta parásita (Kokla y Melnyk, 2018). La invasión del haustorio en los tejidos del hospedero no es reconocida como un ataque patógeno, lo que implica que la planta hospedera no activa mecanismo de defensa ante la planta parásita, por lo que continua y termina su desarrollo (Vaughn, 2003).

2.2. TIPOS DE PARASITISMO

Las plantas parásitas se pueden clasificar en función de si son fotosintéticamente activas (**hemiparásitas**) en al menos una parte de su ciclo de vida, o si carecen de fotosíntesis (**holoparásitas**), en las cuales la mayoría de los genes del cloroplasto están ausentes o se han convertido en pseudogenes (Roquet *et al.*, 2016).

Dependiendo del sitio de unión con los hospederos, se reconocen **plantas parásitas de tallos** o **parásitas de raíces** (Twyford, 2018). A través de sus conexiones haustoriales, las hemiparásitas, generalmente, sólo obtienen agua con algunos iones y nutrientes del xilema; mientras que las holoparásitas obtienen agua y algunos iones del xilema y fotosintatos del floema del hospedero. Lo anterior implica que la conexión entre los tejidos conductores de la parásita y el hospedero pueden ser únicamente con el xilema, o la conexión completa con el xilema y floema de ambos participantes (Nickrent, 2002).

Se pueden distinguir dos componentes principales que conforman el cuerpo de las plantas parásitas, siendo el **exófito** todas aquellas partes visibles externamente del parásito; el **endófito** corresponde a las partes del parásito inmersas en el tejido de la planta hospedera (Heide-Jorgensen, 2008).

Dentro de las holoparásitas se encuentran las **endoparásitas**, cuyos cuerpos vegetativos o endófitos crecen completamente dentro de las raíces (especies de Cytinaceae, Mitrastemonaceae y la mayoría de Rafflesiaceae) o dentro de los tallos del hospedero (especies de Apondanthaceae y algunas especies de *Rafflesia* R.Br. Ex Thompson bis) y emergen sólo durante la floración para efectuar la reproducción sexual (Nickrent, 2002; Barkman *et al.*, 2007; Filipowicz y Renner, 2010; de Vega *et al.*, 2010).

La dependencia del hospedero por parte de las plantas parásitas, así como el rango de hospederos a los que se puede unir es variable. Las **hemiparásitas facultativas** pueden completar su ciclo de vida sin un hospedero, mientras que las **parásitas obligadas** (hemiparásitas u holoparásitas) necesitan un hospedero para sobrevivir y reproducirse. Debido a esto, muchas parásitas facultativas son generalistas, ya que pueden unirse a una amplia gama de hospederos, mientras que las parásitas obligadas (particularmente las holoparásitas) se especializan en parasitar a una sola especie (Twyford, 2018).

Algunos atributos de los hospederos que determinan el crecimiento y desarrollo de las plantas parásitas son la arquitectura de las raíces y tallos, el tiempo de germinación y tasa de crecimiento, así como su fisicoquímica y los mecanismos de defensa como la producción de especies reactivas de oxígeno, deposición de

calosa, oclusión de vasos y la expresión de genes relacionados con la inmunidad ante la invasión de las plantas parásitas (Twyford, 2018). De igual manera influye la compatibilidad genética, composición y fisiología de los tejidos, la distribución geográfica, la biología de la dispersión y los factores ambientales (Rubiales y Heide-Jorgensen, 2011), así como las características estructurales de los frutos y las semillas de las plantas parásitas cuando se dispersan. Existe una amplia información sobre la morfología, composición, dispersión y germinación de varias especies de hemiparásitas de los géneros *Striga* Lour., *Orobancha* L. y *Cuscuta* L. (Plaza *et al.*, 2004; Matusova *et al.*, 2005; Jayasuriya *et al.*, 2008; Wakabayashi *et al.*, 2015; Olszewski *et al.*, 2020); sin embargo, es poco lo que se conoce de especies holoparásitas.

2.3. DISTRIBUCIÓN DEL PARASITISMO EN PLANTAS

El parasitismo ha evolucionado de manera independiente 12 veces en las angiospermas (Figura 1) (Nickrent, 2020); mientras que el endoparasitismo ha surgido únicamente en cuatro linajes independientes (Apodanthaceae, Rafflesiaceae, Cytinaceae y Mitrastemonaceae) (Barkman *et al.*, 2007; Westwood *et al.*, 2010).

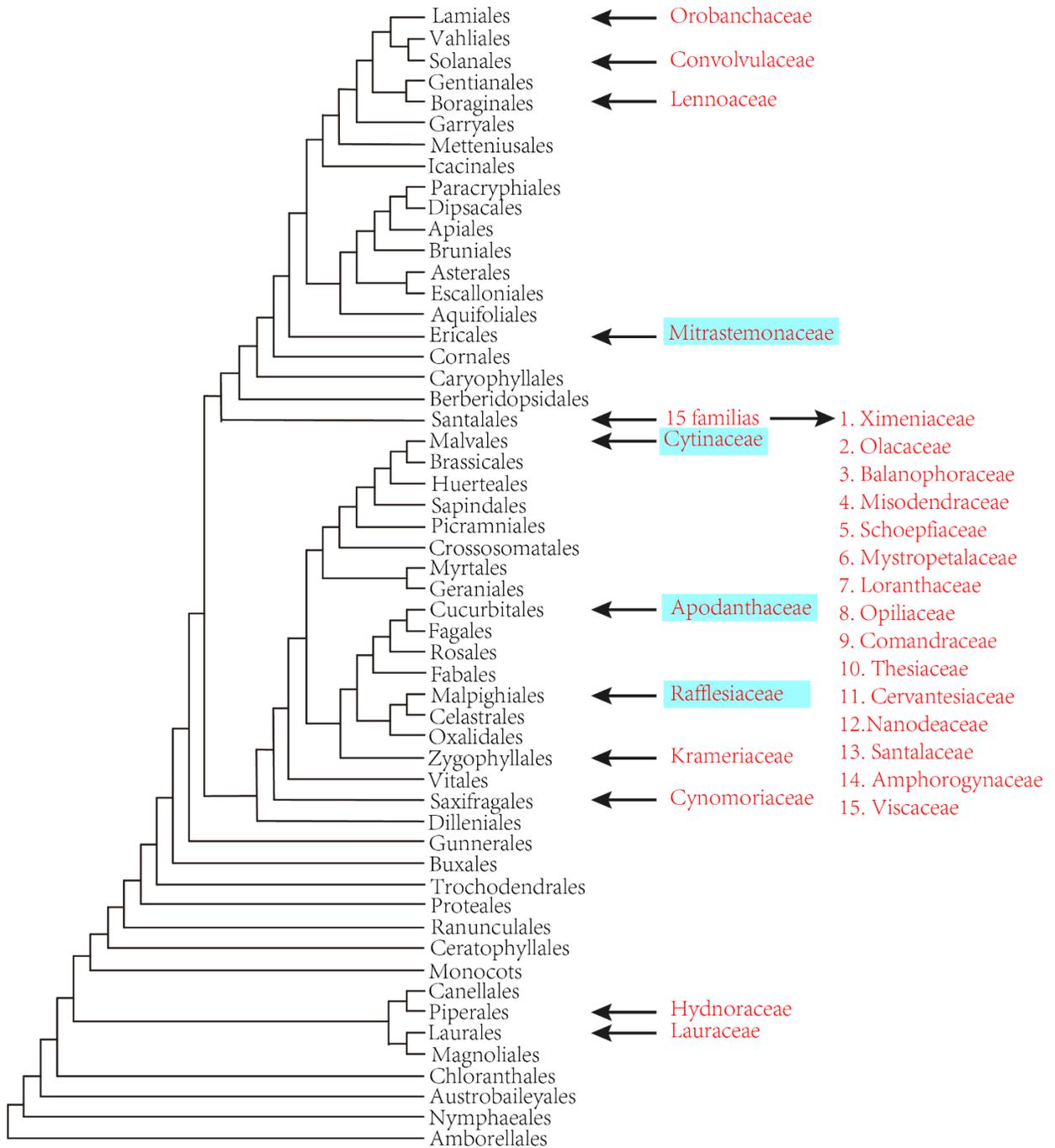


Figura 1. Árbol filogenético de angiospermas mostrando los 12 eventos evolutivos independientes de parasitismo (flechas), resaltando en azul las familias de endoparásitas. En el caso del orden Santalales son 15 familias las que presentan especies parásitas. Tomado y modificado de (Nickrent, 2020).

2.4. AFECTACIONES DE LAS PLANTAS PARÁSITAS SOBRE SUS HOSPEDEROS

Algunas plantas parásitas causan grandes estragos en las plantas hospederas, silvestres o cultivadas. Dentro de las consecuencias que genera el crecimiento de las plantas hemiparásitas en los hospederos, se ha mencionado la disminución en la tasa de crecimiento y biomasa de la alfalfa (*Medicago sativa* L., Fabaceae) por parte de *Rhinanthus serotinus* (Schönh.ex Halácsy & Heinr. Braun) Oborný. (Orobanchaceae) y *Odontites rubra* Opiz. (Orobanchaceae) (Matthies, 1995). De igual manera, Mathiasen *et al.* (2008) mencionan la reducción en el crecimiento, fructificación, producción y vigor de semillas de los hospederos que son parasitados por muérdagos del orden Santalales. Těšitel *et al.* (2010) resaltan la afectación y la disminución de la tasa de crecimiento del hospedero y, por lo tanto, la disminución de su capacidad competitiva provocada por especies hemiparásitas.

En lo que respecta a plantas holoparásitas, Gomes y Fernandes (1994) mencionan la alteración de la arquitectura de la planta, así como la disminución del tamaño y peso de frutos y semillas en *Mimosa maguirei* Barneby (Fabaceae), especie parasitada por *Pilostyles ingae* (H. Karst.) Hook. f. (Apodanthaceae). Medel *et al.* (2002) informaron una reducción importante en la producción de frutos, el número de semillas por fruto y el número total de semillas del hospedero *Echinopsis chiloensis* (Colla) Friedrich & G.D. Rowley (Cactaceae) por parte de la parásita endofítica *Tristerix aphyllus* (Miers ex DC.) Barlow & Wiens (Loranthaceae). De igual manera García-Franco *et al.* (2007) muestran que la presencia de *Bdallophytum americanum* (R. Br.) Eichler ex Solms (Cytinaceae) reduce el número de vasos en las raíces de su hospedero *Bursera simaruba* (L.) Sarg. (Burseraceae).

Además de impactar en los sistemas naturales, las plantas parásitas también afectan los sistemas agrícolas (Twyford, 2018). Las especies de los géneros *Striga* y *Orobanche* son las más destructivas agrónomicamente a nivel mundial (Westwood *et al.*, 2010). Las especies de *Orobanche* afectan significativamente cultivos de algunas leguminosas, umbelíferas, compuestas, solanáceas y cucurbitáceas; las del género *Striga* parasitan principalmente cultivos de cereales y leguminosas, provocando pérdidas considerables en la productividad de los cultivos, porque su ciclo de vida está altamente coordinado con sus plantas hospederas, pero generalmente es más rápido el de las plantas parásitas (Parker, 2008; Westwood *et al.*, 2010). Una característica que dificulta el control de plantas parásitas se debe al gran número de semillas que se desarrollan y caen en el suelo, lo que forma bancos de semillas; así como las características propias de la morfología y dispersión de las diásporas (Aly, 2007).

2.5. FRUTOS Y SEMILLAS

Después de la fecundación, las paredes del ovario comienzan a transformarse para formar el fruto. Este órgano protege a las semillas que contiene y cuando se encuentran maduras participa en la dispersión, ya sea de forma activa o pasiva (Megías *et al.*, 2018). Por otra parte, las cubiertas de las semillas protegen al embrión de patógenos y de las condiciones ambientales adversas. Las semillas son muy diversas morfológicamente, pero normalmente poseen tres componentes principales: embrión, tejidos de almacenamiento (ya sea cotiledones, endospermo o perispermo) y una capa protectora (cubierta seminal) (Sabelli y Larkins, 2015). Las semillas desempeñan una función fundamental en la renovación, persistencia y dispersión de las poblaciones y sucesión ecológica (Doria, 2010).

El estudio de la morfología y anatomía de frutos y semillas son abordados en diferentes áreas. La forma, tamaño y origen, así como las diferentes estructuras anatómicas de frutos y semillas están involucradas en los mecanismos de dispersión. Generalmente para cada modo de dispersión las semillas o frutos presentan adaptaciones tanto morfológicas como anatómicas (Fahn y Werker, 1972). En el área de la fisiología de la germinación, conocer la conformación de la semilla y pericarpio ayuda a determinar si la semilla presenta algún tipo de latencia (Ribeiro *et al.*, 2015), principalmente la penetración del agua al interior está determinada por la cubierta seminal (Werker, 1980). Por lo cual, los estudios ontogénicos y anatómicos permiten comprender e interpretar el comportamiento de las semillas durante la germinación. De igual forma los caracteres morfoanatómicos de las semillas y frutos son utilizados en la delimitación e identificación de taxones, permitiendo en ocasiones resolver problemas sistemáticos y entender las filogenias (Gabr, 2014).

