



5
220
UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

FACULTAD DE CIENCIAS
DEPARTAMENTO DE BIOLOGIA

**DESARROLLO E HISTOQUIMICA
DE LA SEMILLA *Sicyos deppei* G. Don
(Cucurbitaceae) MALEZA DE
CULTIVOS DE MAIZ**

TESIS PROFESIONAL
QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:
B I O L O G O
P R E S E N T A
MARIA AURORA ALCAZAR PESTAÑA

FALLA DE ORIGEN

MEXICO, D.F.

OCTUBRE 1990



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 está 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.

CONTENIDO

Resumen.....	1-2
I. INTRODUCCION.....	3-12
1. Características de las plantas Arvenses.....	3-5
2. <i>Sicyos deppoi</i> G. Don como Maleza del Cultivo del Maíz.....	5-7
3. Nombres comunes.....	8
4. Agresividad de <i>S. deppoi</i> G. Don como maleza.....	8-10
5. Ubicación y descripción taxonómica.....	10
6. Descripción botánica de la familia Cucurbitaceae	10-12
7. Descripción botánica de la especie <i>Sicyos deppoi</i> G. Don.....	12
II. ANTECEDENTES.....	13-28
1. Desarrollo vegetativo de <i>Sicyos deppoi</i> G. Don..	13-14
2. Embriología de las Cucurbitaceae.....	24-21
3. Morfología y Anatomía de algunos Frutos y Semillas de la Familia Cucurbitaceae.....	22-25
4. Estructura seminal y latencia.....	25-26
5. Germinación y emergencia de <i>Sicyos angulatus</i> y <i>S. deppoi</i>	26-28
III. OBJETIVOS.....	29
IV. MATERIAL Y METODOS.....	30-34
1. Colecta.....	30
2. Técnicas.....	30-31
3. Tinciones.....	31-32
4. Microscopio Electrónico de Barrido (MEB).....	32-33

5. Medidas, Peso y Color de las semillas maduras..	33
6. Observación y Registro de Resultados.....	34
V. RESULTADOS.....	35-56
1. Morfología externa del fruto maduro	
deshidratado.....	35
2. Morfología externa de la semilla madura	
deshidratada.....	35-36
2.1 Forma, tamaño, peso y color.....	35
2.2 Hilio.....	36
2.3 Micrópilo.....	36
2.4 Testa.....	36
2.5 Embrión.....	36
3. Anatomía del óvulo en la etapa de antesis.....	37
3.1 Forma y posición del óvulo.....	37
3.2 Tegumentos y haz vascular.....	37
3.3 Nucela y calaza.....	38
3.4 Saco embrionario.....	38
3.5 Micrópilo.....	39
4. Desarrollo de la Semilla.....	39
4.1 Cubierta seminal.....	39
4.1.1 Testa.....	39
4.1.2 Exotesta.....	39-46
4.1.3 Mesotesta.....	46-47
4.1.4 Endotesta.....	52
4.1.5 Tegmen.....	52

4.2 Nucela.....	53
4.3 Endospermo.....	53-55
4.4 Embrión.....	55-56
LAMINAS.....	57-82
VI. DISCUSION.....	83-99
VII. CONCLUSIONES.....	100-102
VII. BIBLIOGRAFIA.....	103-105

RESUMEN

Sicyos deppoi G. Don es una maleza abundante y muy agresiva de los cultivos de maíz de la zona oriental del Estado de México. Los estudios anatómicos de las semillas de este género son escasos y sobre *S. deppoi* no existen. En el presente trabajo se realizó el estudio estructural e histoquímico de la semilla durante su desarrollo.

Se fijaron en F.A.A. flores en antesis y frutos en diferentes estadios de desarrollo. Se procesaron mediante la técnica de inclusión en parafina, los cortes de 8-10 μ m se tiñeron en safranina verde rápido, se aplicaron diversas pruebas histoquímicas y se observaron al microscopio fotónico.

Se procesaron semillas maduras deshidratadas y frutos para observar algunas estructuras externas e internas mediante el microscopio electrónico de barrido.

El óvulo en la etapa de antesis es anátropo, bitégmico, séssil, con placentación parietal, la región micropilar queda orientada en dirección del estigma, saco embrionario pequeño y heptacelular, nucela persistente y calaza amplia. El tegumento externo está formado por: epidermis externa uniestratificada en la región calazal y central, y biestratificada en la región micropilar, parénquima de 8 a 9 estratos celulares por donde corre el haz vascular no ramificado desde la rafe hasta cerca del micrópilo y epidermis interna uniestratificada. El tegumento interno consta de dos estratos de células y forma al micrópilo largo y ligeramente curvo hacia su región terminal.

Para el estudio del desarrollo de la semilla se dividió a ésta en tres regiones: Micropilar (Mi), Central (Ce) y Calazal (Ca), debido a que se presentan diferencias en una misma etapa de desarrollo en cada una de las regiones.

La cubierta seminal de la semilla madura se forma exclusivamente por la diferenciación del tegumento externo y consta de dos regiones: la Exotesta y la Mesotesta. La primera

formada por epidermis, hipodermis y una capa esclerenquimatosa de osteoesclereidas cuyas paredes sufren los engrosamientos más evidentes de la exotesta; la segunda formada por tejido de reserva que, a la madurez, es una zona de paredes celulares comprimidas con ligeros engrosamientos apreciables al microscopio electrónico de barrido.

El tegumento interno se desintegra totalmente cuando el embrión se encuentra en el estadio de 6 células aproximadamente.

La nucela se desintegra conforme aumenta la cantidad de endospermo. En la semilla madura se encuentran de 1 a 3 estratos de paredes celulares de color verde y forma una cubierta en forma de red alrededor del embrión y completamente adherida a él.

El desarrollo del endospermo es nuclear, iniciándose la celularización en el extremo micropilar. En las semillas maduras persiste un estrato de células vivas, constituyendo la capa de aleurona.

La primera división del cigoto es transversal, la célula apical y basal participan en la formación del cuerpo del embrión, a la madurez, el embrión ocupan la mayor parte del volumen de la semilla. Las células cotiledonarias contienen abundantes granos de proteínas, aceite y escasos granos de almidón.

Se discuten algunas características estructurales que pueden ser de utilidad en la taxonomía del género.

I. INTRODUCCION

1. CARACTERISTICAS DE LAS PLANTAS ARVENSES.

Las plantas arvenses, son especies altamente adaptadas al disturbio que el hombre propicia al llevar a cabo la actividad agrícola. Cada especie muestra adaptaciones propias al sistema y sobreviven en él con éxito (Baker, 1974). Comunmente se les conoce como malezas ó malas hierbas, ya que se considera que son un factor biológico que interfiere con el desarrollo de los cultivos y causan pérdidas considerables en los rendimientos y en la calidad de diversos productos agrícolas (Agundis, 1984).

Los daños que causan las malas hierbas se pueden agrupar en directos e indirectos (Agundis, 1984).

Los daños directos derivan, en primer lugar, de la competencia que se establece entre cultivos y maleza por los factores que favorecen el crecimiento (agua, luz, nutrientes, etc.); en segundo lugar, por especies que exudan sustancias fitotóxicas, las cuales contaminan y envenenan los cultivos (alelopatía); en tercera, por ciertas especies que parasitan los cultivos en forma parcial o total.

Los daños indirectos son causados por una amplia gama de plagas agrícolas como insectos y roedores, a cuyo ataque se vuelve susceptible el cultivo una vez infestado por la arvense. Por otra parte las malas hierbas elevan los costos de operación en la

siembra y cosecha los daños directos que ocasionan al ganado son causados principalmente por las malas hierbas venenosas, las que producen alergias, daños físicos y dermatitis, cuando los animales entran en contacto con ellas.

Las arvenses son un grupo heterogéneo de plantas pertenecientes a diferentes familias botánicas, principalmente compuestas y gramíneas y en menor proporción quenopodios (Rzedowski, 1986), no obstante comparten ciertas características que permiten agruparlas, como son:

- a) Alto potencial reproductivo
- b) Abundancia y disponibilidad en el banco de semillas
- c) Latencia generalmente prolongada (vida media mayor de dos años como semilla)
- d) Presencia de metabolitos secundarios
- e) Plasticidad génica
- f) Alto potencial de dispersión y de colonización (Espinoza, 1981).

Ninguna de estas características puede definir por sí sola a una planta arvense, sino es el conjunto el que las delimita.

Baker (1974) ha enlistado las características de lo que él llama "maleza ideal" y son las siguientes:

- Requerimientos de germinación satisfechos en gran variedad de ambientes.
- Germinación discontinua (controlada internamente) y gran longevidad de las semillas.

- Continua producción de semillas, mientras las condiciones de desarrollo lo permitan.
- Compatibles entre sí pero no completamente autógamas o apomicticas.
- Cuando la polinización es cruzada, es utilizado un agente especializado o el viento.
- Producen algunas semillas en un amplio rango de condiciones ambientales, tolerancia y plasticidad.
- Tienen adaptaciones para una corta y larga distancia de dispersión.
- Si es perenne, tiene reproducción vegetativa y vigorosa.
- Tienen habilidad para competir interespecíficamente por medios especiales (crecimiento y cobertura y/o aleloquímicos).

Los estudios sobre la biología de la maleza, se han incrementado conforme la ciencia de la maleza avanza (Parka, 1976), en el entendido de que el conocimiento de la planta y su forma de vida, es un antecedente útil para desarrollar o hacer más eficiente las medidas de control (Hill, 1980).

2. *Sicyos deppel* G. Don COMO MALEZA DE CULTIVOS DE MAÍZ.

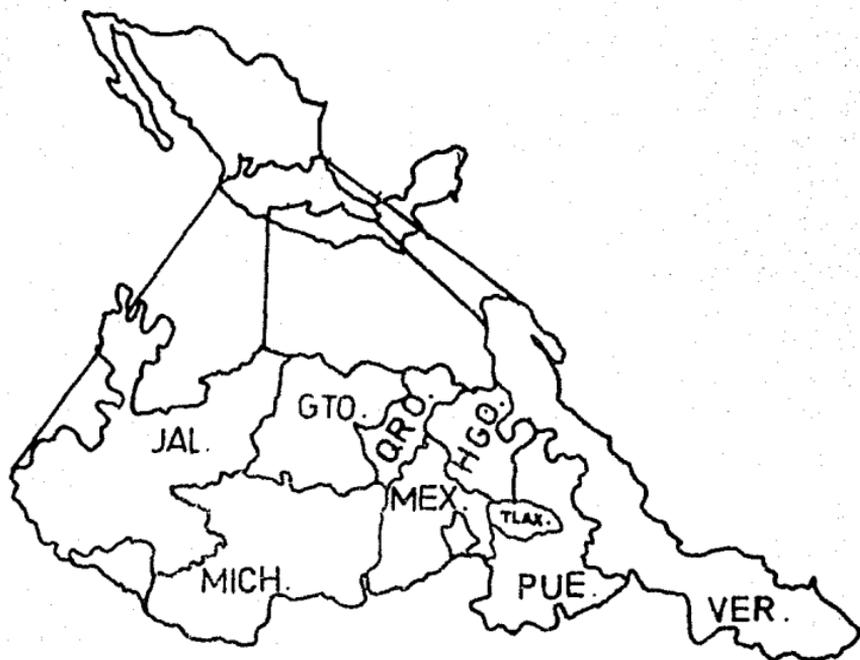
En el cultivo de maíz se han detectado más de 390 especies de malas hierbas pertenecientes a 52 familias en las diversas zonas productoras del país (Agundis, 1984). No obstante, existen arvenses que ocurren en forma localizada y cobran importancia por la reducción que causan al rendimiento de los cultivos. Tal es el caso de *Sicyos deppel* G. Don . Esta arvense pertenece a la familia

Cucurbitaceae y está cada vez más difundida en los cultivos básicos (Frijol, Cebada, Trigo y Maíz), en los Valles Altos del País, disminuyendo los rendimientos y acamando las plantas. Presenta resistencia al herbicida 2-4 D ampliamente usado para el control de arvenses de hoja ancha.

Zepeda (1988) comenta que en general las arvenses son poco colectadas y que su presencia en herbarios especializados es escasa, siendo esto una limitante para conocer la distribución de esta especie y menciona la distribución de *S. deppoi* G. Don en nueve estados del país: Michoacán, parte alta de Querétaro (Amalco, Qro), el Valle de Toluca y en todo el Estado de México, Valle de Tlaxcala, Guanajuato, Jalisco y parte alta de Hidalgo, Puebla y Veracruz (Mapa # 1).

Ejemplares del Valle de México determinados como *S. angulatus* L., corresponden a *S. deppoi* G. Don, ya que el taxon antes mencionado no se encuentran en el área (Rzedowski y Rzedowski, 1985).

Esta especie se encuentra localizada entre los 1300 y 2700 msnm y la mayoría predomina en los 2000 msnm. Los lugares donde se presenta son: bosque, matorral, pastizal, orilla de arroyos, lagunas y más significativamente en caminos y cultivos, principalmente de frijol, cebada, trigo y maíz.



MAPA # 1. DISTRIBUCION DE *Sicyos deppei* EN LA
REPÚBLICA MEXICANA. (ZEPEDA, 1988)

3. NOMBRES COMUNES.

El nombre común de *S. deppoi* G. Don varía de una región a otra del país, en el estado de México se le conoce como "atatana" (en el Sureste), "tatana" y "chayotillo" (en el este). En el Valle de Toluca como "calabacilla". En la parte alta de Puebla como "tlapaloso" y en el Valle de Tlaxcala como "tlapalazon". En la parte alta del Sur de Querétaro así como en las regiones ya citadas, se le conoce también como "chayotillo" (Zepeda, 1988).