Son escasos los estudios sobre el desarrollo de frutos y semillas en plantas parásitas, particularmente para las endoparásitas, debido a la extrema reducción de sus cuerpos vegetativos y su casi efímera floración y fructificación. Para el caso de *Bdallophytum andrieuxii* no existen trabajos sobre la caracterización y desarrollo de los frutos y las semillas.

Bdallophytum está conformado por tres especies de plantas parásitas, dioicas o polígamo-monoicas (*B. americanum*, *B. andrieuxii* y *B. oxylepis* (B.L. Rob.) Harms), con ejes florales espiciformes, carnosos, no ramificados, escasa o densamente pubescente-glandulares, hojas a manera de brácteas foliáceas, oblongas, lanceoladas a ovadas y agudas. Presentan una inflorescencia con flores moradas o violáceas, unisexuales y/o hermafroditas, estigma lobulado, perigonio campanulado o rotáceo, ovario globoso, con 7-12 placentas. Los frutos son bayas globosas u ovoides, densamente pubescente-glandulares y semillas amarillas con testa ornamentada (Carranza, 2002; Alvarado-Cárdenas, 2009; Fernández y Cuadros, 2012). Recientemente Rios-Carrasco y Vázquez-Santana (2021) estudiaron, de manera comparativa, la morfología y desarrollo floral de las tres especies de *Bdallophytum*, corroborando que *B. americanum* y *B. andrieuxii* son dioicas, mientras que *B. oxylepis* es ginomonoica.

Las tres especies del género presentan ovarios ínferos uniloculares y concrescentes, con placentación parietal, intrusiva e irregular, con numerosos óvulos ortótropos y unitégmicos y con funículos cortos (Bouman y Meijer, 1994; Rios-Carrasco y Vázquez-Santana, 2021).

De acuerdo con Bouman y Meijer (1994), las semillas contienen embriones pequeños, indiferenciados, conformados por sólo unas pocas células, en algunos casos sin una protodermis reconocible y una o dos capas de endospermo. *B. oxylepis* presenta semillas de forma globular o ligeramente elíptica, mientras que *B. americanum*, presenta semillas fusiformes. Las células epidérmicas de las placentas y de las paredes internas del fruto son mucilaginosas para todas las especies; el mucílago se forma durante el desarrollo a partir de la degeneración de

la capa epidérmica de la placenta (Bouman y Meijer, 1994; Rios-Carrasco y Vázquez-Santana, 2021). El fruto es una baya con numerosas semillas rodeadas de pulpa (Nickrent, 2007; Rios-Carrasco y Vázquez-Santana, 2021). Sin embargo, es poco lo que se conoce del desarrollo de la cubierta seminal, del embrión o de la endospermogénesis completa.

El desarrollo de las semillas sólo se ha descrito para *B. oxylepis*, las cuales carecen de un rafe, ya que provienen de óvulos ortótropos, son semillas sésiles, ya que no presentan funículo, el hilo y el micrópilo están en lados opuestos, el micrópilo forma una protuberancia a manera de cuenco y un canal micropilar distintivo. La zona hilar de la semilla es algo aplanada. Las células de la testa están dispuestas en hileras longitudinales. Las células en la región media de la semilla a menudo son alargadas. Las paredes celulares externas de la testa son convexas, con cutícula relativamente delgada y células alargadas. En frutos secos, el mucílago está presente como una capa extra, delgada y seca en la superficie de la semilla. El endospermo es de paredes delgadas, con cuerpos de aceite y proteínas (Bouman y Meijer, 1994).

3. JUSTIFICACIÓN

Conocer el desarrollo de los frutos y semillas de *B. andrieuxii* permitirá caracterizar los detalles estructurales y morfoanatómicos que distinguen a esta especie y ayudará a interpretar algunos aspectos de su biología reproductiva como la dispersión de las diásporas.

4. OBJETIVOS

OBJETIVO GENERAL

Describir el desarrollo de los frutos y las semillas de *Bdallophytum andrieuxii*.

OBJETIVOS PARTICULARES

1. Describir la morfología y anatomía de los frutos y las semillas de *B. andrieuxii*.
2. Describir la embriogénesis y la endospermogénesis de *B. andrieuxii*.
3. Describir el desarrollo de la cubierta seminal.
4. Analizar la composición histoquímica de las semillas.

5. MATERIALES Y MÉTODOS

5.1. SITIOS DE ESTUDIO

La colecta del material biológico se realizó en dos localidades (Figura 2). Una en Casahuatlán, municipio de Amacuzac, Morelos, México ($18^{\circ}33'58.9''N$ $99^{\circ}24'0.9.1''O$; a 1106 msnm). El clima de la región es cálido, subhúmedo, con lluvias de verano y el tipo de vegetación predominante es bosque tropical caducifolio (Galindo y Fernández, 2002). La segunda localidad se ubica en Huaxtla, municipio de Tlaquiltenango, Morelos, México ($18^{\circ}22'00''N$, $99^{\circ}02'49''O$; 1115 msnm). Ambos municipios pertenecen a la Reserva de la Sierra de Huautla. La región donde se ubica esta reserva tiene influencia tanto neotropical como neártica. La temperatura anual promedio es superior a $20^{\circ} C$ y precipitación promedio de 800 ml^3 . Los tipos de vegetación son selva baja caducifolia y bosque de encinos (Fernández *et al.*, 2007).

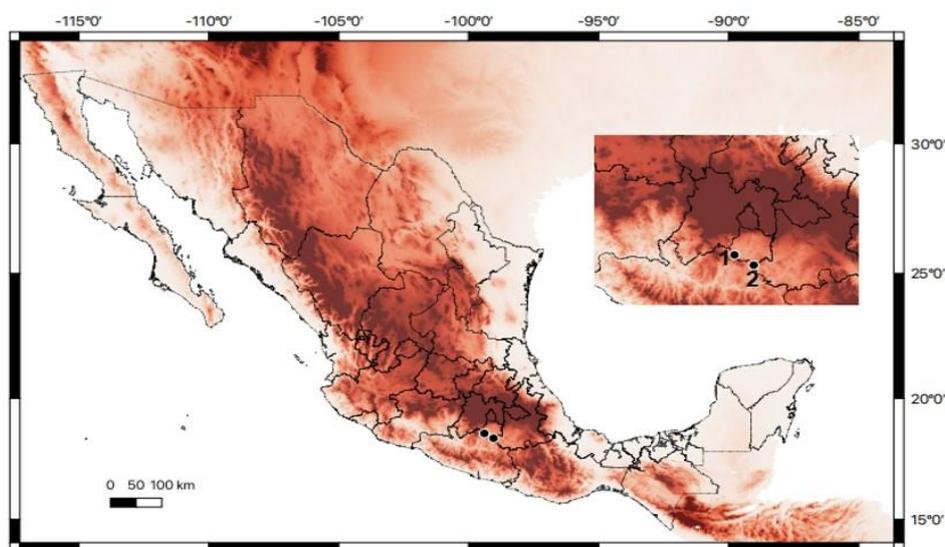


Figura 2. Sitios de colecta del material biológico en el estado de Morelos, México 1) Casahuatlán, municipio de Amacuzac; 2) Huaxtla, municipio de Tlaquiltenango.

5.2. ESPECIE DE ESTUDIO

Bdallophytum andrieuxii es una especie dioica, con inflorescencias en espigas terminales, pedunculadas y dimórficas, la forma, tamaño y color del perigonio es diferente para cada morfo floral (Rios-Carrasco y Vázquez-Santana, 2021). Presenta una inflorescencia con 40 o más flores (femeninas o masculinas). Los frutos son bayas de color pardo, con un diámetro de 0.8 a 1.2 cm de largo y son concrecentes a lo largo de la infrutescencia. Las semillas miden de 0.3 a 0.4 mm de largo. La floración y fructificación están registradas en junio y julio respectivamente. Esta especie es endémica de México, se distribuye en los estados de Guerrero, Michoacán, Morelos, Oaxaca y Puebla, en altitudes de 1173 a 1410 msnm, en bosque tropical caducifolio y matorral xerófilo (Alvarado–Cárdenas, 2009).

5.3. COLECTA Y FIJACIÓN DEL MATERIAL BIOLÓGICO

Se colectaron frutos y semillas en diferentes etapas de desarrollo en las localidades de Casahuatlán, Morelos y Huaxtla, Morelos en junio de 2017 y febrero 2018, respectivamente. El material vegetal se transportó en bolsas de papel estraza y se fijó en FAA (formaldehído, etanol, ácido acético, agua 1:5:0.5:3.5), durante al menos una semana (Márquez *et al.*, 2016). Varias muestras fueron fotografiadas en fresco en el sitio de colecta.

5.4. SEPARACIÓN DEL MATERIAL POR ETAPAS DE DESARROLLO

El material vegetal colectado se lavó tres veces con agua corriente para eliminar el fijador. Posteriormente, se deshidrató en una serie de soluciones de etanol en concentraciones graduales (30%, 50%, 70%) durante 30 minutos cada uno. Para el

almacenamiento del material se realizó un cambio de etanol al 70% después de 24 horas (Márquez *et al.*, 2016). Finalmente, los frutos se separaron de la infrutescencia y se clasificaron por etapas de acuerdo con la apariencia del fruto, medidas de longitud y diámetro del fruto y la forma de las semillas; considerando las semillas alargadas como las etapas más tempranas, mientras que las de forma globular como las etapas maduras. Para realizar las mediciones se utilizó un vernier y el programa Leica Application Suite Versión 3.4.0.

5.5. ABLANDAMIENTO DEL MATERIAL BIOLÓGICO

Dado que los frutos y las semillas contienen una gran cantidad de mucílago que impide la infiltración de fijadores y medios de inclusión, éstas se colocaron en una solución de GAA (Glicerina, Etanol 100%, Agua 1:1:1) durante tres semanas, a temperatura ambiente, para posteriormente deshidatarlas (Sandoval, 2005).

5.6. DESHIDRATACIÓN DEL MATERIAL

Los frutos en las diferentes etapas de desarrollo se deshidataron en una serie gradual de etanol 70%, 85%, 96%, 100% por 1.5 h en cada uno, en una cámara de vacío.

5.7. INFILTRACIÓN E INCLUSIÓN EN PARAPLAST

El material deshidratado se colocó en una mezcla 1:1 de etanol 100%-xilol durante 15 min; en xilol puro por 15 min (procesos realizados en cámara de vacío); xilol-Paraplast (1:1) durante 24 h y finalmente Paraplast puro por 48 h (el material se dejó en estas mezclas en una estufa a 56 °C). Posteriormente, los tejidos se incluyeron en cubos de metal con Paraplast puro. Se obtuvieron cortes de 5 µm de grosor con un microtomo de rotación American Optical 820 y se tiñeron con la técnica de safranina-

verde rápido, se montaron con resina sintética y se observaron en un microscopio óptico Olympus Provis AX70, adaptado con una cámara digital Evolution MP 5.1 para obtener fotomicrografías (Márquez *et al.*, 2016).

5.8. INFILTRACIÓN E INCLUSIÓN EN LR-WHITE

El material deshidratado se sometió a mezclas de LR-White y etanol absoluto a distintas proporciones (1:3,1:1,3:1) por 24, 6 y 4 h respectivamente (procesos realizados en cámara de vacío) y finalmente se infiltraron en LR-White puro por 48 h a 4 °C. Las muestras se incluyeron en LR-White puro, en cápsulas de gelatina y se polimerizaron en una estufa a 56 °C por 24 h. Posteriormente, se obtuvieron cortes de 1.5 µm de grosor con un ultramicrotomo JMT-MT-990. Los cortes se tiñeron con azul de toluidina 1%, se montaron con resina sintética y se observaron en un microscopio óptico Olympus Provis AX70 adaptado con una cámara digital Evolution MP 5.1, para obtener fotomicrografías (Márquez *et al.*, 2016).

5.9. MICROSCOPIA ELECTRÓNICA DE BARRIDO (MEB)

Antes de ser procesadas, las semillas fueron lavadas varias veces con etanol y acetona para remover el exceso del mucílago y observar la testa. Posteriormente los óvulos y semillas para analizar con MEB se deshidrataron hasta etanol al 100%. Posteriormente, se desecaron a punto crítico con CO₂ en una secadora (CPD-030 Bal-Tec), se montaron en portamuestras metálicos y se cubrieron con oro en una ionizadora (Denton Vacuum Desk-II) y se obtuvieron fotomicrografías bajo un microscopio electrónico de barrido Jeol JSM-5310LV (Márquez *et al.*, 2016).

5.10. PRUEBAS HISTOQUÍMICAS

De cortes de semillas incluidas en LR-White o Paraplast se realizaron cuatro pruebas histoquímicas. 1) Iugol para detectar almidón, 2) rojo O de aceite para lípidos, 3) ácido peryódico de Schiff (APS) para polisacáridos insolubles y 4) APS azul negro de naftol para detectar al mismo tiempo polisacáridos insolubles y proteínas (Márquez *et al.*, 2016).