4. AGRESIVIDAD DE *Sicyos deppoi* G. Don COMO MALEZA.

En los cultivos de maíz de la zona oriental del Estado de México se ha encontrado creciendo entre ellos y sobre ellos al "atatana", una maleza sumamente agresiva e indeseable que dicho por los agricultores de la región, es la principal causante de problemas, debido a que causan daños físicos tanto en el deshierbe como en la cosecha. Su crecimiento es muy rápido y de amplia cobertura, el cual propicia el acame de las plantas de maíz, provocando su pudrición y disminuyendo significativamente el rendimiento del grano de maíz.

Cuando la planta alcanza su madurez sexual, produce una gran cantidad de frutos con cerdas espinosas, abundantes que causan lesiones a los trabajadores durante la cosecha al desprenderse de los frutos por lo que, en terrenos invadidos por esta arvense, la mano de obra se encarece y el tiempo empleado para la cosecha aumenta. Además, el rastrojo de las plantas infestadas con atatana se pierde, ya que contiene frutos secos que

causan lesiones al ganado al ser ingerido por éstos, no pudiendo ser utilizado para forraje (Márquez - Guzmán, 1988, Reporte técnico al CONACYT).

Las semillas que caen al suelo se incorporan al banco de semillas.

La proliferación e invasión de esta arvense a nuevas áreas representa un peligro, por lo que debe evitarse.

Cruz-García (1989), concluye que las semillas de *S. deppoi* forman un banco de semillas de tipo IV, en donde sólo unas cuantas semillas germinan después de su dispersión, manteniendo así un banco de tipo persistente, el cual varía poco con la estación y es grande en comparación con la producción de semillas (Thompson y Grime, 1979. En Cruz-García, 1989); que presentan una latencia impuesta por la cubierta seminal, además de un alto porcentaje de viabilidad en semillas no germinadas y atribuye el fracaso en la emergencia de las plántulas desde profundidades mayores a 15 cm a una insuficiente cantidad de nutrientes almacenados por la semilla.

Además, sugiere que los métodos de control para *S. deppoi*, se diseñen de tal modo que su aplicación sea antes de la madurez sexual de la planta, evitando de esta manera que se presente la producción de frutos, a partir de los cuales se hace la dispersión de las semillas que se incorporarán y aumentarán el banco de semillas preexistente.

Al no existir un conocimiento biológico completo de esta arvense, no se han diseñado y aplicado métodos efectivos de

control.

Por lo anteriormente expuesto el presente trabajo pretende contribuir al conocimiento biológico de algunos aspectos del desarrollo e histoquímica de la semilla, que es el medio de proliferación de esta agresiva maleza de cultivos de maíz. Este estudio cobra importancia puesto que no se conoce la estructura de la semilla madura ni de ninguna de sus etapas de desarrollo, además de que se plantea que su latencia esta impuesta por testa dura.

5. UBICACION Y DESCRIPCION TAXONOMICA (Cronquist, 1981).

División : Magnoliophyta
Clase : Magnoliopsida
Subclase : Dellenifidae
Orden : Viales
Familia : Cucurbitaceae
Género : *Sicyos*
Especie : *Sicyos deppel* G Don.

6. DESCRIPCION BOTANICA DE LA FAMILIA CUCURBITACEAE.

Hierbas monoicas o diocas, anuales o perennes, a menudo provistas de un engrosado rizoma o tubérculo. Tallos más o menos

angulosos, en ocasiones ligeramente, postrados o trepadores. Hojas alternas, por lo general pecioladas, peciolo con o sin glándulas, sin estípulas, limbo membranáceo, en ocasiones áspero, entero, lobulado o con frecuencia partido, base ligeramente cordada y las nervaduras palmadas. Zarcillos por lo común presentes, espiralados simples o ramificados, naciendo uno por cada nudo. Inflorescencias axilares, las masculinas dispuestas en racimos, panículas o subumbelas, rara vez las flores solitarias, las femeninas solitarias, ocasionalmente en racimos o glomérulos. Flores unisexuales; actinomorfas, acampanadas o tubulosas. Sépalos o segmentos del cáliz 3 a 5, lanceolados subulados o triangulares, con frecuencia obsoletos, corola 3 a 5 partida o bien, de 3 a 5 pétalos separados; flores masculinas generalmente con 5 estambres, aparentando en ocasiones solamente 3, insertos en el receptáculo, filamentos libres o soldados, anteras libres o soldadas en pares, o bien formando un anillo central; flores femeninas con ovario ínfero, trilocular, rara vez uni o pentalocular, placentación parietal, óvulos uno a numerosos, estilo 1, entero o partido, estigmas 1 a 5; estaminodios a veces presentes, setiformes o linguiformes, rara vez con anteras. Fruto de forma y dimensiones diversas, seco o carnoso, a menudo provisto de espinas, dehiscente o indehiscente. Semillas lisas, rugosas o más o menos esculpidas, generalmente comprimidas, testa rígida, endospermo ausente. Comprende aproximadamente 130 géneros con 1200 especies, distribuidas en regiones tropicales y subtropicales de ambos hemisferios. Agrupa especies de gran importancia económica como

las calabazas (*Cucurbita pepo* L., *C. maxima* Duch.), cidrachayote o chilacayote (*Cucurbita ficifolia* Bouché), sandía (*Citrullus vulgaris* Schard.), melón (*Cucumis melo* L.), pepino (*Cucumis sativus* L.), chayote (*Sechium edule* Sw.), guaje (*Lagenaria leucantha* Rusby), estropajo (*Luffa cylindrica* (L.) Roem.) (Rodríguez, 1985 . En Rzedowski y Rzedowski, 1985).

7. DESCRIPCION BOTANICA DE LA ESPECIE *Sicyos deppii* G. Don.

Hierba trepadora, anual. Tallos ramificados, de varios metros de largo, estriados glabros. Hojas con peciolo de 1 a 9 cm de largo, hirsutos, limbo ovado de 2 a 15 (20) cm de largo y de ancho, (3) 5 - 7 lobado o angulado, lóbulo terminal triangular-oblongo, ápice acuminado, márgenes serrulados, base profundamente cordada; inflorescencia masculina de 8 a 18 cm. de largo, sobre pedúnculos de más de 10 cm. de largo. Flores con pedicelo de 5 a 12 mm. de largo; corola amarillo verdosa, de 3 a 6 mm. de largo y de 3 a 12 mm de diámetro; inflorescencia femenina en glomérulos, sobre pedúnculos de 1 a 2 (3) cm. de largo, flores en número de 5 a 12. Fruto triangular-ovoide, de 6 a 8 mm de largo, de color café o negro al madurar, con cerdas espinosas frágiles, caducas, de color amarillo, de 2 a 4 mm de largo, levemente tuberculado (esto sólo es visible cuando se han caído las espinas) (Rodríguez, 1985 . En Rzedowski y Rzedowski, 1985).

II. ANTECEDENTES

1. DESARROLLO VEGETATIVO DE *Sicyos deppoi* G. Don.

Zepeda (1988), describe el desarrollo vegetativo de *Sicyos deppoi* G. Don y menciona que la planta presenta emergencia epigea, los cotiledones en las plantulas tienen una longitud promedio de 3.2 cm. El sistema radical exhibe una raíz pivotante relativamente corta (30 - 65 cm), con pocas ramificaciones; de 3 a 4 raíces secundarias relativamente largas (50 - 120 cm) que se presentan a la altura del cuello de la planta y se desarrollan lateralmente casi paralelas a la superficie del suelo y a poca profundidad.

Las hojas, zarcillos e inflorescencias masculinas y femeninas son estructuras asociadas a los nudos. En cada nudo ocurre una hoja, las cuales presentan polimorfismo entre plantas y dentro de éstas, no todos los nudos presentan zarcillos. Al inicio de la floración (50 días después de la emergencia = dde) se presentan las inflorescencias masculinas y femeninas en casi todos los casos en el mismo nudo.

La floración es acropétala, es decir de la base de la planta hacia el ápice. En algunos nudos la floración es protogínea, esto es, las flores femeninas presentan antesis tres o cuatro días antes que las masculinas. Este fenómeno probablemente favorece la polinización cruzada y se presenta durante todo el

ciclo de floración.

El tipo de polinización es entomófila.

La floración es continua, 25 días después de su inicio, por lo que se presentan en la planta frutos inmaduros (coloración verde o ligeramente café), y "maduros" (aquellos que presentan una coloración café oscura o negra). La maduración de los frutos se presenta aproximadamente a los 24 - 26 días después de la antesis. Así la proporción de los frutos maduros aumenta a costa de una disminución correlativa en los inmaduros. El número promedio de frutos maduros por planta es de 30,000. El peso promedio por fruto es de 0.03 - 0.04 g.

La planta consta de un tallo principal con ramas de primer, segundo y tercer orden. La longitud del tallo principal es de aproximadamente ocho metros, mientras, que la longitud total, sumadas las ramas alcanza un, promedio final de aproximadamente 400 m. por planta (115 dde).

2. EMBRIOLOGIA DE LAS CUCURBITACEAE.

Los trabajos embriológicos son un elemento valioso en la caracterización taxonómica de los grupos vegetales (Netolitzky, 1926 en Corner, 1976), por lo que las investigaciones en este sentido se han incrementado en las últimas décadas para la mayoría de las familias. Para la familia Cucurbitaceae se han hecho algunos estudios sobre embriogénesis, principalmente en los géneros que poseen representantes con valor comercial y muy poco se ha hecho para los géneros perjudiciales desde el punto de

vista agronómico.

Kirwood, (1905) realiza un estudio muy amplio de las 5 tribus de la familia Cucurbitaceae: Fevilleae, Melothriaceae, Cucurbitaceae, Sicyoideae y Cyclanthereae; tomando en cuenta la morfología y fisiología de la organogénesis del gineceo y saco embrionario. Las conclusiones a las que llega son:

- La placenta de las cucurbitáceas se origina como un surco longitudinal sobre el cual se sostienen los óvulos lateralmente excepto en el género *Sicyos*, donde el óvulo está pendulado en el ápice del ovario.

- El número de placentas generalmente corresponde con el número de carpelos rudimentarios; pero esto se presenta siempre (*Sicyos*).

- En las tribus Fevillaceae, Melothieae y Cucurbiteae se presenta un ovario tricarpelar, sin embargo, la tribu Sicyoideae presenta géneros con ovario tricarpelar y con una sola placenta, mostrándose la tendencia hacia la reducción en el número de carpelos funcionales.

- Las características del óvulo y saco embrionario muestran un considerable grado de uniformidad en el desarrollo de éstas estructuras entre las especies estudiadas, teniéndose que:

.. El óvulo en todos los casos es anátropo.

.. La nucela y los tegumentos son constantes.

.. La nucela en esta familia es mucho más prominente que en otros miembros del grupo Simpetaleae, y difiere de éstos por la presencia de dos tegumentos.

.. El tegumento interno raramente alcanza un grosor de más de 2 estratos de células.

.. El tegumento externo es generalmente conspicuo y las paredes de ciertos estratos de estas células tienen peculiares engrosamientos y esculturas.

.. La célula arqueosporial deriva del tejido esporógeno. No hay degradación de las células tapetales o parietales.

.. La célula esporógena primaria se divide y forma 4 megasporas, las cuales se arreglan en línea recta y generalmente la célula más alejada de la calaza es la funcional; esta célula se alarga considerablemente y sufre una serie de divisiones regulares dando origen a 8 núcleos que forman el aparato del huevo, antípodas y sinérgidas.

.. Los núcleos polares generalmente migran a la vecindad del aparato del huevo.

.. Las antípodas son efímeras.

.. El proceso de fertilización y el origen del embrión es una cuestión clara en las Cucurbitaceae. Siendo el proceso de fertilización y desarrollo del saco embrionario normal.

.. El tubo polínico se detecta en el micrópilo y en algunos casos penetra a través del tejido nucelar al saco embrionario (*Cyclanthera* y *Cucumis*). En el caso de *Cucurbita pepo* el tubo polínico se ramifica en diferentes direcciones (Longo, 1903, en Kirwood, 1905).

.. En las Cucurbitaceae es de gran interés el endospermo siendo una regla que la división del endospermo nuclear ocurre

antes que la primera división del cigoto. La fusión de los núcleos polares probablemente ocurre cerca del momento de la fertilización.

.. En los géneros *Apodanthera*, *Bryonopsis*, *Luffa*, *Trichosantes* y *Cucurbita*, se encuentran presentes gránulos de almidón en el saco embrionario, los cuales ya no se observan después de la primera división del cigoto.

.. El tejido nucelar adyacente al saco embrionario contiene abundante aceite, el cual es gradualmente introducido y absorbido por las células de éste y transformado en almidón en el interior del citoplasma que rodea a los núcleos polares.

.. El almidón tiene una importante función nutritiva en el desarrollo del endospermo. La cantidad de almidón disminuye conforme aumenta la cantidad de endospermo, el cual va desintegrando y desplazando al tejido nucelar.

.. La estructura cenocítica del endospermo se reemplaza gradualmente por una estructura celular, de la región micropilar a la calazal.

.. El crecimiento del embrión se lleva a cabo por la absorción del material proporcionado por el endospermo y no por la digestión de éste.

.. La forma adoptada por el embrión es muy uniforme desde el principio. Usualmente 2 ó 3 divisiones transversales del cigoto dan como resultado a un embrión y a un suspensor rudimentario que finalmente está presente por corto tiempo. Se llevan a cabo subsecuentes divisiones no producidas regularmente hasta que es

formada una masa globular o piriforme. Después de este estadio el embrión comienza a ensancharse distalmente y aparecen los cotiledones; tiempo después se marca internamente el eje radícula hipocótilo. Subsecuentemente ocurre el crecimiento y desarrollo de los cotiledones.

Singh, B., (1953) estudia y compara los género *Bryonia dioica* L.; *Cucumis melo* L.; *Cucurbita pepo* L.; *Cyclanthera explodens* Naud.; *Ecballium elatenium* Rich.; *Legenaria vulgaris* Ser.; *Luffa cylindrica* M. Roem.; *Sicyos angulatus* L.; *Trichosanthes anguina* L. Con respecto a los óvulos menciona que son anátropos, bitégmicos, con placentación parietal y varían en número de acuerdo con el género. La posición de los óvulos generalmente es horizontal, excepto en *Sicyos angulatus*, el cual tiene un único óvulo pendulado, el micrópilo está generalmente dirigido hacia el estigma. Los óvulos de una misma flor no están en la misma etapa de desarrollo.

La nucela es masiva y presenta una epidermis de un estrato, compuesta de células isodiamétricas que se dividen radialmente durante su desarrollo. El tejido nucelar interno esta formado por células alargadas.

El tegumento externo tiene un grosor variado en los géneros estudiados, siendo de 6 a 10 estratos. En la región del haz vascular, el número de estratos celulares puede ser de 15 a 20.

Todas las células del tegumento externo, excepto las de la epidermis externa, son ligeramente más grandes.

El haz vascular no ramificado atraviesa por el borde del tegumento externo. En *Cyclanthera explodens* observó ramificaciones del haz vascular en el tegumento externo. Kratzer, (1918 en Singh, B., 1953) reporta algo similar en *Momordica*.

En la mayoría de los géneros el tegumento interno esta formado solamente de 2 a 3 estratos de células. En ocasiones, en la base del óvulo, el número de estratos se incrementa a 4 ó más.

La cubierta de la semilla está formada de los siguientes tejidos derivados solamente del tegumento externo: epidermis, hipodermis, capa protectora y aerénquima, el tegumento interno degenera tempranamente, por lo que esta totalmente ausente en la semilla madura. La etapa en la cual el tegumento interno inicia y termina su degeneración, difiere completamente entre los diferentes géneros.

Las células epidérmicas de la cubierta en la semilla madura, generalmente tienen un peculiar engrosamiento en forma de varillas en las paredes radiales.

La hipodermis seminal, un tejido subepidérmico llega a tener paredes engrosadas en algunos casos. Estas células tienen un poco de contenido obscuro en ciertas semillas. Algunas veces ésta puede llegar a ser de tipo esclerenquimatoso..

La capa protectora (esclerenquimatosa) esta radial o tangencialmente alargada con células de tipo esclerenquimatoso en empalizada. En ocasiones la forma de estas células es muy irregular. El engrosamiento de estas células es muy grande pero puede variar en ciertos casos. Las células situadas en la superficie de la semilla llegan a ser altamente lignificadas, mientras que en algunos casos la lignificación puede ser insignificante. En algunos géneros este tejido esta muy desarrollado a lo largo de la cubierta seminal.

El aerénquima es el siguiente tejido interno. Este esta formado por la división de las células de la hipodermis ovular. Estas células pueden llegar a ser estrelladas y en ciertos casos llenas de clorofila.

El suplemento vascular esta formado de un único haz vascular que corre a lo largo de el borde de la semilla por el clorénquima, capa del tegumento externo. Este puede ramificarse cerca de el funículo, pero las ramas entran al tegumento externo solamente.

Puri (1954), describe la estructura y el suplemento vascular en el gineceo de 15 especies representantes de las cinco tribus de las Cucurbitaceae, con particular referencia en la placentación y discute cuatro tendencias evolutivas de la familia:

a) Tendencia hacia la reducción en el número de carpelos. El gineceo, en diferentes géneros, está constituido de 2 a 5 carpelos, siendo 3 el número común.

En la tribu Melothieae el género más primitivo, *Apodanthera* sp., tiene 5 carpelos.

En la tribu Cucurbitaceae el número de carpelos es de 3.

En la tribu Sicyoideae y Cyclanthereae el número de carpelos no puede ser determinado a nivel del ovario (monocarpelar), es más evidente la existencia de 3 carpelos en la región del estilo (3 estigmas = 3 carpelos).

b) Tendencia hacia la reducción en el número de óvulos. La reducción en el número de carpelos es seguida por una correspondiente reducción en el número de óvulos. Esta tendencia marca el climax en la tribu Sicyoideae que muestra una condición uniovulada.

c) Tendencia hacia la fusión de los haces vasculares. El hecho de que el único óvulo de *Sicyos* sp. reciba el suplemento vascular de tres diferentes procedencias, hace lógico concluir que los haces que podrían dirigirse a tres diferentes óvulos entran en el único óvulo presente (Blaser, 1941. En Puri, 1954).

d) Tendencia hacia el cambio de placentación. En las Cucurbitaceas ha ocurrido un cambio de la placentación axial a placentación parietal.

En la tribu Fevilleae, el género *Fevillea* presenta placentación axial; este género en todos los tratados taxonómicos (Baillon, 1888; Muller & Pax, 1894, en Puri, 1954) es considerado el más primitivo de todas las Cucurbitaceas.

El género *Sicyos* sp., de la tribu Sicyoideae presenta placentación parietal.

3. MORFOLOGIA Y ANATOMIA DE ALGUNOS FRUTOS Y SEMILLAS DE LA FAMILIA CUCURBITACEAE.

Las semillas constituyen un elemento que se toma en cuenta muy someramente cuando los taxónomos realizan las descripciones y claves de la familia Cucurbitaceae.

El conocimiento de las semillas de una familia puede tener importancia para establecer grupos filogenéticamente más naturales y así ayudar a la caracterización de sus integrantes.

Hardy (1976), realiza un estudio sobre los frutos y semillas de 18 géneros de las Cucurbitaceae de Venezuela: *Anguria*, *Calycophyllum*, *Cayaponia*, *Ceratosanthes*, *Citrullus*, *Cucumis*, *Cucurbita*, *Cyclanthera*, *Elaterium*, *Elateriopsis*, *Fevillea*, *Lagenaria*, *Luffa*, *Melathia*, *Monordica*, *Posadaea*, *Scheuchium* y *Sicana*; en el cual da las características generales sobre frutos y semillas, elabora una clave para la identificación de los géneros, basada en caracteres anatómicos y morfológicos de la semillas y frutos. Finalmente da una descripción de los frutos y semillas de los géneros estudiados.

Dentro de las características morfológicas que tomó en cuenta están: el color, tamaño, número de semillas (Monospermos, Oligospermos y Polispermos), disposición de las semillas en el fruto (Verticales o Transversales), dehiscencia (Dehiscentes, Sub-indehiscentes) y su anatomía.

Para las semillas considera las siguientes características: color, tamaño, forma, caras (convexas - planas), bordes (lisos,

crenados, etc.), micrópilo, funículo, hilio, arilo, cubierta seminal y embrión.

Las conclusiones a las que llega son:

- El fruto de las Cucurbitaceae representa un órgano de gran importancia taxonómica ya que hay variaciones en su dehiscencia, tamaño, etc. que permiten establecer grupos de géneros basándose en ellos.

- El estudio morfológico y anatómico de las semillas de las Cucurbitaceae puede evidenciar parentescos entre géneros; pudiéndose crear tribus diferentes a las tradicionalmente construídas con base en estudios florales y otros caracteres morfológicos.

El estudio anatómico y morfológico de la cubierta seminal de las Cucurbitaceae es de gran valor en la caracterización de la familia y sus diferentes géneros.

Sing, y Dathan (1974), estudian el desarrollo y estructura de la cubierta seminal de tres especies del género *Corallicarpus*, una de *Kedrostis* y dos de *Ibervillea*, menciona que sólo el tegumento externo forma la cubierta de la semilla y el interno se degrada. En la semilla madura la cubierta de la semilla comprende cinco zonas: epidermis, hipodermis, capa esclerenquimatosa, aerénquima y una zona interna de células alargadas y comprimidas. Concluye que las características endomórficas y de la cubierta seminal presentan un patrón común en las especies investigadas y que los datos obtenidos muestran la utilidad de la cubierta seminal en la identificación entre géneros y probablemente permita

observar el rango de variación entre las especies.

Lott, (1973) ha observado semillas maduras deshidratadas de *Cucurbita maxima*, miembro de la familia Cucurbitaceae, con el microscopio electrónico Scanning, para describir en detalle las características internas y externas de ciertos tipos celulares de la cubierta seminal

La epidermis de la cubierta seminal consiste de pequeñas células que no se elongan radialmente.

La capa de células esclerenquimatosas está formada por una o varias células de grosor, las cuales presentan paredes muy engrosadas y pequeño lumen celular. Esta es la zona más importante de la cubierta seminal.

Entre la epidermis y las esclereidas hay un tejido hipodérmico compacto con espacios intercelulares pequeños.

El parénquima esponjoso está formado por células con engrosamientos reticulados localizados, que le dan una apariencia aterronada.

Una delgada capa verde adherida estrechamente a los cotiledones está compuesta de células intactas del parénquima esponjoso que contienen protoclorofila y restos de paredes celulares aplastadas. Esta capa es difícil de observar al microscopio electrónico.

Las células cotiledonarias son distinguibles de las células de la cubierta de la semilla porque almacenan gran cantidad de cuerpos proteicos claramente revelados por las micrografías

electrónicas. Además en el citoplasma de las células cotiledonarias existen vesículas pequeñas que almacenan probablemente lípidos.

Lott, compara la estructura de *C. maxima* con la de *C. pepo* y menciona que hay diferencias entre éstas debido probablemente a que son diferentes variedades, o bien debido a que sus estudios fueron hechos con el microscopio electrónico Scanning, el cual tiene mucho más poder de resolución que el microscopio fotónico.

También discute la reacción obtenida con Fluoroglucinol-HCl, la cual, menciona, fue variable. La capa de esclerenquima tiñe de color rojo-anaranjado, en las paredes reticuladas de las células hipodérmicas y las del parénquima esponjoso. La reacción fue en algunas semillas muy tenue y en otras rojo-púrpura; atribuye esto a la composición química de la lignina en relación a la proporción en el grupo coniferaldehído o al grupo Syringylpropano (Sarakanen y Ludwin, 1971 .En Lott, 1973).

4. ESTRUCTURA SEMINAL Y LATENCIA.

Rolston, (1970) estudia la latencia de semillas impermeables al agua, describe los factores que intervienen en la impermeabilidad de la semillas como son: el tegumento externo y el hilio; las condiciones ambientales como son luz, humedad, temperatura y fertilidad del suelo y finalmente las condiciones genéticas. Con respecto a la estructura de la testa, hilio y micrópilo menciona que durante la ontogénesis de la semilla ocurre

en cierto momento la impermeabilidad al agua, al describir el tegumento externo menciona la presencia de una línea clara (en ocasiones dos), llamada también línea lúcida, que puede ser observada en la capa de células esclerenquimatosas, la cual ha sido propuesta como barrera de impermeabilidad al agua. No se sabe con certeza cual es la composición de ésta, y se ha propuesto que se debe a cambios en la composición química de las células esclerenquimatosas, diferencias en el grado de impregnación de lignina a lo largo de las células esclerenquimatosas por arriba y por debajo de la línea clara, o bien es resultado de la yuxtaposición de capas de suberina o cutina y de celulosa en la porción baja de las macroesclereidas.

5. GERMINACION Y EMERGENCIA DE *Sicyos angulatus* y *S. deppoi*.

Mann, et al (1981), estudian la germinación de *Sicyos angulatus* bajo diferentes condiciones de laboratorio: temperatura, estratificación, oxigenación, profundidad del suelo y escarificación. Las conclusiones que presentan son:

- . El rango óptimo para la germinación es de 20 a 30°C y a los 10 días la germinación es máxima.
- . En semillas no escarificadas no hay germinación en ninguna de las temperaturas utilizadas; así la latencia impuesta por la cubierta de la semilla impide la germinación.
- . La estratificación afecta la permeabilidad de la semilla, por lo que ocurre la germinación en bajos porcentajes.
- . Semillas no escarificadas y escarificadas incrementan su

peso en un 5 y 88% respectivamente, cuando son puestas en agua por 48 hrs.

. La cubierta seminal tiene un papel significativo en el movimiento del agua hacia el embrión.

. Comparando los resultados con semillas escarificadas y no escarificadas durante la germinación, indican que la ruptura de la cubierta seminal es necesaria para la germinación.

. La mayor germinación y emergencia de semillas escarificadas ocurre a una profundidad de 15 - 16 cm y decrece al incrementarse la profundidad.

. Las semillas de *S. angulatus* germinan esporádicamente, probablemente porque hay diferencias en la dureza y engrosamiento de las cubiertas seminales.

. La germinación puede ocurrir después del deterioro de la cubierta de la semilla por procesos naturales, probablemente las técnicas de cultivo escarifican la semilla incrementando así la germinación.

Cruz - García (1989), estudia la germinación y establecimiento de plántulas de *Sicyos deppel* G. Don expuestas a la temperatura y humedad del suelo y concluye que :

- Las semillas provenientes de la última cosecha tienen bajos porcentajes de germinación.

- La testa es el principal mecanismo que impone la latencia en estas semillas que impide que éstas germinen cuando se encuentran en condiciones óptimas.

- Un alto porcentaje de las semillas que no germinan permanecen viables, sin embeberse en los terrenos de cultivo y
- Las plántulas logran emerger desde 0.5 y 5.0 cm, con la mayor emergencia en 0.5 cm.

III. OBJETIVOS.

1) Objetivo general.

- Aportar elementos estructurales para la mejor comprensión de las semillas del género *Sicyos*.

2) Objetivos particulares.

- Estudiar la anatomía e histoquímica de la semilla de *Sicyos deppoi* desde la antesis hasta su madurez .

- Estudiar la morfología externa e interna de la diáspora de *S. deppoi* mediante el microscopio electrónico de barrido (MEB).