6. RESULTADOS

6.1. MORFOLOGÍA DE LAS INFRUTESCENCIAS Y DEL FRUTO

Las infrutescencias de *B. andrieuxii* surgen de inflorescencias espiciformes y carnosas y aparecen en grupos pequeños (Figura 3A) o de manera solitaria, sobre una sola raíz del hospedero (*Bursera bicolor*). La infrutescencia madura es de color durazno, con un diámetro de 2.4 ± 0.4 y de 5.5 ± 1.1 cm de largo, sostiene bayas carnosas concrecentes, fusionadas entre ellas y al eje de la infrutescencia (Figura 3B-3C), la cual está sostenida por un pedúnculo de 5.8 ± 1.06 cm de largo, con pequeñas brácteas de color café. Cada fruto presenta reminiscencias florales (tépalos, estigma y estilo) de color negro. La **infrutescencia** es ovoide a subglobosa, sostiene frutos que maduran de manera asincrónica (se distinguen por la forma de las semillas). Cada **fruto** de la infrutescencia mide, en promedio, 0.9 ± 0.1 cm de largo y 0.7 ± 0.1 cm de ancho, cada uno de ellos con una bráctea de color café (Figura 3B). El interior del fruto es de color rosa-durazno, liso y mate (Figura 3C). La etapa 1 (temprana) corresponde a frutos con semillas que presentan una forma alargada (Figura 3D). En la etapa 2 (intermedia) el fruto contiene, semillas tanto de forma alargada como de forma subglobular (Figura 3E). En la etapa 3 (madura) todas las semillas son de forma globular (Figura 3F). Los frutos están unidos de manera concrecente, desde la base hasta tres cuartas partes de éstos, la parte superior de los frutos es libre. Cada fruto contiene numerosas y pequeñas semillas embebidas en mucílago (Figura 3G), el tipo de placentación es parietal intrusiva (Figura 3H). La epidermis externa del exocarpio, en la zona apical es pubescente, con tricomas glandulares pluricelulares y uniseriados, formados por tres a siete células, los cuales son abundantes y forman una capa muy densa (Figura 3I).

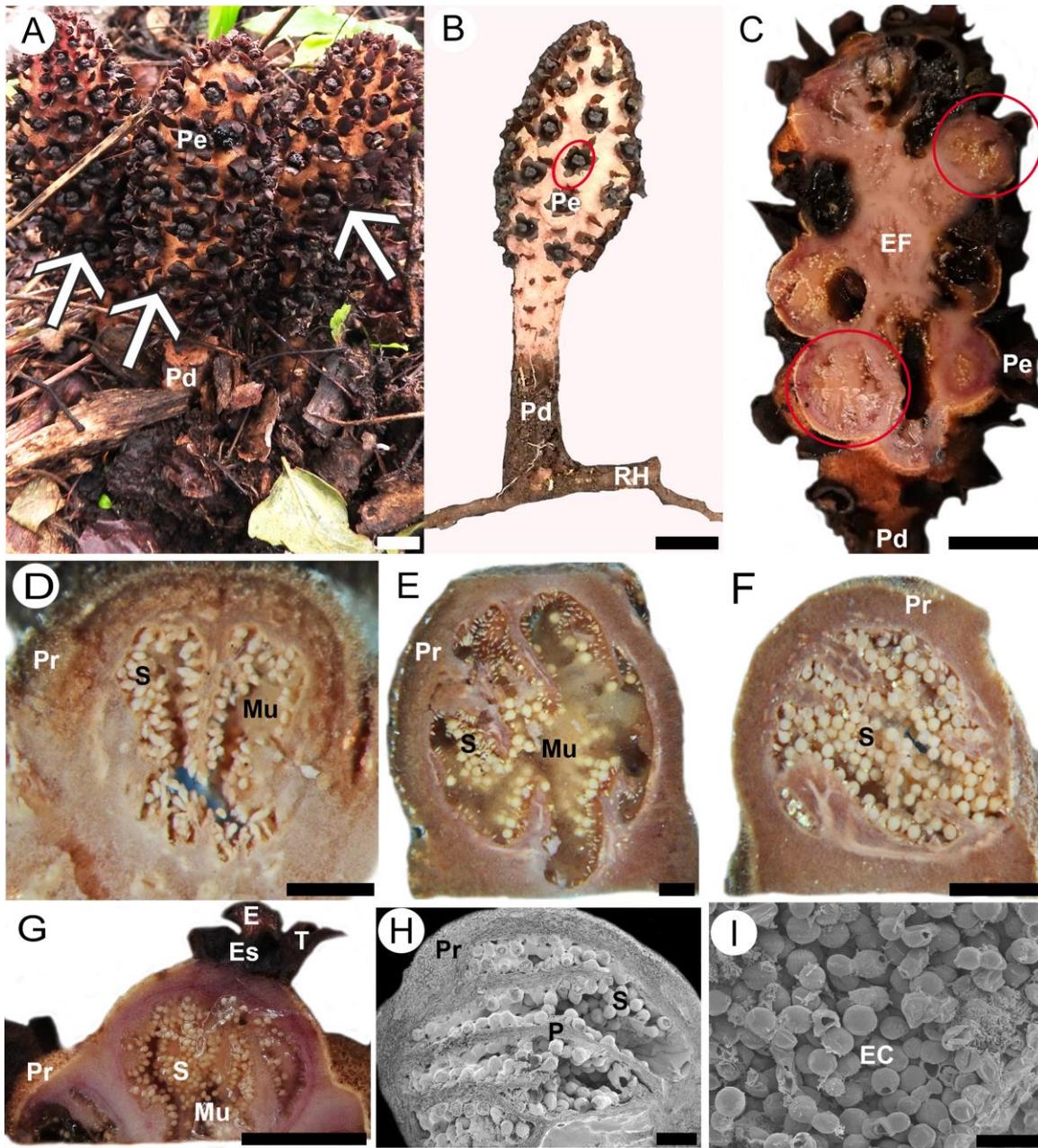


Figura 3. Infrutescencia de *B. andrieuxii*. **A)** Infrutescencias dispuestas en grupos pequeños, sobre la raíz de *Bursera bicolor* (flechas). **B)** Infrutescencia pedunculada creciendo sobre la raíz de *B. bicolor*. Se observan pequeñas brácteas en el pedúnculo y los frutos con restos del perigonio (círculo). **C)** Corte longitudinal de la infrutescencia, se observa la concrecencia de los frutos (círculos) desde la base hasta la parte media. **D)** Fruto con semillas alargadas (Etapa 1). **E)** Fruto con semillas alargadas y globulares (Etapa 2). **F)** Fruto con semillas globulares (Etapa 3). **G)** Corte longitudinal de un fruto, en su interior se observan semillas cubiertas por mucílago. **H)** Fotomicrografía de MEB, se observa la pared del fruto disectado y la placentación parietal intrusiva. **I)** Exocarpo pubescente, con tricomas glandulares, uniseriados. E: estigma; EC: exocarpo pubescente; EF: eje de la infrutescencia; Es: estilo; Mu: mucílago; P: placenta; Pd: pedúnculo; Pe: perigonio; Pr: pericarpio; RH: raíz del hospedero; S: semillas; T: tépalo. Escalas: A, C, D, E, = 1 cm; B, F = 2 cm; G = 0.5 cm; H = 1 mm; I = 10 μ m.

Durante la colecta del material biológico se observaron larvas de polillas sobre el exterior de las infrutescencias (Figura 4A). Al realizar cortes longitudinales de las infrutescencias se registró de igual forma la presencia de larvas, que se encontraban dentro del lóculo de cada fruto y en el eje de la infrutescencia (Figura 4B). Los frutos infestados se colectaron y mantuvieron en observación hasta que las larvas se convirtieron en capullos (Figura 4C). Debido a que no se encontró la etapa adulta, sólo se analizaron las larvas (Figura 4D), las cuales pertenecen al orden Lepidoptera, pero no se logró identificar a la especie.

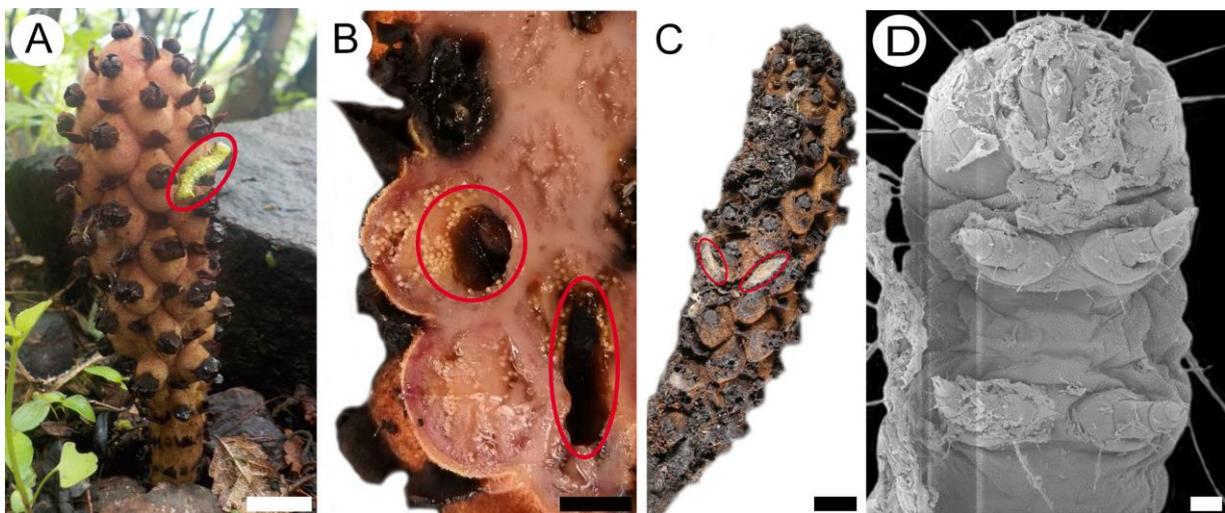


Figura 4. Larvas en la infrutescencia. A) Larva en el exterior de la infrutescencia (círculo rojo). **B)** Larvas dentro de un orificio (túnel) en el interior de un fruto y en el eje de la infrutescencia (círculos rojos). **C)** Capullos en el exterior de la infrutescencia (círculos rojos). **D)** Larva del orden Lepidoptera observada al MEB. Escalas: A, C = 1 cm; B = 0.5 cm; D = 100 μ m.

6.2. DESARROLLO DEL PERICARPIO

La pared del fruto se describe de la zona apical, cercana a la reminiscencia de los estigmas, ya que en el resto del fruto las paredes de varios frutos son concrecentes. Dicha pared está conformada por tres partes principales, el exocarpio, mesocarpio y endocarpio, que en conjunto forman el pericarpio. En el estadio temprano, el exocarpio está formado por la epidermis externa, que presenta tricomas glandulares pluricelulares y uniseriados, con células alargadas; en conjunto, el exocarpio tiene células de menor tamaño con respecto a las células de la zona media o mesocarpio (Figura 5A, D). El mesocarpio está formado por varios estratos de células de parénquima, laxas de forma y tamaño irregular, sin espacios intercelulares entre sí, donde se distinguen algunas braquiesclereidas mezcladas con el parénquima; los estratos más internos del mesocarpio (y cercanos al endocarpio) tienen células de menor tamaño y citoplasma denso, de apariencia secretora (Figura 5A, D). El endocarpio está formado de una epidermis interna con células secretoras de mucílago (Figura 5A, D).

En la etapa intermedia, el exocarpio presenta la misma conformación que la etapa anterior, en algunos tricomas glandulares se observa una cutícula delgada que forma un orificio semejante a un poro para liberar la secreción (Figura 5E). El mesocarpio está constituido por células de parénquima e incrementa el número de las braquiesclereidas, aunque éstas no fueron cuantificadas es evidente su abundancia, las cuales se encuentran dispersas entre el parénquima; pueden estar en agregados o solitarias (Figura 5E). El endocarpio, con células epidérmicas secretoras, de menor tamaño con respecto a las del mesocarpio (Figura 5B, E).

En la etapa madura, los tricomas glandulares del exocarpo se observan colapsados (Figura 5C, F). Los estratos parenquimáticos del mesocarpo se mezclan con braquiesclereidas en mayor abundancia y dispuestas en grupos; las células del mesocarpo secretor, más cercanas al endocarpo, se observan colapsadas (Figura 5F). Las células que conforman el endocarpo tienen apariencia secretora (Figura 5C, F). En etapa madura la secreción de mucílago al interior del lóculo del fruto es abundante (Figura 5C).

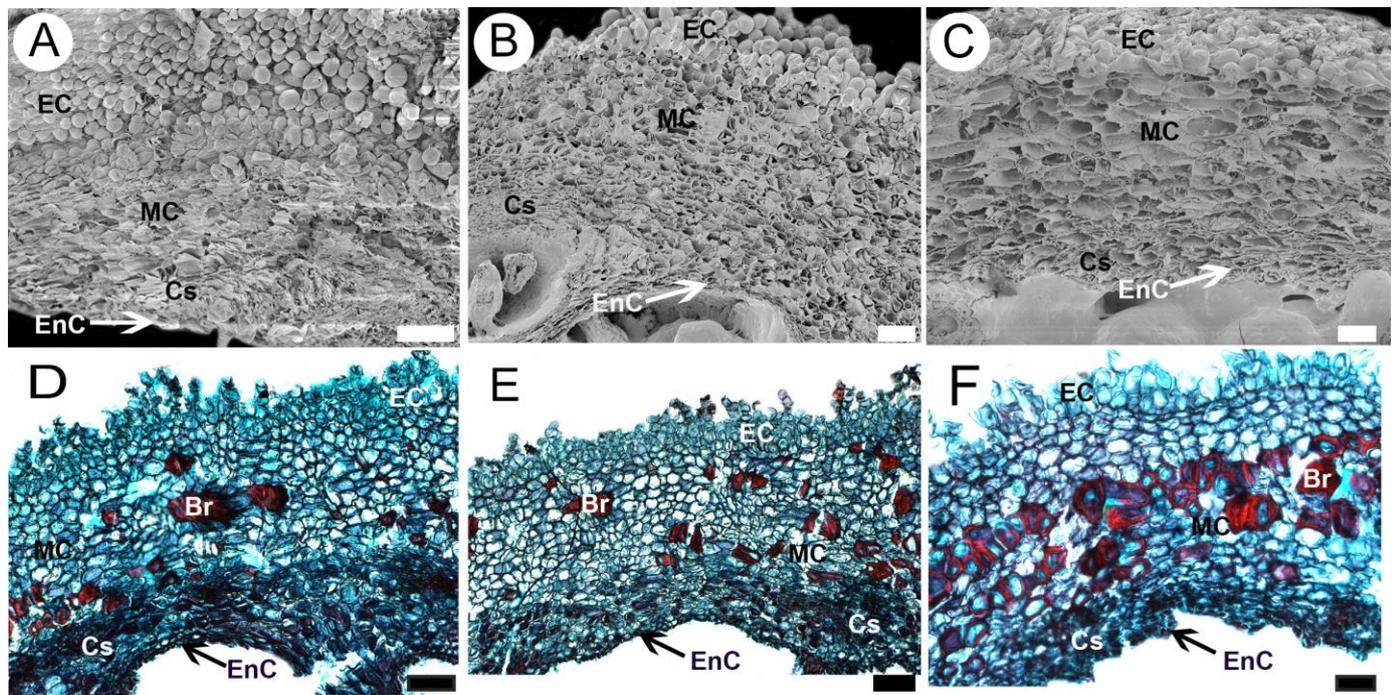


Figura 5. Desarrollo del pericarpo. A, D) Etapa temprana, se observan células alargadas glandulares en el exocarpo, mesocarpo externo parenquimático, con algunas braquiesclereidas y los estratos más internos con células de menor tamaño y secretoras; el endocarpo uniestratificado, con células secretoras de mucílago, en A el corte es ligeramente tangencial, mientras que en D es transversal. B, E) Cortes transversales de fruto en etapa intermedia, las cutículas de algunos tricomas glandulares se adelgazan para liberar la secreción, en el mesocarpo incrementan las braquiesclereidas dispuestas en agregados o solitarias y endocarpo con células secretoras. C, F) Cortes transversales de frutos en etapa madura, se observan los tricomas glandulares colapsados del exocarpo, mesocarpo con abundantes braquiescleridas dispuestas en grupos a lo largo del parénquima, mientras que en el endocarpo disminuyen los estratos de células que lo conforman. Br: braquiesclereidas; Cs: Células secretoras; EC: exocarpo pubescente; EnC: endocarpo; MC: mesocarpo. Escalas: A – C = 100 µm; D-E = 200 µm; F = 80 µm

6.3. MORFOANATOMÍA DE LAS SEMILLAS

La forma de las semillas es distinta en cada una de las etapas de desarrollo. En la etapa temprana las semillas son pequeñas, de forma alargada, con el funículo y micrópilo en los extremos opuestos (Figura 6A), cuya relación largo-ancho es de 0.41. En la etapa intermedia la forma es subglobosa (Figura 6B), y la relación largo-ancho es de 0.70. En la etapa madura, son globulares o ligeramente ovoides, con relación largo-ancho de 0.95 (Figura 6C). Las semillas tienen un funículo muy pequeño y aplanado, las células del micrópilo son de menor tamaño que las de la testa, algunas células de la testa son abultadas (Figura 6C). Las semillas maduras, (proviene de óvulos ortótropos), de color amarillo, con el micrópilo color café (Figura 6D), miden de 0.3 a 0.4 mm de largo. Las células abultadas de la epidermis de la testa tienen cutícula estriada y están cubiertas de mucílago (Figura 6E), proveniente de la epidermis interna del fruto. Al remover parcialmente la testa se observó que está compuesta por dos estratos (exotesta y endotesta), quedando al descubierto el perispermo, el cual está en íntimo contacto con la endotesta (Figura 6F). Las células de la exotesta son lignificadas y presentan abundantes punteaduras, mientras que las de la endotesta son parenquimáticas y aplanadas (Figura 6F-G). La semilla madura está conformada por una testa biestratificada, un perispermo reducido a unas pequeñas células y ubicado en la zona calazal y un endospermo abundante, con células de paredes delgadas con abundantes reservas alimenticias y un embrión indiferenciado, reducido a unas cuantas células (Figura 6H).

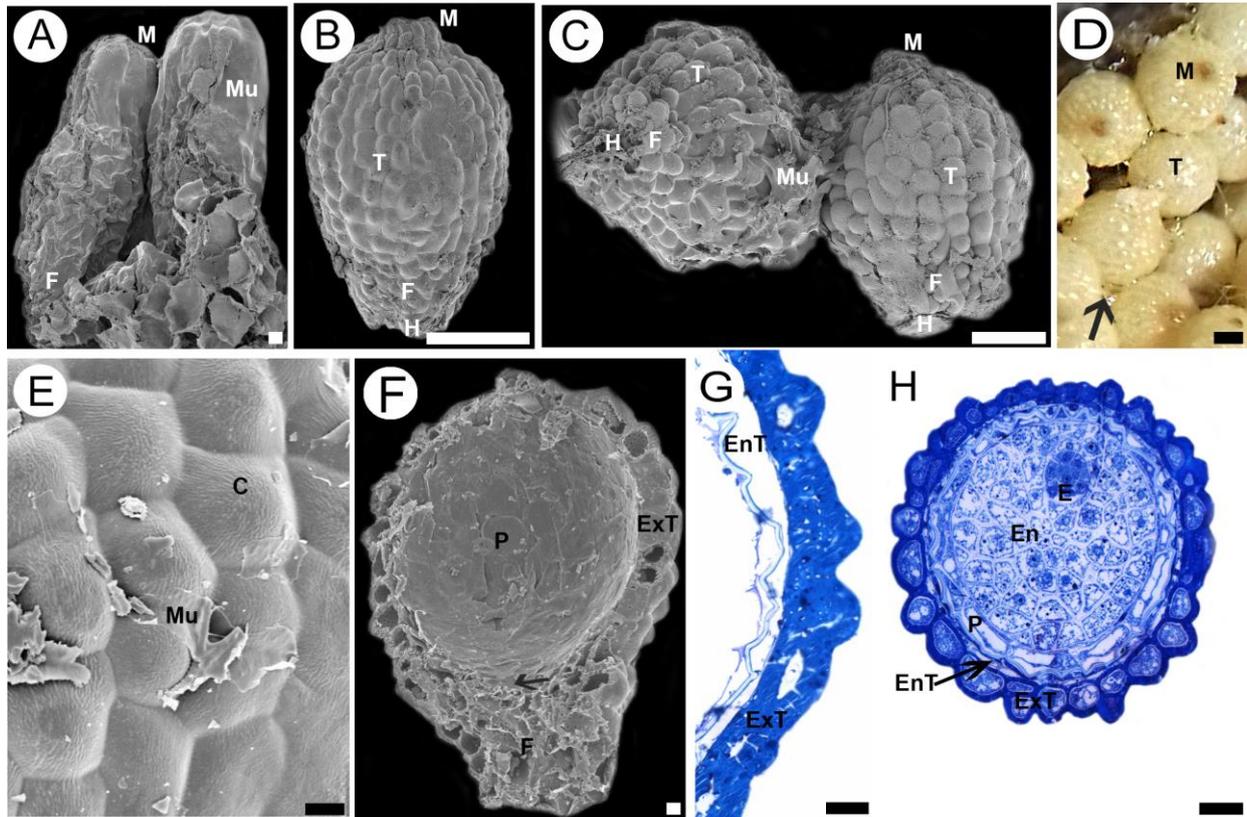


Figura 6. Morfoanatomía de las semillas **A)** Semillas sésiles y alargadas en etapa temprana. **B)** Semillas subglobosas en etapa intermedia. **C)** Semillas globulares o ligeramente ovoides en etapa madura, se distinguen que son ortótropas, el micrópilo opuesto al pequeño funículo aplanado. **D)** Fotografía tomada con microscopio estereoscópico mostrando el color amarillo claro de la testa y el micrópilo café; se observa parte del mucílago (flecha). **E)** Acercamiento a la epidermis de la testa, mostrando la cutícula estriada y restos de mucílago sobre la testa. **F)** Remoción parcial de la testa, se aprecian la exotesta y endotesta (flecha), la superficie del perispermo y el funículo. **G)** Corte histológico de la testa, se observa la exotesta con células lignificadas y abundantes punteaduras y la endotesta con células parenquimáticas de paredes delgadas. **H)** Corte longitudinal de una semilla madura, se observa el embrión reducido, indiferenciado, endospermo abundante, restos del perispermo y testa. C: cutícula; E: embrión; En: endospermo; EnT: endotesta; ExT: exotesta; F: funículo; H: hilo; M: micrópilo; Mu: mucílago; P: perispermo; T: testa. Escala A, E – F = 10 μm ; B – C = 100 μm ; D = 0.1 mm; G = 20 μm ; H = 40 μm .

6.4. EMBRIOGÉNESIS

Durante la fecundación, el óvulo presenta un tegumento triestratificado, mientras que la nucela presenta dos estratos alrededor del saco embrionario. Estos tejidos se convierten en la testa y el perispermo, respectivamente. En esta etapa, tanto las células de la testa como del perispermo son parenquimáticas. Después de que uno de los núcleos espermáticos del polen se fusiona con la ovocélula se genera un cigoto, con un núcleo prominente (Figura 7A). La primera división del cigoto es transversal y da como resultado una célula basal y una célula apical (Figura 7B). Posteriormente la célula basal se divide transversalmente produciendo dos células que forman el suspensor, mientras que la célula apical se divide de igual forma, transversalmente, generando dos células (ca y cb), ambas forman el cuerpo del proembrión (Figura 7C). Las células del proembrión aumentan de tamaño y se dividen varias veces, generando cuatro células (a, b, c, d) (Figura 7D).

El suspensor está conformado por tres células, el embrión continúa aumentando de tamaño; mientras las células a y b se dividen longitudinalmente, la célula c se divide, tanto transversal como longitudinalmente, lo que genera un proembrión de siete células (a, b, c, d, e, f, g) (Figura 7E). Todas las células del proembrión se dividen transversal y longitudinalmente, originando un embrión de mayor tamaño, mientras el suspensor continúa conformado por tres células (Figura 7F). El embrión comienza a presentar una forma globular (Figura 7G) y el suspensor aumenta de tamaño, debido a divisiones tanto longitudinales como transversales (datos no mostrados). En semillas maduras el embrión es reducido e indiferenciado; en su parte apical tiene forma globosa, no hay diferenciación de cotiledones, mientras que

en la zona basal es alargado, como si tuviera una incipiente radícula, y para esta etapa, las células del suspensor se han colapsado (Figura 7H).

6.5. ENDOSPERMOGÉNESIS

Uno de los núcleos espermáticos del polen se fusiona con los núcleos polares de la célula central, resultando un núcleo primario del endospermo dentro del saco embrionario, el cual está rodeado por dos estratos parenquimáticos del perispermo (Figura 7A). En las primeras etapas de la semilla el endospermo es nuclear (Figura 7B), comienza a celularizarse desde la región más adyacente a la cubierta seminal y perispermo hacia la parte más interna de la semilla (Figura 7C), presenta núcleos prominentes, grandes vacuolas y el poco citoplasma adosado a sus paredes; las células del endospermo son de mayor tamaño que las del embrión y la testa (Figura 7D). A medida que madura, el endospermo se hace más abundante y rodea al embrión, las células tienen grandes vacuolas (Figura 7E). En la siguiente etapa, el endospermo está conformado por células casi isodiamétricas, con núcleos prominentes (Figura 7F).

Posteriormente las células del endospermo se compactan entre ellas y en sus células aparecen reservas (Figura 7G). En semillas maduras el endospermo aún permanece íntegro y es el tejido más abundante, las paredes celulares son delgadas, sin espacios intercelulares y sus contenidos de reservas alimenticias son más abundantes (Figura 7H).