IV MATERIAL Y METODOS

1. COLECTA.

Para la realización de este trabajo se recolectaron flores y frutos de tres plantas diferentes en distintas etapas de desarrollo hasta su completa maduración (frutos deshidratados), durante los meses de agosto a octubre de 1987. Estas plantas se encontraban sobre cultivos de maíz en la localidad de San Pedro Atocpan, Distrito Federal, que colinda con la zona oriental del Estado de México.

2. TECNICAS.

Las flores y frutos completos, se fijaron en formol-alcohol-ácido acético-agua (F.A.A.). Se establecieron 25 tamaños de fruto para tener una probable secuencia en el desarrollo de la semilla.

Las muestras fijadas se deshidrataron en alcoholes graduales y se incluyeron en parafina a 56°C de acuerdo al método de Johansen (1940), con las siguientes modificaciones para la mejor infiltración de las semillas:

- a) El medio de inclusión fue paraplast plus.
- b) Perforación hecha con la punta de un alfiler sobre los frutos y semillas en la región calazal y/o central.
- c) Separación del fruto y de la semilla.
- d) Separación de la cubierta de la semilla.

e) Omisión del paso de parafina - xilol - 1:2.

Estas modificaciones se realizaron sólo en las etapas de desarrollo más avanzadas, en donde los tejidos eran muy duros.

Se obtuvieron, por medio de un microtomo de rotación American Optical mod. 820, los cortes seriados de 8 y 10 um de grosor en el plano mediano, transversal y transmediano.

3. TINCIONES.

3.1 Los cortes desparafinados se tñeron con la técnica doble Safranina-Verde Rápido, para observar la estructura celular.

3.2 Se realizaron las siguientes pruebas histoquímicas sobre cortes desparafinados, para la detección y localización de ciertos productos químicos en los diferentes estadios y tejidos de la semilla:

3.2.1 Acido peryódico - reactivo de Schiff (A.P.S).- Tñe de color rosa intenso o magenta los polisacáridos insolubles (Engleman, com. pers.)

3.2.2 Azul mercúrico de bromofenol.- Tñe de color azul las proteínas (Johansen, 1940).

3.2.3 Permanganato de potasio.- Tñe de color café los taninos (Engleman, com. pers.)

3.2.4 Rojo O de aceite.- Tñe de color rojo la cutina y las grasas (Engleman, com. pers.)

3.2.5 Cloroyoduro de zinc.- Tñe de color azul la celulosa y hemicelulosa y de amarillo o naranja la cutina o suberina (Jensen, 1962).

3.2.6 Floroglucina - Ácido clorhídrico.- Tinte de color rojo violáceo la lignina (Engleman, com. pers.).

3.2.7 Reactivo de lugol.- Tinte de color morado intenso ó azul el almidón (Johansen, 1940).

4. MICROSCOPIO ELECTRONICO DE BARRIDO (M E B).

Para observar algunas estructuras del fruto y la semilla madura deshidratada se utilizó el microscopio electrónico de barrido, Jeol JMS-35 , del Instituto de Ciencias del Mar y Limnología . El material fue preparado de la siguiente manera :

4.1 Se extrajeron del fruto semillas maduras deshidratadas.

4.2 Se hicieron cortes gruesos con navaja a mano en plano mediano, transversal y transmediano para dejar al descubierto las estructuras que se querían observar, en particular el embrión y la testa. También se observaron semillas y frutos enteros.

4.3 Parte del material fragmentado se embebió en agua y se fijó en Glutaraldehído - paraformaldehído al 2% en buffer S. Colidina durante 2 hrs.

Se realizaron lavados con buffer S. Colidina 0.05 N con Sacarosa cada 5 min. durante media hora y se postfijaron en Tetraóxido de Osmio al 2 % durante 24 hrs , transcurrido este tiempo se realizaron nuevamente lavados con amortiguador de S. Colidina durante media hora.

Se deshidrató el material con una serie de alcoholes graduales hasta etanol absoluto, posteriormente se hizo un cambio de 15 min. en acetona al 100% .

Se colocó el material deshidratado para desecar en una rejilla y de ésta

forma a la cámara de presión Chamber C.P.A. II, para llevar las muestras a punto crítico del CO₂.

4.4 En estas condiciones los objetos se montaron en cilindros metálicos (portamuestras), con tintura de plata, dándoles la orientación adecuada.

4.5 Se llevó el cilindro con semillas y frutos a la cámara de ionización, Joel-JFC- 1100, donde fueron sometidas a un baño fino de oro durante 7 min.

4.6 Se colocó el cilindro con el material en el microscopio electrónico de barrido y se obtuvieron las fotografías respectivas

5. MEDIDAS, PESO Y COLOR DE LA SEMILLA MADURA.

Una muestra de diez semillas maduras y deshidratadas obtenidas al azar de *S. deppoi* se pesaron en una balanza analítica y se midieron con un vernier. Su color se determinó con la tabla de colores de Kurnerup y Wanschler (1978).

6. OBSERVACION Y REGISTRO DE RESULTADOS.

Las observaciones y análisis de los cortes seriados se llevó a cabo en un microscopio fotónico American Optical, mod. Phase Star, y la obtención de fotografías fue a través de un fotomicroscopio Zeiss.

Algunas de las estructuras de la semilla y fruto maduros se observaron y fotografiaron mediante el microscopio electrónico de barrido.

V RESULTADOS

1. Morfología externa de el fruto maduro deshidratado.

El fruto (ó diáspora) de *S. deppoi* es monosporico, su color está en la gama del castaño oscuro (7F4) ó negro (8F2) (Tabla de colores de Kornerup y Wanscher, 1978); es indehiscente, la superficie es reticulada y cubierta por dos tipos de tricomas, unos pequeños y blandos de forma cónica y otros en forma de largas espinas acerradas (Figs. 5 y 6 MEB).

2. Morfología externa de la semilla madura deshidratada.

2.1 Forma, Tamaño, Peso y Color.

La semilla de *S. deppoi*, es de forma ovoide. Consta de 2 caras convexas lisas o con ligeras reticulaciones sin forma específica, bordes redondeados y continuos, con simetría bilateral. Presentan el hilio en la región micropilar con dos protuberancias en forma de labios (Figs. 7 y 8).

La semilla tiene un tamaño promedio de 0.5 cm. de largo, 0.38 cm. de ancho en la región calazal, 0.21 cm. de ancho en la región micropilar y 0.22 cm de grosor (Esquema # 1). Su peso promedio es de 0.027 g. y se encuentra completamente adherida al fruto.

Las semillas pueden ser, en su mayoría de color negro (8F2) y castaño oscuras (8F3) ó claras (6D4, 7F5) (Tabla de colores de Kornerup y Wanscher, 1978).

2.2 Hilio.

El hilio tiene forma lineal, se encuentra en posición apical de la región micropilar con dos protuberancias en forma de labios (Fig. 9 MEB).

2.3 Micrópilo.

El micrópilo cercano al hilio se encuentra obturado en la semilla madura por el tegumento externo y bordeado por dos protuberancias laterales en forma de labios que dejan un espacio entre sí relleno de tejido parenquimatoso (Fig. 9 MEB).

2.4 Testa.

La testa es muy dura, superficie lisa o con ligeras reticulaciones provocadas probablemente por la deshidratación de las células más internas de la pared del fruto. Es impermeable al agua.

2.5 Embrión.

Los cotiledones son blancos, ovoides, dorsoventralmente poco convexos y ventralmente planos; con haces vasculares poco pronunciados en ambas caras.

El eje radícula hipocótilo es corto, grueso, recto y diferenciado claramente de los cotiledones.

El epicótilo es poco conspicuo.

El embrión se encuentra rodeado por una capa delgada de

paredes celulares de color verde (restos de nucela), completamente adherida a él (Fig. 10).

3. Anatomía del óvulo en la etapa de antesis.

3.1 Forma y posición del óvulo.

El ovario contiene un sólo óvulo, anátropo, bitégmico, crasinucelado, sésil y con placentación parietal. La región micropilar queda orientada en dirección del estigma, pues el óvulo tiene una posición pendulada (Fig. 11).

3.2 Tegumentos y haz vascular.

El óvulo bitégmico en la etapa de antesis, presenta al tegumento externo formado por una epidermis uniestratificada y cutinizada en la región calazal y central, y biestratificada en la región micropilar, con células cuyo eje mayor es perpendicular a la superficie, contiene núcleos centrales con un gran nucleolo (Figs. 12 y 13); parénquima compacto formado por 8 - 9 estratos de células isodiamétricas, cuyo número de estratos aumenta de 12 - 15 en la región micropilar. La epidermis interna esta formada por células cúbicas y pequeñas (Figs. 12 y 13).

El haz vascular no ramificado penetra por la región hilar y atraviesa el tegumento externo por el parénquima, recorre la rafe llega a la calaza y continua en la antirrafe casi hasta el micrópilo (Fig. 14).

El tegumento interno está formado por dos estratos de células cuyo eje mayor es paralelo a la superficie (Fig. 13).

3.3 Nucela y Calaza.

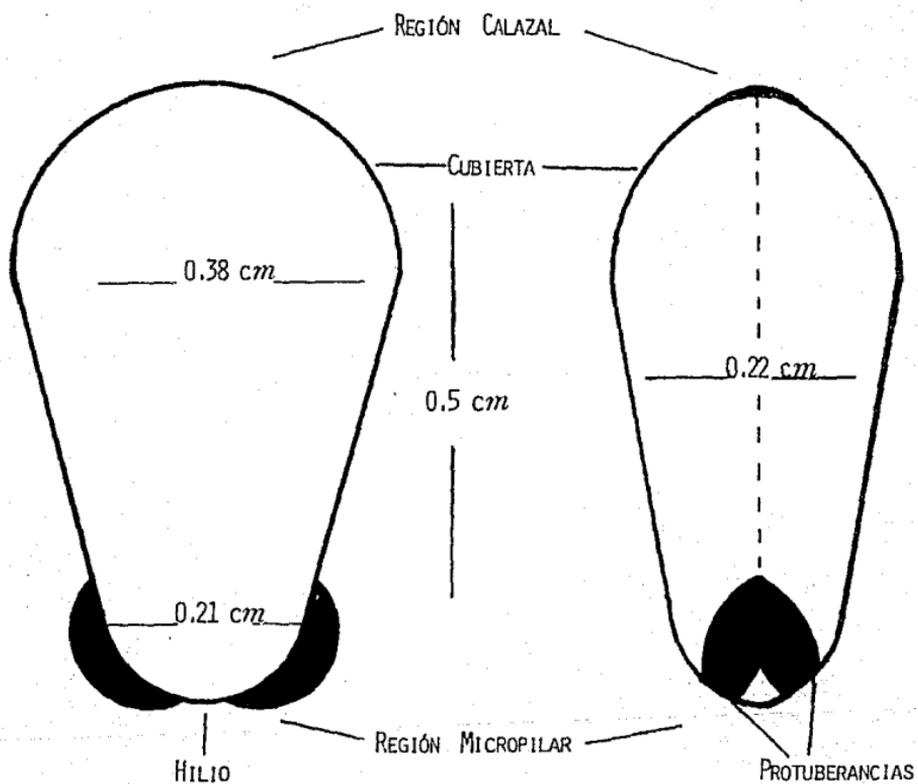
La nucela persistente y abundante está formada por dos tipos celulares y se insinúa hasta el borde micropilar (pico nucelar), está rodeada por una gruesa cutícula que la separa del tegumento interno.

La epidermis nucelar está formada por células rectangulares, con núcleos centrales (Fig. 23); las células adyacentes a la epidermis nucelar, forman 2 - 3 estratos de células más pequeñas que las del resto de la nucela que posee células más grandes de paredes delgadas, núcleos pequeños, poco contenido citoplásmico y pequeños gránulos de almidón, principalmente hacia la región micropilar (Figs. 21 y 22).

La calaza es una región amplia sin ramificaciones del haz vascular. En esta región la cutícula nucelar se interrumpe.

3.4 Saco embrionario.

El saco embrionario octanucleado, heptacelular (ovocélula, 2 sinérgidas, 3 antípodas y 2 núcleos polares), es pequeño en comparación con el tamaño del óvulo, su posición está desplazada hacia el extremo micropilar (Figs. 15, 16 y 17).



ESQUEMA # 1. MEDIDAS PROMEDIO DE LARGO, ANCHO Y GROSOR DE LA SEMILLA MADURA DESHIDRATADA.

3.5 Micrópilo.

El micrópilo esta formado por el tegumento interno, el cual es largo y ligeramente curvo hacia su región terminal (Fig.18).

4. Desarrollo de la semilla.

Para el estudio del desarrollo de la semilla se dividió a ésta en tres regiones: Micropilar (Mi), Central (Ce) y Calazal (Ca) (Esquema # 2). Debido a que se presentan diferencias en el desarrollo de cada una de las regiones en una misma etapa.

4.1 Cubierta seminal.

4.1.1 Testa.

En semillas maduras hidratadas la testa comprende varios estratos celulares que derivan del tegumento externo del óvulo.

Durante su desarrollo presenta diferencias estructurales e histoquímicas en cada una de las regiones (Mi, Ce, y Ca) de la semilla, en una misma etapa de desarrollo.

El grosor promedio de la testa en semillas maduras deshidratadas es de 0.286 mm en la región Ce. y Ca. y de 0.407 mm en la región Mi. , generalmente es de color negro ó castaño oscuro.

4.1.2 Exotesta.

Una vez que el óvulo ha sido fecundado, se inician los cambios en la epidermis uniestratificada del óvulo.

A lo largo del desarrollo de la exotesta se pudieron delimitar VIII etapas.

. Etapa I (Ovulo fecundado, endospermo nuclear).

Se observa en la región Ca. y Ce. una epidermis de células rectangulares con núcleo central, abundante contenido citoplásmico y cuyas paredes radiales se comienzan a alargar. Esta epidermis está rodeada por una cutícula (Fig. 19). Reacción positiva al Azul mercúrico de bromotenoil en los núcleos y al Rojo O de aceite en la cutícula. En la región micropilar la epidermis es biestratificada (Fig. 20).