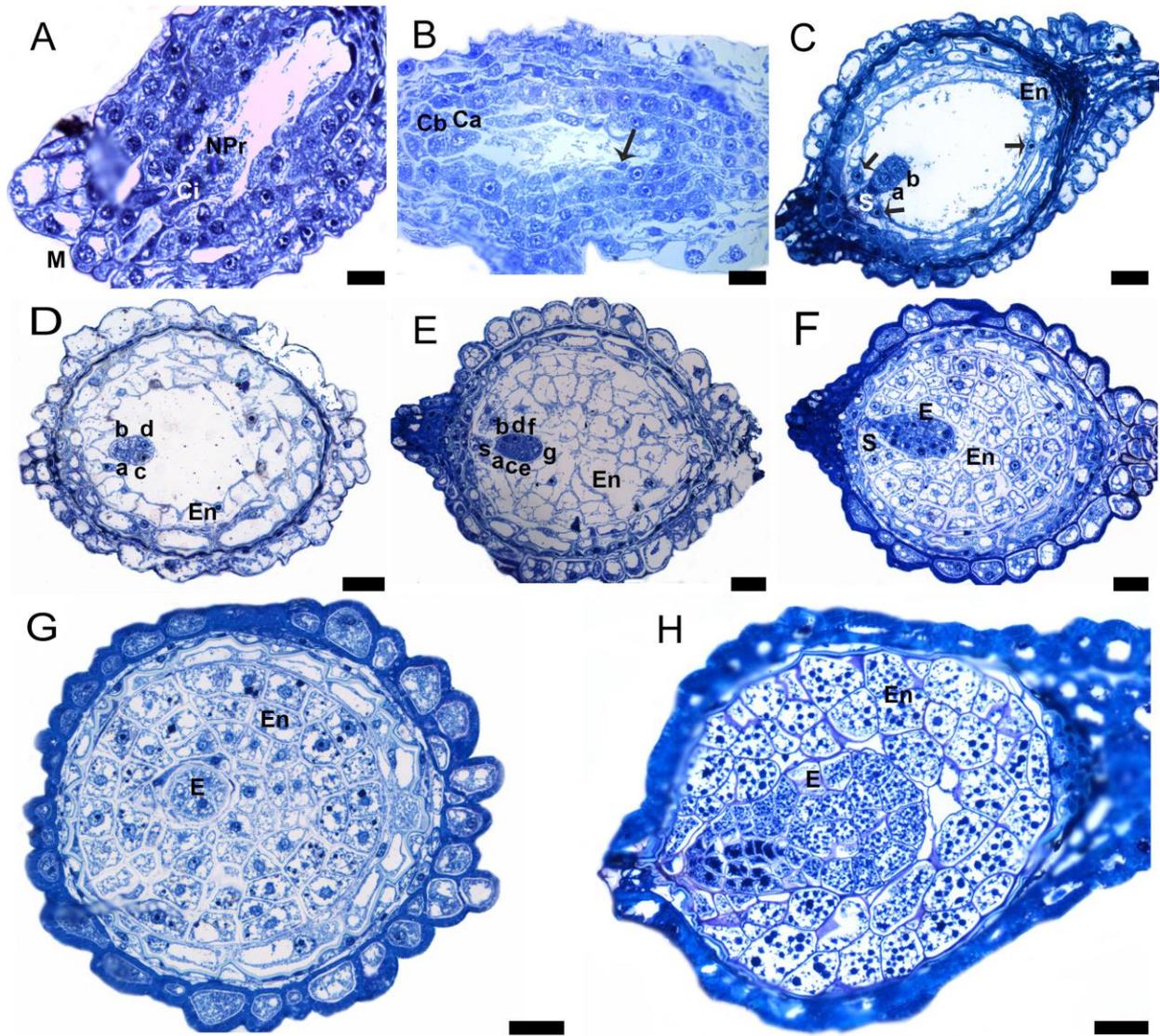


Figura 7. Embriogénesis y endospermogénesis. **A)** Cigoto y núcleo primario del endospermo. **B)** Primera división del cigoto formando la célula apical y la célula basal, el endospermo es nuclear. **C)** Suspensor unicelular y proembrión conformado por dos células, comienza la celularización del endospermo en la periferia de la semilla (adosado al perispermo). **D)** Proembrión conformado por dos hileras de células, se observa un endospermo con grandes vacuolas. **E)** Embrión con alta actividad mitótica, con dos hileras de células a lo largo de éste y un suspensor con al menos dos células, el endospermo avanza de la periferia al centro de la semilla. **F)** Suspensor de una hilera de células y con varias hileras de células formando el cuerpo del embrión por diversas divisiones longitudinales y transversales, el endospermo completamente celularizado, con células vacuoladas. **G)** Embrión globular intermedio, el endospermo con células que contienen reservas alimenticias. **H)** Embrión reducido e indiferenciado rodeado de un endospermo de células grandes y abundantes reservas alimenticias. Ca: célula apical; Cb: célula basal; Ci: cigoto; E: embrión; En: endospermo; M: micrópilo; NPr: núcleo primario del endospermo; S: suspensor. Las flechas señalan los núcleos libres del endospermo. Escalas A – E = 20 μ m; F – H = 40 μ m.

6.6. DESARROLLO DE LA CUBIERTA SEMINAL Y PERISPERMO

Dado que los óvulos son unitégmicos, las semillas sólo desarrollan testa, formada por tres estratos: la exotesta proviene de la epidermis externa del tegumento, la endotesta corresponde a la epidermis interna; entre ellas se ubica la mesotesta, todas uniestratificadas. Estos tres estratos de la testa van modificándose durante el desarrollo de la semilla.

En las primeras etapas de desarrollo, las semillas presentan una exotesta uniestratificada, de células globosas con paredes delgadas, vacuolas prominentes, con escaso citoplasma presente y núcleos adosados a las paredes, ya sea a las paredes periclinales externas o las internas. La mesotesta es uniestratificada, de células parenquimáticas alargadas periclinalmente, de mucho menor tamaño que las de la exotesta. La endotesta presenta un estrato de células de forma irregular y aplanadas, con núcleos prominentes (Figura 8A).

Posteriormente, las células de la exotesta se engrosan y sus paredes se observan lignificadas, en las cuales aparecen algunas punteaduras, el citoplasma es abundante. La mesotesta, está formada por un estrato de células alargadas, aplanadas y parenquimáticas, mientras que las células de la endotesta son de forma y tamaño irregular, parenquimáticas y con abundante citoplasma (Figura 8B).

Conforme avanza la diferenciación de la cubierta seminal, las paredes de las células de la exotesta continúan lignificándose y se observan gruesas y abultadas, con muchas punteaduras, aunque mantienen abundante citoplasma. La mesotesta se colapsa, mientras la endotesta tiene células con poco citoplasma adosado a sus paredes y núcleos prominentes (Figura 8C).

En las semillas maduras, la cubierta seminal está formada por exotesta y endotesta. Las células de la exotesta no contienen citoplasma, sólo se distingue el lumen y su pared celular es lignificada y con abundantes punteaduras, las células se reconocen en esta etapa como esclerenquimáticas. Las células de la endotesta son de forma irregular, escaso citoplasma y grandes vacuolas. Dado que la capa lignificada (exotesta) es la capa que da rigidez y soporte mecánico a la semilla, se describe como semilla exotestal (Figura 8D).

En las primeras etapas de desarrollo, la semilla presenta dos estratos de perispermo, el cual se distingue del endospermo por presentar células de mayor tamaño, alargadas, con grandes vacuolas, mientras que las del endospermo son más isodiamétricas, de menor tamaño y con abundantes vacuolas (Figura 8A, B). Posteriormente el perispermo se reduce a un estrato de células y el citoplasma de sus células es más denso y su cutícula muy gruesa (Figura 8C). En las semillas maduras el perispermo se reduce a unas cuantas células, las cuales se ubican en la zona calazal (Figura 8D).

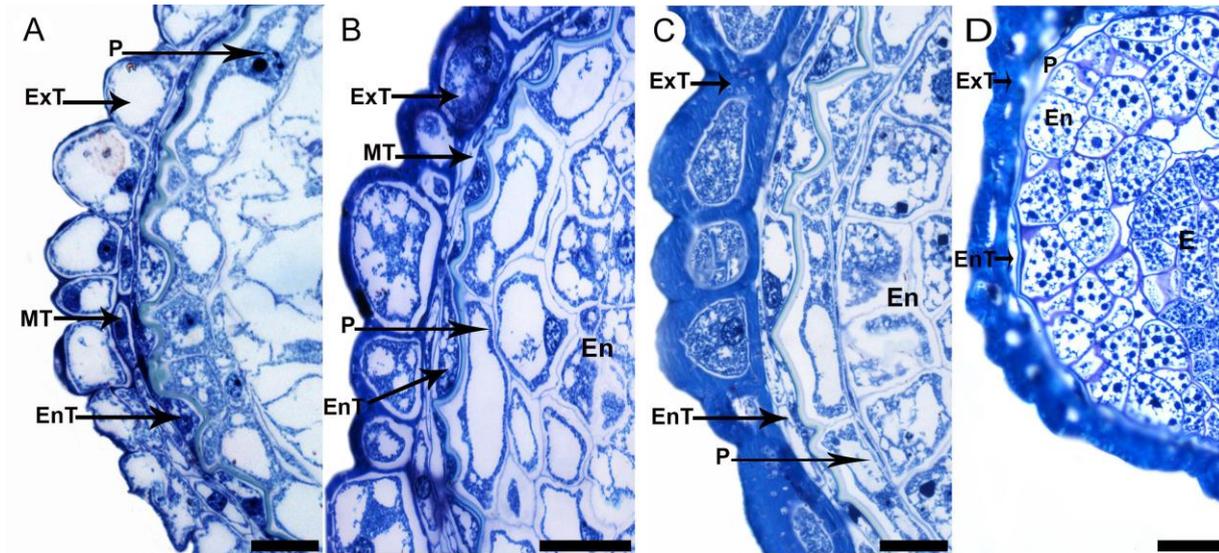


Figura 8. Cubierta seminal de *Bdallophytum andrieuxii*. **A)** Semilla joven, la exotesta, mesotesta y endotesta tienen células parenquimáticas, todas con paredes celulares delgadas; las de la exotesta de mayor tamaño, vacuoladas y abultadas. **B)** Etapa intermedia de desarrollo, las paredes celulares de la exotesta comienzan a lignificarse, las de la mesotesta y endotesta con células aplanadas y paredes delgadas, las de la mesotesta comienzan a colapsarse. **C)** Posteriormente la exotesta presenta células con paredes gruesas, lignificadas y con punteaduras y abultadas, pero aún se observa el citoplasma, mesotesta colapsada y endotesta con células parenquimáticas con grandes vacuolas. **D)** Etapa madura, la exotesta con células esclerenquimáticas, carentes de citoplasma; endotesta parenquimática con escaso citoplasma. E: embrión; En: endospermo; EnT: endotesta; ExT: exotesta; MT: mesotesta; P: perispermo. Escala A – D = 20 μ m.

6.7. PRUEBAS HISTOQUÍMICAS EN LAS SEMILLAS

Se detectaron polisacáridos insolubles con la prueba histoquímica de APS (Figura 9A-C) y polisacáridos más proteínas con la prueba doble de APS y azul negro de naftol (Figura 9D), en células del endospermo y en menor proporción en células del embrión y exotesta.

Con la prueba histoquímica de lugol se observaron escasos gránulos de almidón en las células del endospermo (Figura 9E-F). Con la prueba de rojo O de aceite, se observó la cutícula del perispermo y abundantes gotas de lípidos en las células del endospermo, perispermo y testa de la semilla, lo que indica que el principal tejido de reserva en las semillas de *B. andrieuxii* es el endospermo y su principal reserva son los lípidos (Figura 9G-I), seguidos de almidón y proteínas (Figura 9A-F). El perispermo es un tejido de reserva con pocos contenidos, como lípidos y proteínas (Figura 9C, I).

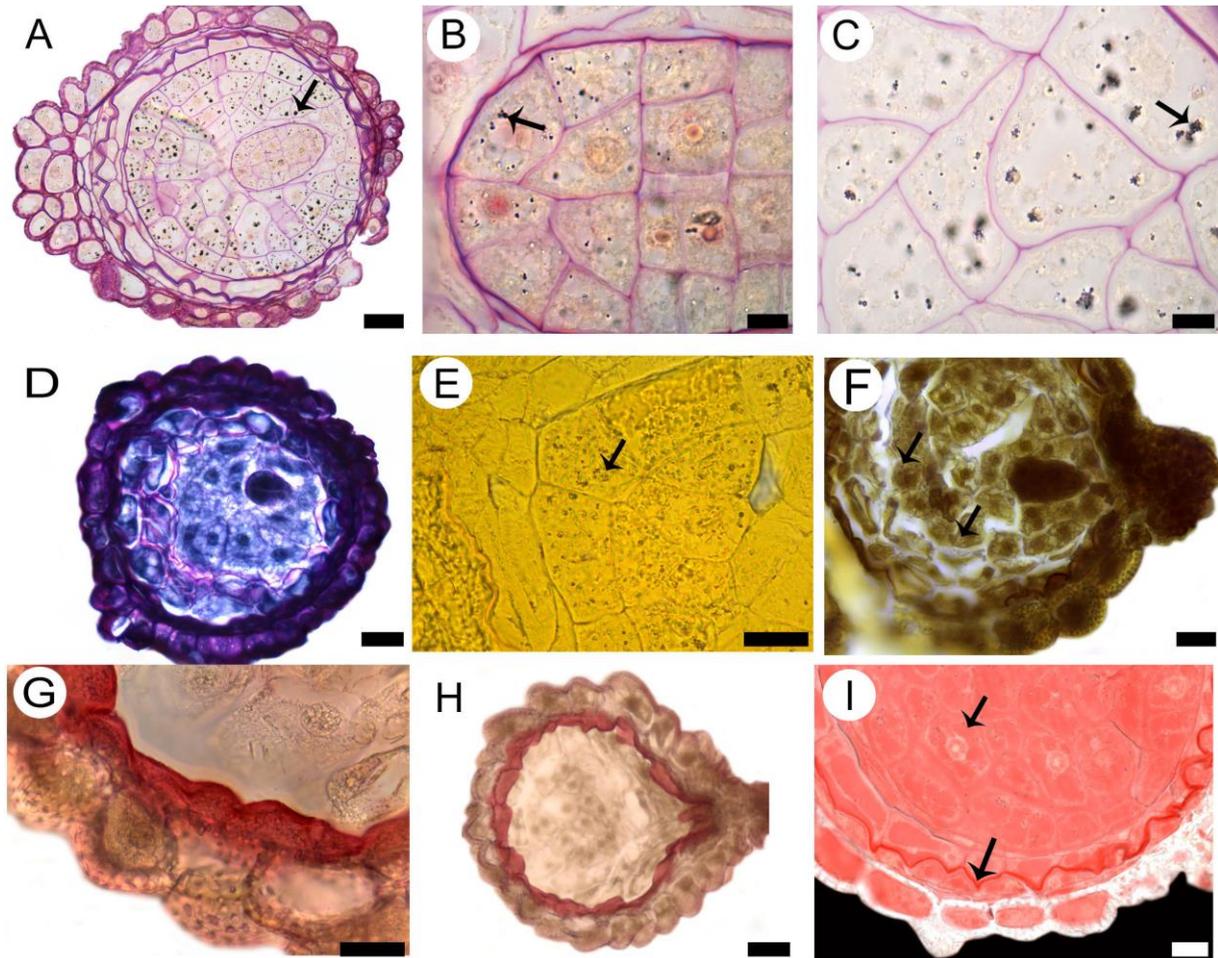


Figura 9. Pruebas histoquímicas en semillas de *Bdallophytum andrieuxii*. **A-C)** Corte histológico en LR-White con histoquímica APS, se observan polisacáridos insolubles en el endospermo, embrión y exotesta (flechas). **D)** APS-negro azul de naftol sobre corte histológico en Paraplast, se observan polisacáridos insolubles y proteínas en el endospermo, embrión y exotesta. **E-F)** Prueba con lugol (corte histológico en LR-White y Paraplast, respectivamente), se detectaron pequeños gránulos de almidón (flechas) en el endospermo. **G-H)** Cortes histológicos en Paraplast con rojo O de aceite, se observa la cutícula del perispermo. **I)** Corte histológico en LR-White con rojo O de aceite, se observa la cutícula y que la principal reserva en las semillas en el endospermo son lípidos (flechas). Escalas: A, F = 80 μm ; B – C = 8 μm ; D, H = 40 μm ; E, G, I = 20 μm .

7. DISCUSIÓN

Este trabajo consistió en la descripción de frutos y semillas de *Bdallophytum andrieuxii*, una endoparásita de raíces de *Bursera bicolor*. Describiendo por primera vez para el género la presencia de perispermo en las semillas maduras. De igual manera, la información generada sobre la morfología, anatomía y ultraestructura de frutos y semillas aportará información al escaso conocimiento en la biología reproductiva de plantas holoparásitas, particularmente al grupo de las endoparásitas.

7.1. MORFOANATOMÍA DE LA INFRUTESCENCIA Y DEL FRUTO

Bdallophytum andrieuxii presenta infrutescencias conformadas por bayas concrecentes sostenidas por un pedúnculo, como en los otros géneros de la familia Cytinaceae (*Cytinus* y *Sanguisuga*), todos los géneros de la familia presentan frutos que contienen miles de semillas diminutas incrustadas en mucílago, pero varía la concrecencia de los frutos, ya que para *Cytinus* y una especie de *Bdallophytum* (*B. americanum*) no hay concrecencia, mientras que, *Sanguisuga*, *B. oxylepis* y *B. andrieuxii* tienen frutos concrecentes (Alvarado-Cárdenas, 2009; de Vega *et al.*, 2011; Fernández-Alonso y Cuadros-Villalobos, 2012).

Cytinaceae, tiene como grupo hermano a miembros de la familia Muntingiaceae (Nickrent, 2007). El fruto de *B. andrieuxii* es muy similar al de *Muntingia calabura* L., ambos son bayas que contienen numerosas semillas pequeñas, inmersas en una masa gelatinosa (Figueiredo *et al.*, 2008). Por lo tanto, algunos caracteres morfológicos, se comparten con miembros de la familia Muntingiaceae y posiblemente se conservan a nivel del orden (Malvales), al cual pertenecen ambas familias.

Debido a la presencia de braquiesclereidas en el mesocarpio, se propone que este estrato es el que da soporte a la pared del fruto, mientras que el exocarpio es pubescente y el endocarpio es un tejido secretor y también permite de alguna manera el paso de la secreción producida en las células secretoras internas del endocarpio hacia el interior del lóculo del fruto, para bañar y cubrir a las semillas.

7.2. LARVAS EN LA INFRUTESCENCIA

Tanto en el interior como el exterior de la infrutescencia de *B. andrieuxii* se observaron larvas de lepidópteros (polillas). Dentro de la familia Cytinaceae, existen reportes de lepidópteros en las infrutescencias para el género *Bdallophytum* y *Cytinus*. García-Franco y Rico-Gray (1996) reportan la presencia de *Hamadryas* Hubner sp. (Lepidoptera: Nymphalidae) en las infrutescencias dañadas de *Bdallophyton bambusarum* (sinonimia de *Bdallophytum americanum*). Mientras que de Vega (2007) menciona la presencia de los microlepidópteros *Ephestia parasitella* Staudinger (Pyralidae) y esporádicamente de un Sesiidae consumiendo frutos de *C.hypocistis*. Las orugas aparecen al comienzo de la floración en los tallos de las inflorescencias, sin afectar su desarrollo, ya que florecen y fructifican con normalidad; durante la fructificación las orugas construyen túneles en los robustos pedúnculos de las infrutescencias, alimentándose de la pulpa de los frutos, quedando adheridas las semillas en sus cuerpos y desprendiéndose a lo largo de su recorrido por los túneles, sugiriendo que podrían dispersar las semillas, ya que los túneles en los tallos se encuentran muy cercanos a la raíz del hospedero.

Otros reportes de lepidópteros en holoparásitas son en la familia Mitrastemonaceae y Balanophoraceae. Suetsugu y Yoshiyasu (2019), registran la presencia de la polilla *Assara balanophorae* Sasaki & Tanaka en los frutos de

Mitrastemon yamamotoi Makino, donde las larvas perforaban los ejes de la infrutescencia, alimentándose únicamente del tejido vegetativo, sin provocar daño a las semillas. También observaron que las larvas se desarrollaban en capullos gruesos, dentro de los ejes de las infrutescencias. De igual manera, Kawakita y Kato (2002) mencionan que las infrutescencias de *Balanophora kuroiwa* Makino y *B. tobiracola* Makino, estaban infestadas por larvas de las polillas *Assara* sp. y *Nacoleia* sp., considerando que las polillas son polinizadoras, ya que observaron granos de polen en sus cuerpos, mientras las larvas consumían los ejes de las inflorescencias sin explotar las semillas y los adultos emergían de las infrutescencias. El comportamiento de dichos lepidópteros en las distintas especies de holoparásitas es similar a lo observado en *B. andrieuxii*, ya que, de igual manera, las larvas se alimentaron del eje de la infrutescencia sin dañar a las semillas y se observaron los capullos vacíos en el exterior de la infrutescencia; lo cual sugiere que, podrían participar en la dispersión de las semillas; sin embargo, en *B. andrieuxii* falta identificar la especie, ya que la etapa adulta no se observó.

7.3. MORFOANATOMÍA DE SEMILLAS

Los frutos de *B. andrieuxii* presentan numerosas semillas de tamaño reducido en su interior, estas características en las semillas han sido reportadas para dos especies pertenecientes a la familia Cytinaceae, Ponzi y Pizzolongo (1982) mencionan que la alta producción de semillas en *Cytinus hypocistis* (L.) L. funcionan como una estrategia que garantiza que, al menos, algunas se dispersen, germinen y parasiten una raíz adecuada. Mientras que, en *B. bambusarum* (Liebm.) Harms, al ser consumidas por los roedores, logran pasar intactas en el tracto digestivo (García-Franco y Rico-Gray, 1996). Algunas veces la endozoocoria representa una ventaja al aumentar o acelerar la germinación de las semillas y al encontrar las heces de ratones cerca de las infrutescencias incrementa la probabilidad de encontrar y germinar en las raíces de la planta hospedera (de Vega, 2007). Además, la reducción en el tamaño de las semillas se ha interpretado como una adaptación para evitar la depredación. En el caso de *B. andrieuxii*, las características y la cantidad de semillas permiten asegurar su dispersión, germinación y el establecimiento sobre sus hospederos.

De igual manera la longitud en las semillas de plantas parásitas se asocia al requerimiento de estímulos para su germinación; en *B. andrieuxii*, las semillas miden 0.4 mm. Algunos autores como de Buen y Ornelas (2002) mencionan que las especies parásitas con semillas pequeñas (de 0.5 mm de longitud) requieren de estímulos del hospedero para la germinación. Para algunas especies de la familia Orobanchaceae esos estímulos son dos flavonoides, xenognosina A y B, y la quinona 2,6 dimetoxi-1,4-benzoquinona (DMBQ) (Westwood *et al.*, 2010). Sin

embargo para *B. andrieuxii* aún no se han identificado cuáles son los estímulos que proporcionan los hospederos.

En cuanto a su estructura, las semillas de *B. andrieuxii* tienen una exotesta conformada por células de paredes lignificadas, abultadas, con cutícula gruesa, dichas características también las presenta *C. hypocistis* descrita por Guzowska (1964). Lersten (2004) menciona que la cubierta seminal de las angiospermas con una exotesta de paredes lignificadas y abultadas, funcionan como una restricción física para el embrión, evitando que el oxígeno y el agua se difundan en la semilla, permaneciendo latente hasta encontrar las condiciones adecuadas para germinar.

Otra característica en las semillas para la especie estudiada es su recubrimiento por mucílago. Rios-Carrasco y Vázquez-Santana (2021) mencionan que el mucílago en las tres especies de *Bdallophytum* (*B. andrieuxii*, *B. oxylepis* y *B. americanum*) está presente desde etapa de óvulos maduros y es secretado por las capas internas de la pared del ovario, tal como se reportó en el presente trabajo, el mucílago, al parecer, sigue secretándose sobre las semillas durante el desarrollo de éstas. En diferentes estudios se reporta que el mucílago cumple dos funciones en las plantas parásitas, específicamente para *C. hypocistis*, se menciona que el mucílago evita que las semillas pierdan agua durante la dispersión y cuando se encuentran en el sustrato para germinar (Ponzi y Pizzolongo, 1982); mientras que para algunas especies de la familia Loranthaceae, el mucílago permite que las semillas se adhieran al hospedero a través de una capa mucilaginososa y pegajosa de viscina (Vázquez *et al.*, 2006), aunque la presencia de viscina no fue analizada en el presente trabajo, se considera que el mucílago en las semillas de *B. andrieuxii* podría ayudar a que continúen viables durante su dispersión y hasta su germinación.

Un nuevo hallazgo reportado con este trabajo es la presencia de un perispermo en las semillas de *B. andrieuxii*. El perispermo se conserva hasta la etapa madura de la semilla. Anteriormente en las semillas de *B. oxylepis* se reportaba la presencia de una cutícula perteneciente al endospermo (Bouman y Meijer, 1994). En los cortes realizados para *B. andrieuxii* en el presente trabajo se puede comprobar que la cutícula pertenece al perispermo, ya que se distinguen dos tipos celulares distintos, las células del perispermo son isodiamétricas y de mayor tamaño, con respecto a las del endospermo. Cabe resaltar que éste es el primer trabajo que reporta la presencia de un perispermo en la familia Cytinaceae, lo cual es de importancia embriológica, ya que se suma al número de familias de angiospermas con semillas perispermadas.