. Etapa II (Proembrión, endospermo nuclear).

Después de la elongación radial de las células epidérmicas, ocurre la primera división periclinal que va desde la región Mi. hacia la Ca., originándose un estrato externo (e) y uno interno (e') (figs. 22 y 23).

. Etapa III (Embrión globular, endospermo nuclear).

El estrato externo (e) sufre la segunda división periclinal originando al estrato intermedio (e''); el estrato interno (e') ya no se vuelve a dividir e inicia la elongación de sus paredes radiales. Nuevamente la segunda división y la elongación de las paredes se lleva a cabo de la región Mi. a la Ca. (Fig. 24).

Es necesario aclarar que en un corte mediano de la semilla, se puede apreciar en la región micropilar el inicio de la segunda división y la elongación de las paredes del estrato (e'), en la región Ce. sólo se observa el estrato (e) y (e') y en la región Ca. aún no ha ocurrido la primera división de la epidermis, por lo

que decimos que en una misma etapa de desarrollo de la semilla se encuentran diferencias estructurales en cada una de sus regiones.

En esta etapa las pruebas histoquímicas revelaron la presencia de pequeños granulos de almidón en los estratos (e), (e'') y (e''') (reacción positiva para lugol), además del inicio del engrosamiento de las paredes laterales del estrato (e) y (e') (reacción positiva para A.P.S.).

. Etapa IV (Embrión globular, endospermo celular).

El estrato externo (e) ya no se divide en la región Ce. y Ca. pero en la región Mi. ocurren aproximadamente 4 ó 5 divisiones periclinales más,, el estrato intermedio (e'') sufre la tercera división periclinal que va desde la región Mi. hacia la Ca. originando al segundo estrato intermedio (e'''), el cual es biestratificado en la región Ce y Ca. y pluriestratificado (8 - 13 estratos) en la región Mi., debido a que las células del estrato (e''') tienen más divisiones periclinales (Figs. 25 y 26).

Las células del estrato interno (e') continúan elongándose radialmente (Esquema # 3 y 4).

De este modo, en esta etapa se termina de formar la exotesta pluriestratificada, la cual está constituida por tres zonas con las siguientes características hasta este momento (Fig. 27):

.. Epidermis (e), presenta células más o menos cúbicas en la región Ca. y Ce y el primer estrato de la región Mi., con paredes delgadas, núcleo parietal, granulos de almidón pequeños y abundantes (reacción positiva para lugol) rodeadas por una

cutícula evidenciada por su reacción positiva en Rojo O de aceite. Las de los estratos de la región Mi. son isodiamétricas.

.. Hipodermis (e'' , e''') biestratificada en la región Ce. y Ca., está formada por células cuyo eje mayor es paralelo a la superficie, con núcleos centrales y paredes delgadas. La hipodermis pluriestratificada en la región Mi. está formada por células isodiamétricas con núcleo central.

Las paredes celulares adyacentes al estrato (e') están un poco engrosadas y reaccionan positivamente a la prueba histoquímica de A.P.S.

.. Capa esclerenquimatosa (e') formada por células de paredes delgadas cuyo eje mayor es perpendicular a la superficie, presentan núcleo evidente y central rodeado por gránulos de almidón pequeños y abundantes, reacción positiva para el reactivo de lugol. El diámetro de las células esclerenquimatosas disminuye en la región micropilar.

La exotesta en este trabajo se considera como una epidermis pluriestratificada.

. Etapa V (Embrión globular "avanzado", endospermo celular).

.. Las células de la epidermis de la región Ca., Ce. y del primer estrato de la región Mi. aumentan su volumen, los granulos de almidón aumentan su tamaño debido a la agrupación de varios de ellos y algunos rodean al núcleo, las paredes radiales principalmente y las laterales se engrosan en la región Mi., Ce., y Ca., las cuales reaccionan positivamente en A.P.S. y $KMnO_4$

(Fig. 28).

.. Las paredes radiales y laterales de las células de la hipodermis se engrosan en la región Ce., Ca. y Mi., siendo más evidente el engrosamiento en esta última región (reacción positiva de las paredes en $KMnO_4$). En esta etapa las células hipodérmicas presentan granulos de almidón de menos diámetro que los de la epidermis (Figs. 28 y 30).

.. Las células esclerenquimatosas son las que sufren los engrosamientos más evidentes de la exotesta. En esta etapa se aprecia el inicio del engrosamiento de las paredes tangenciales adyacentes a la hipodermis en forma de estalactitas. Este engrosamiento es totalmente diferente al que se ha iniciado en las paredes radiales. Los granos de almidón disminuyen en cantidad.

Las pruebas histoquímicas revelan la presencia de polisacáridos insolubles (reacción positiva en A.P.S) y cutina (reacción positiva en Rojo O de aceite) en el engrosamiento de las paredes tangenciales adyacentes a la hipodermis y el inicio del depósito de polisacáridos insolubles, cutina y lignina (reacción positiva en: A.P.S., Cloroyoduro de Zinc, Rojo O de aceite y Fluoroglucina - HCl_2) en las paredes radiales, principalmente en la región Mi., en la región Ce. y Ca. las reacciones aún no fueron concluyentes.

En esta etapa es muy notoria la diferencia en el tamaño y abundancia de los granos de almidón de la epidermis, hipodermis y capa esclerenquimatosa (Fig. 28).

. Etapa VI (Embrión acorazonado, capa de aleurona).

.. Las paredes de la epidermis de la región Ca. y Ce. ya no sufren más engrosamiento y la cantidad de granos de almidón disminuye. Las paredes de las células de la región Mi. continúan engrosándose (Fig. 29).

.. Los granos de almidón de la hipodermis se han degradado completamente. Las paredes de las células de la región Ce. y Ca. ya no sufren más engrosamientos, pero las de la región Mi. continúan engrosándose (Figs. 29 y 30).

.. El depósito diferencial de los compuestos en los engrosamientos de las paredes de las células esclerenquimatosas continúa haciéndose más evidente de la región Mi. hacia la Ca.

El engrosamiento de las paredes tangenciales adyacentes a la hipodermis en forma de estalactitas estructuralmente es similar en la región Mi. y en la región Ce. y Ca. es de manera perpendicular a la superficie y en la región Mi. es paralela a la superficie (Figs. 31 y 32).

.. Etapa VII (Semilla madura hidratada).

.. En esta etapa las células epidérmicas contienen ya sólo algunos gránulos de almidón, principalmente hacia la región Mi. Las células epidérmicas de la región Mi. pluriestratificada han sufrido un engrosamiento de tipo colenquimatoso y han perdido totalmente su contenido celular. Las pruebas histoquímicas indicaron la presencia de laninos (reacción positiva en: $KMnO_4$)

(Figs. 32, 33 y 34)..

.. Las células hipodérmicas de la región Mi. han sufrido un engrosamiento de tipo colenquimatoso y han perdido totalmente su contenido celular. Las pruebas histoquímicas indicaron la presencia de taninos evidenciados por su reacción en $KMnO_4$ en la región Ce., Ca. y principalmente en la Mi (Fig. 32, 33 y 34).

.. El engrosamiento de las células esclerenquimatosas termina, la forma y engrosamiento de estas células permite determinarlas como osteoesclereidas (Fig. 35). En el estrecho lumen citoplásmico de las osteoesclereidas se observa el núcleo en degeneración.

Al medir la longitud de las osteoesclereidas de la región Mi., Ce. y Ca. se conoció la proporción del engrosamiento en forma de estalactitas compuesto por: polisacáridos insolubles (reacción positiva en A.P.S.) y cutina (reacción positiva en Rojo O de aceite), corresponde a una quinta parte de la célula, 0.022 mm en la región Ce. y Ca. y 0.011 mm en la región Mi.

Las cuatro quintas partes restantes de las osteoesclereidas (0.11 mm de largo en la región Ce. y Ca. y 0.044 mm en la región Mi.) están compuestas de abundantes polisacáridos insolubles (reacción positiva en A.P.S.), taninos (reacción positiva en Cloroyoduro de Zinc), cutina (reacción positiva en Rojo O de aceite) y lignina (reacción positiva en Fluoroglucina - HCl_2) (Esquema # 5, Figs. 34 y 36).

. Etapa VIII (Semilla madura deshidratada).

.. En esta etapa ya no hay ningún cambio químico aparente en los estratos de la exotesta, sólo estructurales y debidos a la deshidratación de la semilla.

Las células de la epidermis, hipodermis y osteosclereidas se compactan.

Las células epidérmicas e hipodérmicas de la región Ce. y Ca. se desprenden fácilmente. La hipodermis pluriestratificada de la región Mi. forma dos bordes en cada una de las caras de la semilla. El tamaño de las osteosclereidas de la región Ce. y Ca. es similar y la diferencia con las de la región Mi. se acentúa.

Las pruebas histoquímicas son más intensas en esta etapa para: lignina y taninos principalmente, pero muy probablemente se deba sólo a la compactación celular (Fig. 37).

El grosor de la exotesta en esta etapa es de 0.176 mm en la región Ce. y Ca. y de 0.242 mm en la región Mi.

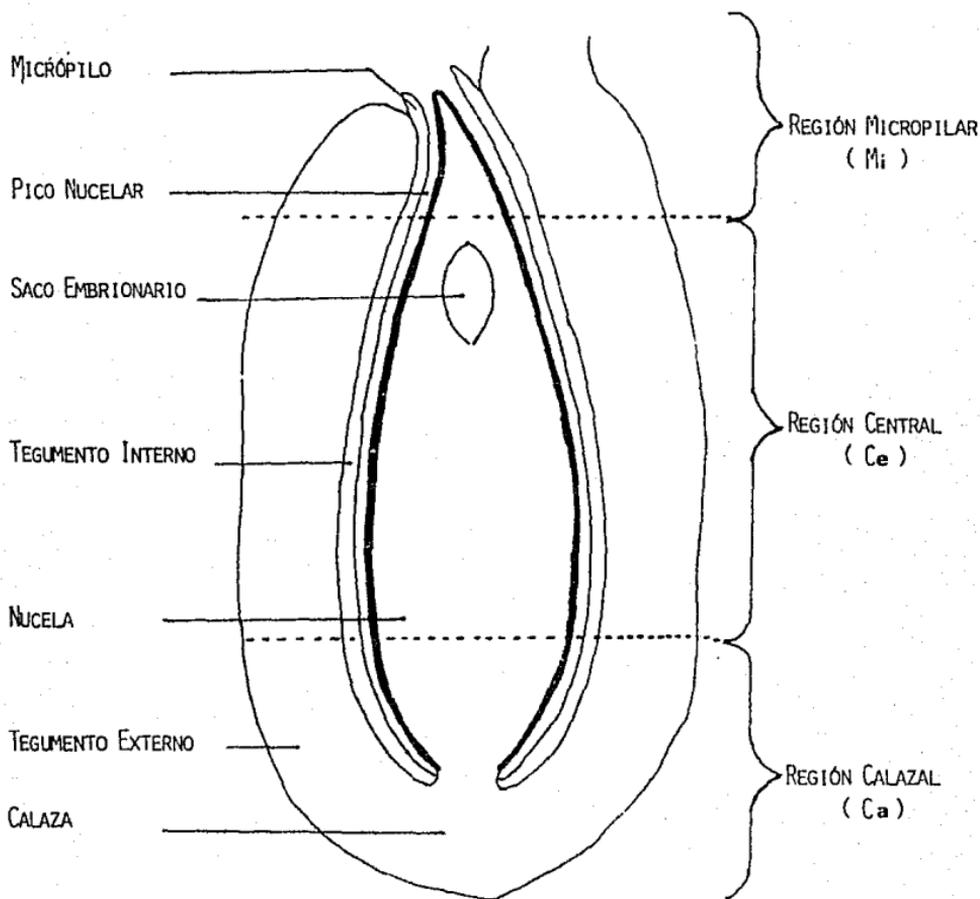
4.1.3. Mesotesta.

En óvulos fecundados las células de la mesotesta son de tipo parenquimatoso, isodiamétricas, con núcleo central, pequeños granos de almidón principalmente en la región Mi. y paredes delgadas. La región Ce. y Ca. presentan de 8 a 9 estratos de células y la Mi. de 12 a 15 estratos. Durante el desarrollo la cantidad de granos de almidón aumenta en los estratos externos exclusiva y principalmente hacia la región Mi. (Fig. 23) hasta el momento en el que el embrión se encuentra en el estadio globular con endospermo celular; a partir de esta etapa las células de la

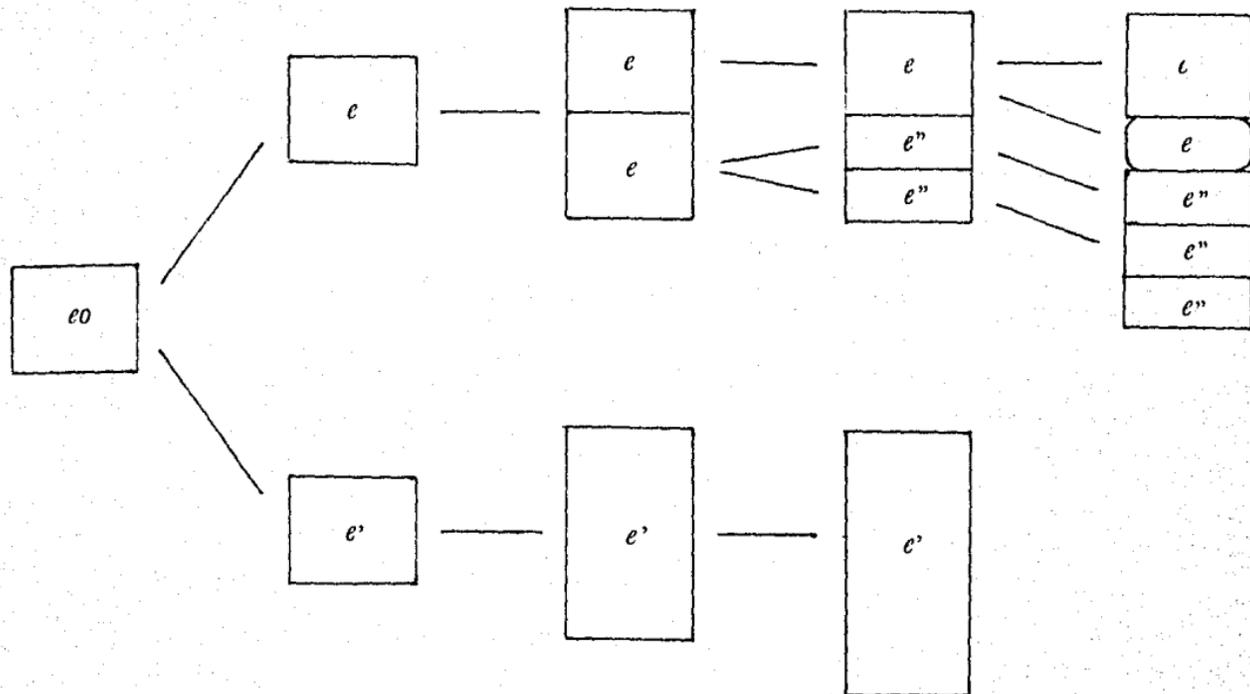
mesotesta empiezan a degradarse por los estratos centrales y la cantidad de almidón disminuye (Fig. 27).

Cuando el embrión se encuentra en el estadio de torpedo avanzado, rodeado por la capa de aleurona, la mesotesta presenta grandes espacios intercelulares y ya no se observa almidón (Figs. 31 y 32).

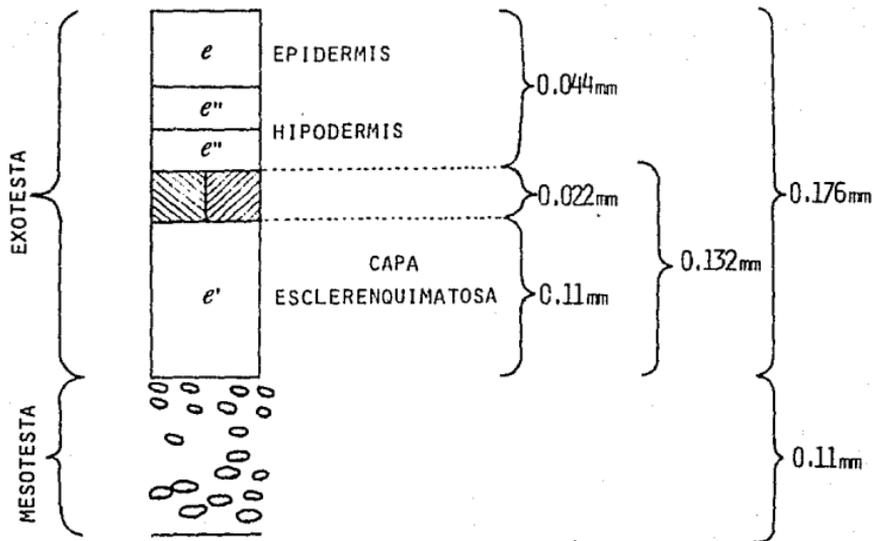
En la semilla madura hidratada la mesotesta es una zona de paredes comprimidas y un poco engrosadas con apariencia de una red de color blanco lechoso y su grosor es de 0.11 mm en la región Ce. y Ca. y de 0.165 mm en la región Mi. (Esquema #5, Figs. 34, 36, 37 y 39).



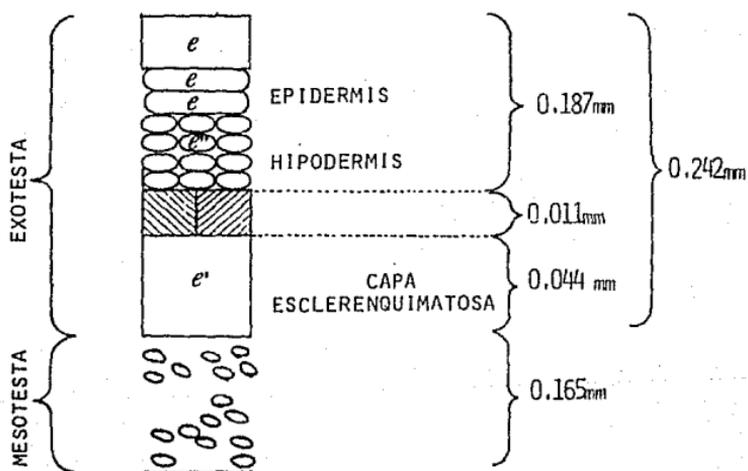
ESQUEMA # 2. CORTE LONGITUDINAL DE ÓVULO EN ANTESIS.



ESQUEMA # 4. SECUENCIA DE LAS DIVISIONES PERICLINALES QUE SUFRE LA EPIDERMIS OVULAR (eo) EN LA REGION MICROPILAR, QUE DAN ORIGEN A LA EPIDERMIS (e), HIPODERMIS (e'') Y CAPA ESCLERENQUIMATOSA (e') DE LA EXOTESTA.



A. REGIÓN CENTRAL Y CALAZAL



B. REGIÓN MICROPILAR

ESQUEMA # 5. MEDIDAS DE LA EXOTESTA Y MESOTESTA A Y B.
SEMILLA MADURA.

4.1.4 Endotesta.

La epidermis interna del tegumento externo o endotesta formada por un estrato de células cúbicas, pequeñas, con mucho citoplasma y núcleo central (Figs. 12 y 13); durante el desarrollo de la semilla su contenido citoplásmico disminuye y finalmente cuando el embrión se encuentra en el estadio globular, rodeado por el endospermo celular se hace totalmente imperceptible (Fig. 27).

4.1.5 Tegmen.

El tegumento interno en el óvulo está formado por dos estratos de células rectangulares con núcleos centrales localizado entre la endotesta y la nucela (Fig. 13).

En óvulos no fecundados, el estrato adyacente a la endotesta ha comenzado a desintegrarse de la región Mi. hacia la Ca. y termina de desintegrarse cuando el cuerpo del embrión es de 8 células aproximadamente (Fig. 12).

Cuando el endospermo nuclear comienza a formarse, el estrato adyacente a la nucela comienza a desintegrarse de la región Mi. hacia la Ca. (Fig. 21)

Las células del tegumento interno que forman al micrópilo son las últimas en degenerar.

Así, los estratos del tegumento interno se encuentran totalmente ausentes cuando el embrión está en el estadio de proembrión (8 células) (Figs. 23 y 25).

Por lo tanto no hay desarrollo del tegmen.

4.2 Nucela.

La fecundación del óvulo es porógama, el tubo polínico es persistente hasta el estadio de proembrión aproximadamente. La entrada del tubo polínico rompe algunas de las células que forman el pico nucelar (Fig. 18).

El tejido nucelar rodeado por una cutícula (reacción positiva en Rojo O de aceite) (Fig. 23) y cuyas células contienen pequeños gránulos de almidón, principalmente hacia la región micropilar, se va desintegrando a lo largo del desarrollo por su parte media conforme va aumentando la cantidad de endospermo (Fig.42). Cuando en el endospermo se inicia la formación de paredes celulares en la región micropilar, ya no se observa almidón en el tejido nucelar (Fig.38).

En la semilla madura se encuentran 1 - 3 estratos de paredes celulares de color verde y forman una cubierta en forma de red al rededor del embrión y completamente adherida a él, el pigmento que contiene es soluble en alcohol absoluto y acetato de etilo (Figs. 46 y 47).

La composición química de esta cubierta revelada por las pruebas histoquímicas es de polisacáridos insolubles (reacción positiva en A.P.S. y Cloroyoduro de Zinc) y cutina (reacción positiva en Rojo O de aceite).

4.3 Endospermo.

Después de la fertilización, el núcleo primario del endospermo producto de la triple fusión, se divide mitóticamente y

produce núcleos libres en el citoplasma, formandose así el endospermo nuclear en forma de cuentas de rosario, el crecimiento del endospermo se inicia de la región micropilar del saco embrionario hacia la región Ca. El endospermo nuclear rodea al

cigoto; las sinérgidas y antípodas han iniciado su degeneración (Fig. 40).

Posteriormente el endospermo nuclear rodea al proembrión que aumenta de tamaño conforme aumenta el número de sus células (embrión globular) (Fig. 42). Gradualmente la condición nuclear del endospermo se reemplaza por una estructura celular; la formación de las paredes celulares del endospermo se inicia de la región Mi. a la Ca. (Fig. 43).

La expansión del endospermo es rápida y dirigida hacia la calaza. El tejido de la nucela es rápidamente desintegrado en cualquier punto en donde el endospermo hace contacto con él, de esta manera, la cantidad de tejido nucelar disminuye al aumentar la cantidad de endospermo.

El endospermo celular contiene pequeños gránulos de almidón.

La degradación del endospermo también es muy rápida, de tal manera que cuando el embrión se encuentra en estado de corazón ya sólo se observa la capa de aleurona constituida por un estrato de células rectangulares (Fig. 45).

Las pruebas histoquímicas revelaron la presencia de proteínas en los núcleos y nucleolos del endospermo nuclear y los de las células de la capa de aleurona (reacción positiva en : azul

mercúrico de bromofenol).

Se detectó la presencia de polisacáridos insolubles (reacción positiva en A.P.S.) y cutina (reacción positiva en Rojo O de aceite) en las paredes del endospermo celular y de la capa de aleurona (Figs. 45 y 46), siendo más intensa la reacción en el último tejido mencionado en la semilla madura hidratada y deshidratada.

4.4 Embrión.

En el saco embrionario de óvulos de flores en anthesis se observa el aparato del huevo formado por la ovocélula con un núcleo muy grande y dos sinérgidas (Figs. 15 y 16).

El desarrollo del embrión se inicia después de que el endospermo nuclear se ha formado y se ha desintegrado parte del tejido nucelar.

La primera división del cigoto es transversal, dando por resultado un proembrión de dos células, en este momento las sinérgidas y antípodas ya han iniciado su degeneración (Fig. 41). La célula apical y la basal del proembrión se dividen longitudinalmente formando un proembrión de 4 células, no hay formación de suspensor; así, el cuerpo del embrión es de tipo Asterad, en donde la célula apical y basal contribuyen en el desarrollo del embrión (Maheshwari, 1950).

Las divisiones prosiguen, las células del embrión incrementan y adoptan una forma esférica (etapa globular) (Figs. 42 y 43), en este momento las antípodas ya están totalmente desintegradas.

Posteriormente se insinúa la forma acorazonada del embrión en semillas cortadas en plano transmediano (Fig.44), los cotiledones inician su desarrollo y tiempo después se observa el desarrollo del eje radícula hipocótilo, el epicótilo esta formado por un sólo lóbulo.

En semillas maduras hidratadas el embrión está totalmente desarrollado y ocupa la mayor parte del volumen de la semilla.

Las pruebas histoquímicas revelaron que las células del embrión presentan proteínas a través de todo su desarrollo siendo más intensa la reacción entre más avanzada es la etapa de desarrollo (reacción positiva en: azul mercurico de bromofenol). La presencia de granos de almidón se detectó a partir del estadio de torpedo avanzado y, a diferencia de las proteínas, éste va disminuyendo conforme avanza el desarrollo.

A partir del estadio de torpedo avanzado se detectó la presencia de aceites (reacción positiva en: Rojo O de aceite), los cuales aumentan al avanzar el desarrollo.

En la semilla madura deshidratada, las células de los cotiledones con paredes engrosadas presentan gran cantidad de granos de proteína (reacción positiva en: Azul mercurico de bromofenol) (Figs. 48 y 49), abundante aceite (reacción positiva en: rojo O de aceite) y escasos granos de almidón (reacción positiva en: reactivo de lugol). El embrión se encuentra rodeado por una capa de aleurona y entre los cotiledones se encuentran remanentes endospermicos (Figs. 45, 46 y 47).

L A M I N A S

LAMINA I

Fig. 1 Inflorescencias femeninas en etapa de antesis.

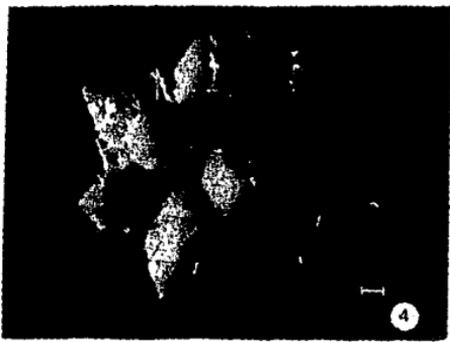
Barra = 5 mm

Fig. 2 Flor femenina (f) y masculina (m).

Fig. 3 Infrutescencias en diferentes etapas de desarrollo.

Barra = 3 mm

Fig. 4 Infrutescencia madura hidratada. Barra = 5 mm



LAMINA II

Fig. 5 Frutos maduros deshidratados. Barra = 5 mm

Fig. 6 Tricomas del fruto. MEB. 2424 X.

Co. Cónicos

EA. Espinas Acerradas



LAMINA III

Fig. 7 Semillas maduras. Vista frontal variación en tamaños y colores.

Fig. 8 Semillas maduras. Vista lateral.