De igual manera la presencia de perispermo en otra holoparásita fue reportado por Joel *et al.* (2012) en las semillas maduras de *Phelipanche aegyptiaca* (Pers.) Pomel (Orobanchaceae), algunas características de esta especie son compartidas con *B. andrieuxii*, como la presencia de una cutícula gruesa alrededor de las células del perispermo, mientras que en la zona micropilar las células del perispermo son más pequeñas. Dentro de la familia (Orobanchaceae), se ha estudiado la participación de los diferentes tejidos o estructuras de la semilla durante la germinación, la cutícula funciona como una barrera para el movimiento del agua hacia el interior de la semilla. Después de que la semilla es estimulada para la germinación, el perispermo suministra los nutrientes al embrión en desarrollo, mientras las células del polo calazal del embrión participan simultáneamente en la transferencia de nutrientes desde el endospermo hasta las porciones en crecimiento de la plántula (Joel y Bar, 2013); sin embargo, estos aspectos no han sido investigados en Cytinaceae.

La presencia de un abundante endospermo y un embrión indiferenciado en semillas maduras de *B. andrieuxii* concuerda con las semillas de *Balanophora abbreviata* Blume descrita por Baskin y Baskin, (2014), ellos mencionan que del endospermo surgen extensiones tubulares pegajosas (cuando el embrión prolifera durante la germinación), con las cuales se adhieren a las raíces de su hospedero, mientras el embrión indiferenciado produce el tubo germinativo o haustorio primario que penetra en la raíz y hace contacto con los tejidos vasculares del hospedero. Mientras que las células en el lado opuesto al ápice radicular se dividen y forman un nódulo que gradualmente incrementa en tamaño, finalmente los lóbulos del nódulo dan lugar a brotes de floración. La germinación en *B. andrieuxii* probablemente es muy similar, ya que de igual manera es una holoparásita de raíz, por lo tanto, se explicaría que las semillas maduras presenten endospermo abundante y un embrión no diferenciado. Por otro lado, Joel *et al.* (2012) mencionan que la semilla madura de *P. aegyptiaca* (Orobanchaceae), está conformada por un embrión reducido, endospermo rodeado de perispermo y la cubierta seminal está conformada de dos estratos (exotesta y endotesta), la endotesta contiene un abundante mucílago que actúa como una esponja y es el primero en absorber agua en la semilla madura, después el embrión, mientras que el endospermo y perispermo, que contienen lípidos, absorben posteriormente y de manera gradual pequeñas cantidades de agua. La absorción del agua, por parte de la endotesta, permite que el micrópilo se abra después de la acumulación de agua suficiente en la cubierta seminal e ingrese a la semilla. La endotesta mucilaginosa permite la rápida absorción de agua cuando está disponible, de esta forma se mantienen hidratados los tejidos de la semilla, para que las células receptoras en el interior de ésta puedan percibir los estimulantes para la germinación emitidos por las raíces de los hospederos cercanos. El mucílago en

las capas de semillas de otras plantas ayuda a mantener el suministro de agua durante la germinación. De igual forma la cutícula cerosa entre el perispermo y la endotesta de las semillas de algunas especies de *Phelipanche* funciona bloqueando la transferencia de agua a la semilla antes de la germinación, en el caso de *B. andrieuxii* se detectó una cutícula gruesa entre el perispermo y la endotesta, pero no se investigó si existe mucílago en ella.

7.4. EMBRIOGÉNESIS

De acuerdo con el tipo de embriogenia en función de la secuencia de divisiones de las células basales y terminales y de las células derivadas que contribuyen a la formación del cuerpo del embrión, *B. andrieuxii* presenta embriogénesis del tipo solanad, en donde la célula terminal se divide transversalmente y los derivados de las células basales forman un suspensor, pero no contribuyen al desarrollo del cuerpo del embrión maduro (Simpson, 2006).

Comparando la descripción de la embriogénesis de *C. hypocistis* (Guzowska, 1964) con la de *B. andrieuxii*, concuerdan con la primera división del cigoto, la cual en ambas especies es transversal. También la siguiente división de la célula basal y la célula apical es transversal, originando cada una dos células; sin embargo, hace falta información sobre las otras especies de *Bdallophytum* y de *Cytinus* para corroborar si el patrón es universal para todas.

Las semillas de *B. andrieuxii* contienen embriones reducidos e indiferenciados, lo cual concuerda con la clasificación de tipos de embrión mencionado por Baskin y Baskin (2014) y Espinosa-Matías *et al.* (2019), las semillas de las holoparásitas tienen embriones indiferenciados, formados por unas pocas células, por lo que los cotiledones y la radícula nunca se forman. Lo anterior está

relacionado con su vida de holoparásitas y endoparásitas, lo cual implica que no requieren hojas para fotosintetizar, ni raíz para anclarse al sustrato, ya que viven en el interior de las raíces del hospedero, sólo emergen cuando van a florecer. Todas las familias de plantas holoparásitas presentan embriones reducidos, algunos reportes pertenecen a las especies de *Rafflesia*, *Rhizanthus* Dumort. y *Sapria* Griff. de la familia Rafflesiaceae; *Pholisma arenarium* Nutt. ex Hook. (Lennoaceae); *Mitrastemon yamamotoi* Makino (Mitrastemonaceae), con un embrión conformado por cuatro células; especies de *Hydnora* Thunb. (Hydnoraceae) y *Lophophytum* Schott & Endl. (Balanophoraceae), con un embrión globular compuesto de alrededor de 24-32 células. Asimismo, especies de *Pilostyles* (Apodanthaceae) y *Cynomorium songaricum* Rupr. (Cynomoriaceae) presentan embriones con 8-10 células (Copeland, 1935; Teryokhin *et al.*, 1975; Bouman y Meijer, 1994; Bolin *et al.*, 2009; Nikolov *et al.*, 2014; Sato y Gonzalez, 2017).

7.5. COMPOSICIÓN HISTOQUÍMICA DE LAS SEMILLAS

La reserva más abundante en las semillas maduras de *B. andrieuxii* fueron lípidos, que se encontraban en la cubierta seminal, perispermo, endospermo y embrión; en menor medida se observaron polisacáridos insolubles, proteínas y almidón en el endospermo y el embrión. Corner (1976) menciona que en la familia Rafflesiaceae (en la cual se incluía con anterioridad a *Bdallophytum*) las semillas presentan un endospermo aceitoso. También Bouman y Meijer (1994) describieron un endospermo con cuerpos de aceite y proteínas en *B. oxylepis*. De igual manera Rutherford (1970) reporta gotas de aceite en el endospermo de *Pilostyles thurberi* Gray. Mientras Joel *et al.* (2012) mencionan que el embrión, endospermo y perispermo de *Phelipanche aegyptiaca* (Orobanchaceae) presenta abundantes lípidos y proteínas, por lo tanto, la

reserva que más se reporta para semillas de parásitas son las lipídicas. Por otra parte, Nikolov y colaboradores (2014) mencionan que las células del endófito de *Rhizanthus* (Rafflesiaceae), no acumulan almidón, pero se ha observado que algunas células acumulan grandes inclusiones proteicas; con respecto a nuestros resultados en *B. andrieuxii*, se observó que los gránulos de almidón eran muy escasos en el endospermo. El almidón es una forma de reserva de carbohidratos y puede ser utilizado en el crecimiento de los tejidos vegetales (Larcher, 2000) y es común encuentra en el endospermo de varias especies de angiospermas. Sin embargo, las reservas lipídicas también son comunes en las semillas de angiospermas, proporcionan una mayor capacidad calórica, son importantes durante la germinación, ya que son utilizados durante el crecimiento temprano de la plántula (Guerin *et al.*, 2020), lo cual en semillas tan pequeñas como las de *Bdallophytum* es crucial.

8. CONCLUSIONES

En este trabajo se describió el desarrollo de frutos y semillas de *Bdallophytum andrieuxii*. Siendo los hallazgos más relevantes los siguientes:

- *B. andrieuxii* presenta infrutescencias conformadas por bayas carnosas concrecentes, sostenidas por un pedúnculo.
- El pericarpio está compuesto por tres partes principales (exocarpio, mesocarpio y endocarpio), el exocarpio presenta abundantes tricomas glandulares y el endocarpio presenta células secretoras de mucílago.
- Las semillas son amarillentas, globulares o ligeramente ovoides con micrópilo color café, se encuentran cubiertas de mucílago. Las células de la testa son abultadas con cutícula estriada y están conformada por dos estratos (exotesta y endotesta), las células de la exotesta son lignificadas y presentan abundantes punteaduras, mientras que, las células de la endotesta son parenquimáticas.
- Las semillas maduras se encuentran conformadas por una testa biestratificada, un perispermo reducido a unas cuantas células, un endospermo abundante y un embrión reducido indiferenciado. El principal tejido de reserva de las semillas es el endospermo y su principal reserva son los lípidos, seguidos de almidón y proteínas.
- La embriogénesis de *B. andrieuxii* es tipo solanad.

Las características morfológicas y anatómicas descritas de *B. andrieuxii* permiten comprender aspectos relacionados con la germinación y dispersión de sus semillas; de igual manera los patrones de desarrollo proveen de caracteres para soportar y corroborar las hipótesis de relaciones filogenéticas en Cytinaceae y grupos hermanos.

LITERATURA CONSULTADA

- Albrecht H., J.I. Yoder y D.A. Phillips. 1999. Flavonoids promote haustoria formation in the root parasite *Triphysaria versicolor*. *Plant Physiology* 119:585-592.
- Alvarado-Cárdenas L. 2009. Sistemática del género *Bdallophytum* (Cytinaceae). *Acta Botánica Mexicana* 87:1-21.
- Alvarado-Cárdenas L. 2015. Cytinaceae. En: Alvarado-Cárdenas y J.L. Vigosa (Eds.). Flora de Guerrero. Universidad Nacional Autónoma de México. México, CDMX. p: 6, 9-10.
- Aly R. 2007. Conventional and biotechnological approaches for control of parasitic weeds. *In Vitro Cellular & Developmental Biology-Plant* 43:304-317.
- Azpeitia F. y C. Lara. 2006. Reproductive biology and pollination of the parasitic plant *Psittacanthus calyculatus* (Loranthaceae) in central México. *Journal of the Torrey Botanical Society* 133:429-438.
- Barkman T.J., J.R. McNeal, S.H. Lim, G. Coat, H.B. Croom, N.D. Young y W.D. Claude. 2007. Mitochondrial DNA suggests at least 11 origins of parasitism in angiosperms and reveals genomic chimerism in parasitic plants. *BMC Evolutionary Biology* 7:1-15.
- Baskin C. y J. Baskin. 2014. Germination ecology of plants with specialized life cycles and/or habitats. En: Baskin C. y J. Baskin. (Eds.). *Seeds ecology, biogeography and evolution of dormancy and germination*. 2da. ELSEVIER. USA, San Diego. p: 869-871.
- Bolin J.F., E. Mass, K.U. Tennakoon y L.M. Musselman. 2009. Host-specific germination of the root holoparasite *Hydnora triceps* (Hydnoraceae). *Botany* 87:1250-1254.
- Bouman F. y W. Meijer. 1994. Comparative structure of ovules and seeds in Rafflesiaceae. *Plant Systematics and Evolution* 193:187-212.
- Burgoyne P.M. 2006. A new species of *Cytinus* (Cytinaceae) from South Africa and Swaziland, with a key to the Southern African species. *Novon* 16:315-319.
- Carranza G.E. 2002. *Rafflesiaceae*. En: *Flora del Bajío y regiones adyacentes*. Fascículo N.107.p:1-8.
- Chang M. y D.G. Lynn. 1986. The haustorium and the chemistry of host recognition in parasitic angiosperms. *Journal of Chemical Ecology* 12:561-579.
- Copeland H.F. 1935. The structure of the flower of *Pholisma arenarium*. *American Journal of Botany* 22:366-383.
- Corner E. 1976. *The seeds of dicotyledons*. Vol. 1. Cambridge University Press. London. 224 pp.
- Crofton H.D. 1971. A quantitative approach to parasitism. *Parasitology* 62:179-193.

- de Buen L.L. y J.F. Ornelas. 2002. Host compatibility of the cloud forest mistletoe *Psittacanthus schiedeanus* (Loranthaceae) in central Veracruz, Mexico. *American Journal of Botany* 89:95-102.
- de Vega D.C. 2007. Biología de la reproducción de *Cytinus hypocistis* (L.) L.: interacciones parásito-huésped. Tesis de Doctorado. Facultad de Biología, Universidad de Sevilla. España, Sevilla. 227, 236 pp.
- de Vega C., M. Arista, P.L Ortiz, C.M Herrera y S. Talavera. 2011. Endozoochory by beetles: a novel seed dispersal mechanism. *Annals of Botany* 107:629-637.
- de Vega C., M. Arista, P.L Ortiz y S. Talavera. 2010. Anatomical relations among endophytic holoparasitic angiosperms, autotrophic host plants and mycorrhizal fungi: a novel tripartite interaction. *American Journal of Botany* 97:730-737.
- Doria J. 2010. Generalidades sobre las semillas: su producción, conservación y almacenamiento. *Cultivos Tropicales* 31:74-85.
- Espinosa-Matías S., S. Vázquez-Santana y N. Castro-Cárdenas. 2019. Anatomía y morfología de las semillas de angiospermas. En: Guevara F.P. (Comp.). *Un viaje alrededor de la semilla*. Universidad Nacional Autónoma de México. México, CDMX. p: 57-89.
- Fahn A. y E Werker. 1972. Anatomical mechanisms of seed dispersal. En: Kozlowski T.T (Eds.). *Seed biology: importance, development, and germination*. Universidad de Wisconsin. Madison, Wisconsin. p: 151-221.
- Fernández M.C.S., D.I. Munévar, A.O. Sánchez, E.E. Moreno y N.A. Cadenas. 2007. *Una visita a la Reserva de la Biósfera Sierra de Huautla (Morelos, México)*. Estudios Sociales, Nueva Época. p: 189-219.
- Fernández-Alonso J.L. y H. Cuadros-Villalobos. 2012. *Sanguisuga*, un género nuevo neotropical de Cytinaceae y una conexión sudamericana en la familia. *Caldasia* 34:291-308.
- Figueiredo R.A., A.A. Oliveira, M.A. Zacharias, S.M. Barbosa, F.F. Pereira, G.N. Cazela, J.P. Viana y R.A. Camargo. 2008. Reproductive ecology of the exotic tree *Muntingia calabura* L. (Muntingiaceae) in southeastern Brazil. *Revista Árvore* 32: 993-999.
- Filipowicz N. y S.S. Renner. 2010. The worldwide holoparasitic Apodanthaceae confidently placed in the Cucurbitales by nuclear and mitochondrial gene trees. *BMC Evolutionary Biology* 10:1-8.
- Gabr D.G. 2014. Seed morphology and seed coat anatomy of some species of Apocynaceae and Asclepiadaceae. *Annals of Agricultural Sciences* 59:229-238.
- Galindo G. y R. Fernández. 2002. Inventario florístico del municipio de Amacuzac, Morelos, México. *Polibotánica* 13:107-135.
- García-Franco J.G y V. Rico-Gray. 1996. Dispersión, viabilidad, germinación y banco de semillas de *Bdallophyton bambusarum* (Rafflesiaceae) en la costa de Veracruz, México. *Revista de Biología Tropical* 44:87-94.

- García-Franco J.G., J. López-Portillo y G. Angeles. 2007. The holoparasitic endophyte *Bdallophyton americanum* affects root water conductivity of the tree *Bursera simaruba*. *Trees* 21:215-220.
- Gomes A.L. y G.W. Fernandes. 1994. Influence of parasitism by *Pilostyles ingae* (Rafflesiaceae) on its host plant, *Mimosa nagueirei* (Leguminosae). *Annals of Botany* 74:205-208.
- Goyet V., E. Billard, J.B. Pouvreau, M.M Lechat, S. Pelletier, M. Bahut, F. Monteau, L. Spíchal, P. Delavault, G. Montiel y P. Simier. 2017. Haustorium initiation in the obligate parasitic plant *Phelipanche ramosa* involves a host-exudated cytokinin signal. *Journal of Experimental Botany* 68:5539-5552.
- Guerin C., J. Serret, R. Montúfar, V. Vaissayre, A. Bastos-Siqueira, T. Durand-Gasselín, J. Tregear, F. Morcillo y S. Dussert. 2020. Palm seed and fruit lipid composition: phylogenetic and ecological perspectives. *Annals of Botany* 125:157-172.
- Guzowska I. 1964. Reinvestigation of embryo sac development fertilization and early embryogeny in *Cytinus hypocistis* L. *Acta Societatis Botanicorum Poloniae* 31:157-166.
- Heide-Jorgensen H. 2008. *Parasitic flowering plants*. Ed. Brill. Boston. 1, 7,12, 20 pp.
- Jayasuriya K.G, J.M. Baskin, R.L. Geneve, C.C. Baskin y C.T. Chien. 2008. Physical dormancy in seeds of the holoparasitic angiosperm *Cuscuta australis* (Convolvulaceae, Cuscutaceae): dormancy-breaking requirements, anatomy of the water gap and sensitivity cycling. *Annals of Botany* 102:39-48.
- Joel D.M. y H. Bar. 2013. The seed and the seedling. En: Joel D.M, J. Gressel L. y L.J. Musselman (Eds.). *Parasitic Orobanchaceae*. Springer. Berlin, Heidelberg. p: 147-165.
- Joel D.M., H. Bar, A.M. Mayer, D. Plakhine, H. Ziadne, J.H. Westwood, y G.E. Welbaum. 2012. Seed ultrastructure and water absorption pathway of the root-parasitic plant *Phelipanche aegyptiaca* (Orobanchaceae). *Annals of Botany* 109:181-195.
- Kawakita A. y M. Kato. 2002. Floral biology and unique pollination system of root holoparasites, *Balanophora kuroiwai* and *B. tobiracola* (Balanophoraceae). *American Journal of Botany* 89:1164-1170.
- Kokla A. y C.W. Melnyk. 2018. Developing a thief: Haustoria formation in parasitic plants. *Developmental Biology* 442:53-59.
- Larcher W. 2000. *Ecofisiología vegetal*. 2da Ed. RiMa Artes e Textos. São Carlos. p: 531.
- Lersten R.N. 2004. *Flowering plant embryology*. Blackwell. USA. 167, 201 pp.
- Márquez J., R. Wong, M. Pérez, L. López y G. Murguía. 2016. Técnicas de laboratorio para el estudio del desarrollo en angiospermas. Las prensas de Ciencias. Universidad Nacional Autónoma de México. México, CDMX. p: 247.
- Mathiasen R.L., D.L. Nickrent, D.C. Shaw y D.M. Watson. 2008. Mistletoes: pathology, systematics, ecology, and management. *Plant Disease* 92:988-1006.

- Matthies D. 1995. Parasitic and competitive interactions between the hemiparasites *Rhinanthus serotinus* and *Odontites rubra* and their host *Medicago sativa*. *Journal of Ecology* 83:245-251.
- Matusova R, K. Rani, F.W. Verstappen, M.C. Franssen, M.H Beale y H.J. Bouwmeester. 2005. The strigolactone germination stimulants of the plant-parasitic *Striga* and *Orobanch*e spp. are derived from the carotenoid pathway. *Plant Physiology* 139:920-934.
- Medel R., C. Botto-Mahan, C. Smith-Ramírez, M.A. Méndez, C.G. Ossa, L. Caputo y W.L. Gonzáles. 2002. Historia natural cuantitativa de una relación parásito-hospedero: el sistema *Tristerix*-cactáceas en Chile semiárido. *Revista Chilena de Historia Natural* 75:127-140.
- Megías M., P. Molist y M.A. Pombal. 2018. *Atlas de Histología Vegetal y Animal*. Latex. Universidad de Vigo. España, Galicia. p: 3.
- Nickrent D. L. 2002. Plantas parásitas en el mundo. En: López J., P. Catalán y L. Sáez (Eds.). *Plantas parásitas de la Península Ibérica e Islas Baleares*. Mundi Prensa Libros, S.A. Madrid. p: 4,7.
- Nickrent D.L. 2007. Cytinaceae are sister to Muntingiaceae (Malvales). *Taxon* 56: 1129-1135.
- Nickrent D. L. 2020. Parasitic angiosperms: How often and how many?. *Taxon* 69:1-23.
- Nikolov L.A., P. B. Tomlinson, S. Manickam, P. Endress, E. Kramer y C. Davis. 2014. Holoparasitic Rafflesiaceae possess the most reduced endophytes and yet give rise to the world's largest flowers. *Annals of Botany* 114:233– 242.
- Olszewski M., M. Dillioth, I. García-Ruiz, B. Bendarvandi y M. Costea. 2020. *Cuscuta* seeds: Diversity and evolution, value for systematics/identification and exploration of allometric relationships. *PloS one* 15:1-23.
- Parker C. 2008. Observations on the current status of *Orobanch*e and *Striga* problems worldwide. *Pesticide Science* 65:453–459.
- Plaza L., I. Fernández, R. Juan, J. Pastor y A. Pujadas. 2004. Micromorphological studies on seeds of *Orobanch*e species from the Iberian Peninsula and the Balearic Islands and their systematic significance. *Annals of Botany* 94:167-178.
- Ponzi R. y P. Pizzolongo. 1982. *Cytinus hypocistis* L. embryogenesis: Some biological and ultrastructural aspects of fertilization and embryo development. *Plant Biosystem* 116:149-166.
- Poulin R. y S. Morand. 2000. The diversity of parasites. *The Quarterly Review of Biology* 75:277-293.
- Press M.C. y G.K. Phoenix. 2005. Impacts of parasitic plants on natural communities. *New Phytologist* 166:737-751.
- Ribeiro R.C., D.M. Oliveira y F.A. Silveira. 2015. A new seed coat water-impermeability mechanism in *Chaetostoma armatum* (Melastomataceae): evolutionary and

- biogeographical implications of physiophysical dormancy. *Seed Science Research* 25:194-202.
- Rios-Carrasco S. y S. Vázquez-Santana. 2021. Comparative morphology and ontogenetic patterns of *Bdallophytum* species (Cytinaceae, Malvales): insight into the biology of an endoparasitic genus. *Botany* 99:221-238.
- Roquet C, E. Coissac, C. Cruaud, M. Boleda, F. Boyer, A. Alberti, L. Gielly, P. Taberlet, W. Thuiller, J. Van y S. Lavergne. 2016. Understanding the evolution of holoparasitic plants: the complete plastid genome of the holoparasite *Cytinus hypocistis* (Cytinaceae). *Annals of Botany* 118:885-896.
- Rubiales D. y H.S. Heide-Jorgensen. 2011. Parasitic plants. En: Wiley J. y L. Sons (Eds.). *Encyclopedia of Life Sciences*. Inglaterra, Chichester. p: 1-2.
- Rutherford R.J. 1970. The anatomy and cytology of *Pilostyles thurberi* Gray (Rafflesiaceae). *Journal of Systematic and Evolutionary Botany* 7:263-288.
- Sabelli P.A. y B. Larkins. 2015. New insights into how seeds are made. *Frontiers in Plant Science* 6:196.
- Sandoval E. 2005. *Técnicas aplicadas al estudio de la anatomía vegetal*. Vol. 38. Universidad Nacional Autónoma de México. Instituto de Biología, México.
- Sato H.A. y A.M. Gonzalez. 2017. Embryogenesis, endospermogenesis and fruit development in *Lophophytum* (Balanophoraceae): Focus on endosperm and embryo initiation. *Flora* 233:79-89.
- Smithies S.J. y P.M. Burgoyne. 2010. *Cytinus visseri*: Cytinaceae. *Curtis's Botanical Magazine* 26:322–332.
- Simpson M.G. 2006. *Plant Systematics*. Elsevier Academic Press. Canadá. 447 pp.
- Suetsugu K y Y. Yoshiyasu. 2019. Infestation of the non-photosynthetic plant *Mitrastemon yamamotoi* (Ericales: Mitrastemonaceae) by *Assara balanophorae* (Lepidoptera: Pyralidae). *Entomological Science* 22:297–300.
- Teryokhin E.S., Z.I. Nikiticheva y M.S. Yakovlev. 1975. Development of the seed, endosperm and embryo in *Cynomorium songaricum* Rupr. (Cynomoriaceae). *Botanical Journal* 60.
- Těšitel J., L. Plavcová y D.D. Cameron. 2010. Interactions between hemiparasitic plants and their hosts: the importance of organic carbon transfer. *Plant Signaling and Behavior* 5:1072–1076.
- Twyford A.D. 2018. Parasitic plants. *Current Biology* 28:857- 859.
- Vaughn K.C. 2003. Dodder hyphae invade the host: a structural and immunocytochemical characterization. *Protoplasma* 220:189-200.
- Vázquez C.I., R.A. Villa y H.S. Madrigal. 2006. *Los muérdagos (Loranthaceae) en Michoacán*. Ed. Litho Quality. Michoacán, México. 13pp.

- Wakabayashi T, B. Joseph, S. Yasumoto, T. Akashi, T. Aoki, K. Harada, S. Muranaka, T. Bamba, E. Fukusaki, Y. Takeuchi, K. Yoneyama, T. Muranaka, Y. Sugimoto y A. Okazawa. 2015. Planteose as a storage carbohydrate required for early stage of germination of *Orobancha minor* and its metabolism as a possible target for selective control. *Journal of Experimental Botany* 66:3085-3097.
- Watling J.R. y M.C. Press. 2001. Impacts of infection by parasitic angiosperms on host photosynthesis. *Plant Biology* 3:244–250.
- Werker E. 1980. Seed dormancy as explained by the anatomy of embryo envelopes. *Israel Journal of Botany* 29:22-44.
- Westwood J.H., J.I. Yoder, M.P. Timko y C.W. de Pamphilis. 2010. The evolution of parasitism in plants. *Trends in Plant Science* 15:227-235.
- Yoshida S., S. Cui, Y. Ichihashi y K. Shirasu. 2016. The haustorium, a specialized invasive organ in parasitic plants. *Annual Review of Plant Biology* 67:643-667.