RCa. Región calazal

RMi. Región micropilar

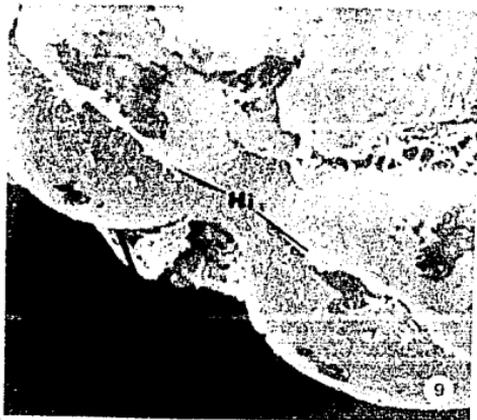
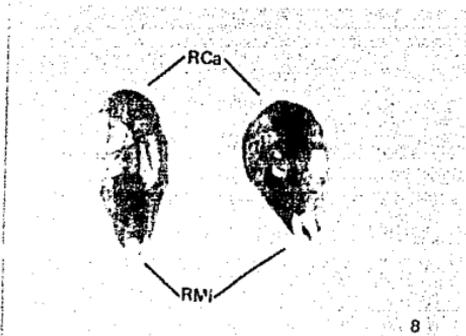
Fig. 9 Región hilar de la semilla madura. MEB. 18720 X.

Hl. Hilfo

Pr. Protuberancias

Fig. 10 Embrión maduro rodeado por una cubierta verde.

CV. Cubierta verde.



LAMINA IV

Fig. 11 Corte longitudinal de óvulo en antesis.

Se. Saco embrionario

Ca. Calaza

Mi. Micrópilo

Nu. Nucela

TE. Tegumento externo

PN. Píco nucelar

TI. Tegumento interno

Contraste de fases. 400X

Fig. 12 Corte longitudinal de óvulo en antesis. Región Micropilar.

TE. Tegumento externo.

EA. Epidermis externa.

PA. Parénquima.

EI. Epidermis interna

TI. Tegumento interno (desintegrándose)

Contraste de fases. 81.92 X

Fig. 13 Corte longitudinal de óvulo en antesis. Región Central.

TE. Tegumento externo

EI. Epidermis interna

EA. Epidermis externa

TI. Tegumento interno

PA. Parénquima

Contraste de fases. 81.92 X

Fig. 14 Corte longitudinal de óvulo en antesis. Entrada y salida de haz vascular.

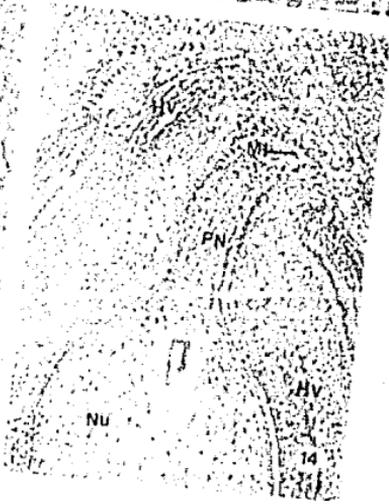
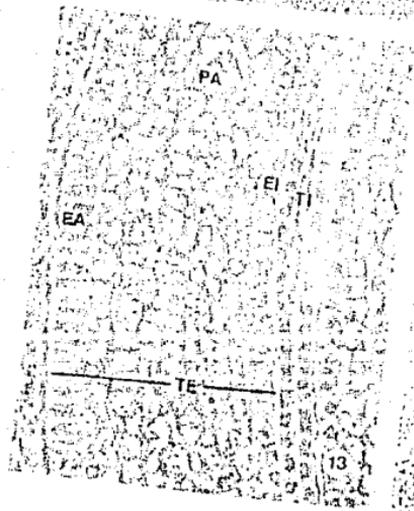
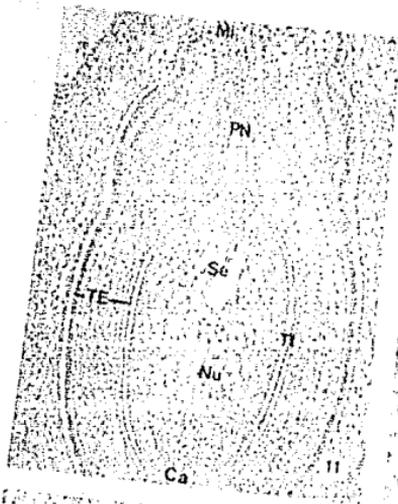
HV. Haz vascular

Mi. Micrópilo

Nu. Nucela

PN. Píco nucelar

Contraste de fases. 400 X



LAMINA V

Fig. 15 Corte longitudinal de óvulo en antesis.

Se. Saco embrionario

NP. Núcleos polares

OC. Ovocélula

Contraste de fases. 204.8 X

Fig. 16 Corte longitudinal de óvulo en antesis.

Se. Saco embrionario

At. Antípodas

Si. Sinérgidas

Nu. Nucela

Contraste de fases. 128 X

Fig. 17 Corte longitudinal de óvulo en antesis.

Se. Saco embrionario

Si. Sinérgidas

Nu. Nucela

Contraste de fases. 128 X

Fig. 18 Corte longitudinal de óvulo fecundado. Micrópilo formado por el tegumento interno.

TE. Tegumento externo

TI. Tegumento interno

Mi. Micrópilo

RT. Restos de tubo polínico

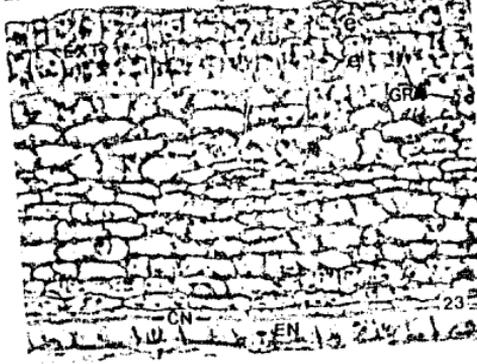
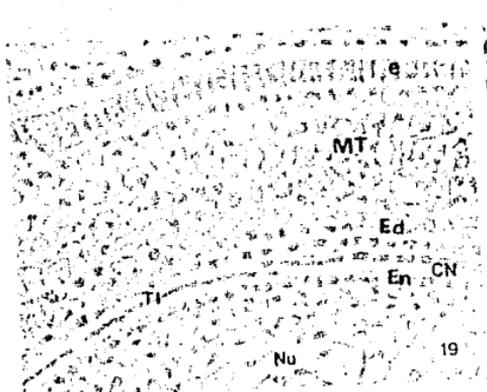
Nu. Nucela

Contraste de fases. 84 X



LAMINA VI

- Fig. 19 Corte longitudinal de testa, semilla joven. Región Central.
 e. Células epidérmicas elongadas radialmente
 MT. Mesotesta EN. Epidermis nucelar
 Ed. Endotesta CN. Cutícula nucelar
 TI. Tegumento interno en degeneración Nu. Nucela
 Contraste de fases. 81.92 X
- Fig. 20 Corte longitudinal de testa, semilla joven. Región micropilar (Mi) y central (Ce).
 e. Epidermis biestratificada en división y uniestratificada.
 MT. Mesotesta Nu. Nucela
 Contraste de fases. 81.92 X
- Fig. 21 Corte longitudinal de semilla joven. Región Central.
 TI. Tegumento interno, degeneración de sus estratos.
 Nu. Nucela
 Contraste de fases. 81.92 X
- Fig. 22 Corte longitudinal, semilla joven. Región micropilar y central. Primera división periclinal de la exotesta de la región Mi. hacia la Ca.
 e. Primer estrato de la exotesta Nu. Nucela
 e'. Estrato derivado de (e). MT. Mesotesta
 Contraste de fases. 81.92 X
- Fig. 23 Corte longitudinal, semilla joven. Región Ce. Histoquímica A.P.S. Exotesta biestratificada (e, e').
 EXT. Exotesta CN. Cutícula nucelar
 MT. Mesotesta EN. Epidermis nucelar
 GRA. Granos de almidón. Contraste de fases. 100X.
- Fig. 24 Corte longitudinal, semilla joven. Región Mi. y Ce. Exotesta triestratificada (e, e', e') en la región Mi. y biestratificada en la región Ce. (e, e').
 MT. Mesotesta Nu. Nucela
 Contraste de fases. 81.92 X



LAMINA VII

Fig. 25 Corte longitudinal de testa. Región Ce. y Calazal (Ca).
Exotesta con el estrato (e) uniestratificado en la región
Ce. y Ca.; (e'') biestratificado en la región Ce. y
uniestratificado en la región Ca; (e') con células
elongándose de la región Ce. hacia la Ca.

MT. Mesotesta

ESP. Espacio que deja la degeneración del tegumento
interno.

Contraste de fases. 81.92 X

Fig. 26 Corte longitudinal de testa. Región Ce. y Mi.
Exotesta con el estrato (e) uniestratificado en la reg. Ce
y triestratificado en la reg. Mi; (e'') biestratificado en
la reg. Ce. y pluriestratificado en la reg. Mi; (e')
uniestratificado con células elongadas radialmente.

MT. Mesotesta

Nu. Nucela

Contraste de fases. 81.92 X

Fig. 27 Corte longitudinal de testa. Región Ce.

Exotesta mostrando sus tres zonas:

e. Epidermis

MT. Mesotesta, con sus estratos

e''. Hipodermis

centrales en vías de degradación

e'. Capa esclerenquimatosa

Contraste de fases. 400X

Fig. 28 Corte longitudinal de testa. Región Ca. Histoquímica
A.P.S. Granos de almidón en las tres zonas de la
exotesta, mostrándose la diferencia en el tamaño de los
granos de almidón entre las zonas.

GRA. Granos de almidón

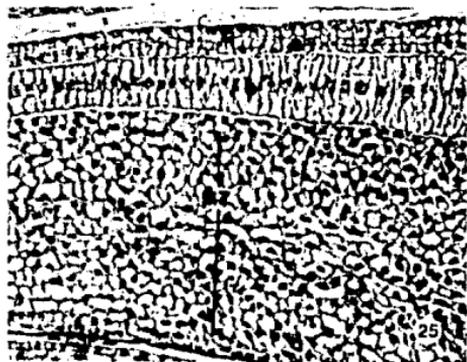
e. Epidermis

e''. Hipodermis

e'. Capa esclerenquimatosa

MT. Mesotesta con granos de almidón en sus estratos
externos.

Contraste de fases. 400-X



LAMINA VIII

Fig. 29 Corte longitudinal de testa. Región Ce. Histoquímica A.P.S
Los granos de almidón (GRA) disminuyen.

e. Epidermis e'. Capa esclerenquimatosa

e''. Hipodermis MT. Mesotesta

Campo claro. 51.20 X

Fig. 30 Corte transmediano de testa. Región Ce.

Engrosamiento de las paredes radiales y tangenciales de la epidermis (e) de la exotesta y el inicio en las paredes tangenciales de la capa esclerenquimatosa (e').

e''. Hipodermis

MT. Mesotesta con mayor cantidad de espacios intercelulares.

Contraste de fases. 51.20 X

Fig. 31 Corte transmediano de testa. Región Ca. Histoquímica Azul
mercúrico de bromofenol.

e. Epidermis con paredes radiales y tangenciales engrosadas y granos de almidón (GRA)

e''. Células hipodérmicas con paredes engrosadas.

e'. Células esclerenquimatosas con engrosamiento en forma de estalactitas en las paredes tangenciales.

MT. Mesotesta con abundantes espacios intercelulares.

Contraste de fases. 400 X

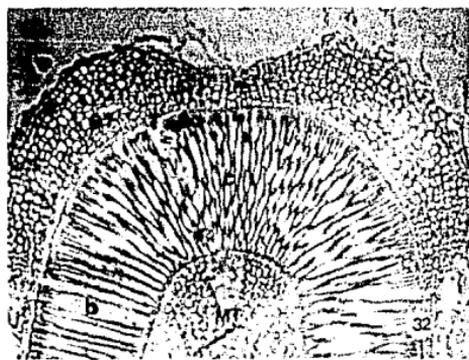
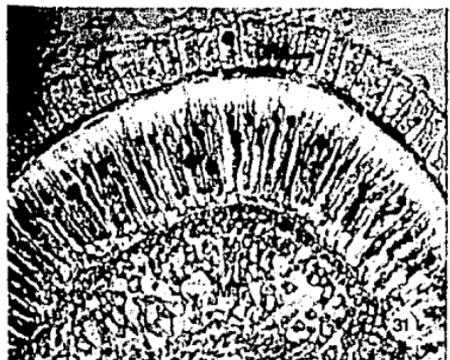
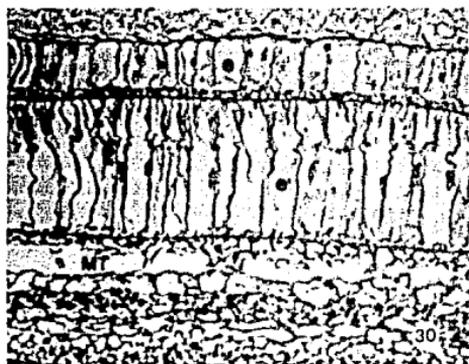
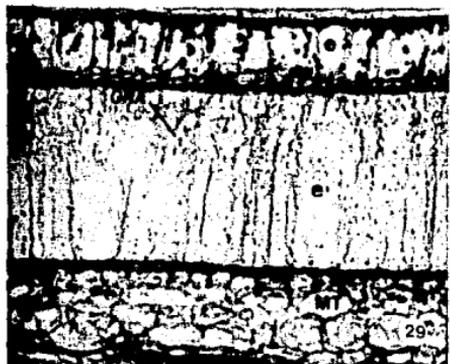
Fig. 32 Corte transmediano de testa. Región Mi.

Engrosamiento de tipo colenquimatoso de la epidermis (e) e hipodermis (e'') pluriestratificadas.

Tres tipos de engrosamientos de las células esclerenquimatosas: (a) en forma de estalactitas, (b) perpendicular a la superficie y (c) paralelo a la superficie.

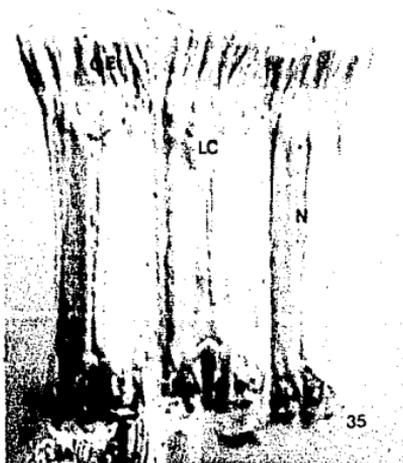
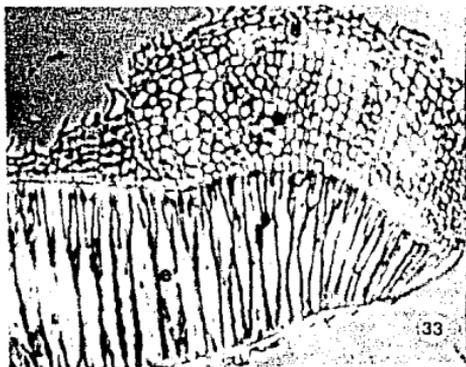
MT. Mesotesta.

Contraste de fases. 400 X



LAMINA IX

- Fig. 33 Corte transmediano de testis. Región Mi.
Engrosamiento de tipo colenquimatoso de la epidermis (e) e
hipodermis (e'') pluriestratificadas. Capa
esclerenquimatosa totalmente engrosada (e'),
Contraste de fases. 400 X
- Fig. 34 Corte transmediano de testis. Región Ce. y Mi. Histoquímica
A.P.S.
e. Epidermis
e''. Hipodermis
e'. Capa esclerenquimatosa, diferencia en el tamaño de las
células de la región Mi. y las de la región Ce.
MT. Mesotesta
Campo claro. 400 X
- Fig. 35 Disociado de testis.
OE. Osteoesclerida
LC. Lúmen celular
N. Núcleo en degeneración
Luz tangencial. 100 X
- Fig. 36 Corte transmediano hecho a mano de semilla madura
deshidratada. Región Ce. Histoquímica de Fluoroglucina -
HCl mostrando reacción positiva (R+) sólo en las cuatro
quintas partes de las células esclerenquimatosas.
e. Epidermis e'. Capa esclerenquimatosa
e''. Hipodermis MT. Mesotesta
Campo claro. 25.20 X



LAMINA X

Fig. 37 Corte longitudinal de testa. Semilla madura deshidratada.

Región Ce.

e. Epidermis

e'. Hipodermis

e''. Capa esclerenquimatosa

MT. Mesotesta

Contraste de fases. 400 X

Fig. 38 Corte transmediano de testa. Región Ca. Histoquímica Rojo

O de aceite.

MT. Mesotesta

CN. Cutícula nucelar

Nu. Nucela degradada que dará origen a la cubierta verde.

Contraste de fases. 64 X

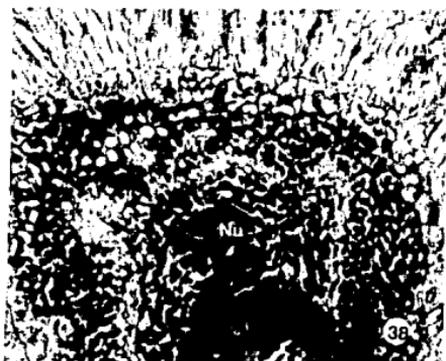
Fig. 39 Parte de la mesotesta. Semilla madura deshidratada. M.E.B.

EI. Engrosamientos intercelulares

ES. Espacios intercelulares

CV. Fragmentos de la cubierta verde.

M.E.B. 4824



LAMINA XI

Fig. 40 Corte longitudinal de semilla joven.

Se. Saco embrionario
At. Antípodas
EN. Endospermo nuclear

Ci. Cigoto

Nu. Nucela

Contraste de fases. 128 X

Fig. 41 Corte longitudinal de semilla joven.

Primera división del cigoto.

Ca. Célula apical Se. Saco embrionario

Cb. Célula basal Nu. Nucela

EN. Endospermo nuclear

Contraste de fases. 128 X

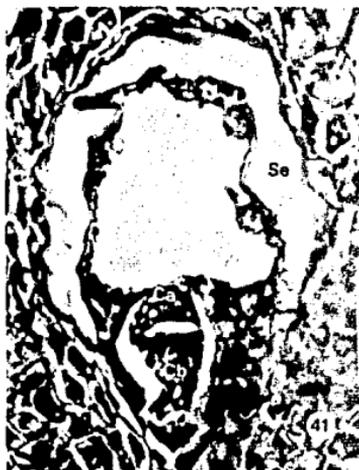
Fig. 42 Corte longitudinal de semilla joven.

Nu. Nucela

EN. Endospermo nuclear

Ce. Cuerpo del embrión

Contraste de fases. 128 X





LAMINA XIII

Fig. 47 Corte transmediano de embrión maduro. Histoquímica A.P.S

Ma. Meristemo apical

Co. Cotiledón

CV. Cubierta verde

RE. Restos de endospermo

Campo claro. 25.20 X

Fig. 48 Corte longitudinal de embrión maduro. Histoquímica Azul

mercúrico de bromofenol.

CP. Cuerpos proteícos

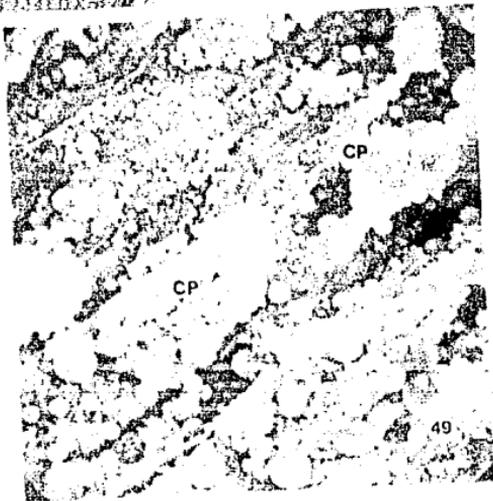
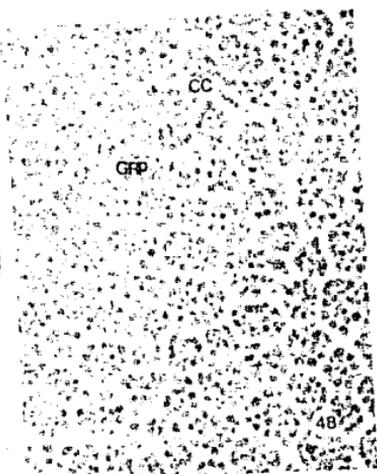
C.C. Celulas cotiledonarias

Campo claro. 160 X

Fig. 49 Contenido de las células cotiledonarias. M.E.B.

CP. Cuerpos proteícos.

M.E.B. 18744 X



V DISCUSION

Conocer la ontogenia de los tejidos que componen a una semilla permite interpretar correctamente su estructura y probable fisiología. Algunos autores sólo estudian la estructura de la semilla madura y ésto los conduce a errores de interpretación.

Al seguir las distintas fases del desarrollo de la semilla de *Sicyos deppet* encontramos que el único óvulo en la etapa de antesis es anátropo, bitégmico, crasinucelado y con placentación parietal, al igual que en otros géneros estudiados de la familia Cucurbitaceae (Kirwood, 1905; Singh, B. 1953 y Corner, 1976). Como ha sido descrito por Kirwood (1905) y Singh, B. (1953), el óvulo del género *Sicyos* tiene una posición pendulada con el micrópilo formado por el tegumento interno dirigido hacia el estigma, saco embrionario pequeño heptacelular y desplazado hacia la región micropilar; para *S. deppet* además, el óvulo es sésil y el micrópilo es largo y ligeramente curvo hacia su región terminal, situada hacia la región micropilar.

El número de carpelos y lóculos que forman el ovario en los distintos géneros de la familia, es variable (Kirwood, 1905 y Puri, 1954). *S. deppet* es tricarpelar y unilocular.

El haz vascular en el óvulo de todos los miembros de la familia, entra a través del tegumento externo sin ramificarse, excepto en *Cyclanthera explosans* que se ramifica en las capas internas del tegumento externo (Singh, 1953). En *S. deppet* el haz

vascular no ramificado penetra por la región hilar y se desplaza por el tegumento externo por el parénquima, recorre la rafe llega a la calaza y continúa por la antirrafe casi hasta el micrópilo.

De acuerdo con Puri (1954) y Kirwood (1905) en la tribu Sicyoideae se evidencian algunas de las tendencias evolutivas de la familia como son: la reducción en el número de carpelos de 5 a 3, observables sólo a nivel del estigma; reducción en el número de óvulos de muchos a uno; fusión de los haces vasculares de 5 a 1 a nivel del funículo y el cambio de placentación de lateral a parietal. Todas estas tendencias son observables en *Sicyos deppei*.

El tegumento externo del óvulo tiene un grosor variado en los géneros estudiados por Singh, (1953) y Singh y Dathan, (1974) siendo de 6 a 8 estratos en *Bryonia dioica*, *Cyclanthera explodens*, *Cucumis melo* y *Legenaria vulgaris*; de 7 a 8 en *Corallocarpus conocarpus*, *C. boehmi* y *C. epigaeus*; de 8 a 10 estratos en *Cucurbita pepo*, *Echballium elaterium*, *Luffa cylindrica* y *Trichosanthes anguina*, aumentando el número de estratos celulares de 15 a 20 en la región del haz vascular, siendo todas las células más o menos iguales excepto las de la epidermis externa que son ligeramente más grandes.

En *Sicyos deppei* el tegumento externo esta formado por una epidermis uniestratificada en la región calazal y central y biestratificada en la región micropilar, con células cuyo eje mayor es paralelo a la superficie, parénquima compacto formado por 8 a 9 estratos de células isodiamétricas y cuyo número de estratos aumenta de 12 a 15 en la región micropilar, la epidermis interna

por células cúbicas y pequeñas.

El número de estratos del tegumento interno en los géneros estudiados en la familia es muy variable (2 a 10 estratos) y desaparece pronto (Kirwood, 1905; Singh, 1953; Singh, 1965). El tegumento interno de *Sicyos deppoi* es de dos estratos de células cuyo eje mayor es paralelo a la superficie.

La descripción de la nucela hecha por Singh (1953) no concuerda con la observada en *S. deppoi*; Singh menciona que el tejido nucelar es de células alargadas rodeadas por una epidemis de células isodiamétricas. En *S. deppoi* la epidermis nucelar está formada por células rectangulares y el tejido nucelar por dos tipos de células, las células adyacentes a la epidermis nucelar forman de 2 a 3 estratos de células más pequeñas que las del resto de la nucela que posee células más grandes de paredes delgadas, núcleos pequeños, poco contenido citoplasmico y pequeños granos de almidón, además de estar rodeada por una gruesa cutícula.

La fecundación del óvulo de *S. deppoi* es porógama, los remanentes del tubo polínico son persistentes en el micropilo hasta la etapa de proembrión aproximadamente. Esto concuerda con lo observado por Kirwood (1905) y Singh (1962), en donde el tiempo de permanencia del tubo polínico es variable dependiendo del género en cuestión.

El desarrollo de la cubierta seminal de *S. deppoi* está en completa conformidad con el de otras cucurbitáceas (Singh, 1953; Singh, 1965; Singh, y Gathan, 1974; Orea y Engleman, 1983) en donde, poco después de la fertilización, ocurre la

elongación radial de la epidermis externa del tegumento externo y sufre la primera división periclinal dando origen a los estratos (e) y (e'); el estrato interno (e') ya no se vuelve a dividir. Más tarde como resultado de la segunda división periclinal se forma la tercer capa básica de la exotesta (e, e'' y e'). Estas observaciones del plano de división y secuencia de desarrollo confirman lo descrito por Singh (1953) para la especie *Sicyos angulatus*. Sin embargo, Singh menciona que las divisiones comienzan primero en la región micropilar, luego en la calazal y finalmente hacia la parte lateral o central. Las observaciones realizadas en este trabajo no concuerdan con lo anterior, llevándose a cabo las divisiones en *S. deppoi* primero en la región micropilar, luego en la central y finalmente en la calazal. Cabe aclarar que los diferentes autores que han estudiado el desarrollo de la cubierta seminal en Cucurbitaceae nunca han mencionado desde dónde y hasta dónde consideran la región calazal, central y micropilar.

Kratzer (1918, citado por Singh, 1953) menciona que la capa (e) no sufre más divisiones y forma una epidermis permanente; sin embargo, Singh (1953) observó en *Echinocystis wrightii* y *Sicyos angulatus* que el estrato (e) sufre más de dos divisiones periclinales formando un tejido ancho y menciona que las divisiones periclinales de la capa (e) y (e') contribuyen en la formación de la hipodermis de la semilla. En *Sicyos deppoi* la epidermis de la exotesta es monoestratificada en la región calazal y central y pluriestratificada en la región micropilar a

consecuencia de que en esta última región se llevan a cabo más divisiones periclinales. Al igual que en *S. angulatus*, *S. deppoi* también presenta dos tipos de células en la epidermis unas son cúbicas con paredes ligeramente engrosadas en la región calazal y central, y otras son pequeñas e isodiamétricas con paredes muy engrosadas en la región micropilar.

La hipodermis (e'') de *S. deppoi* es biestratificada en la región calazal y central, y pluriestratificada en la región micropilar; también presenta dos tipos de células, unas son rectangulares con paredes ligeramente engrosadas en la región calazal y central, y otras son isodiamétricas con paredes engrosadas en la región micropilar. Esta descripción difiere con la hecha para *S. angulatus* (Singh, 1953) ya que en esta especie la hipodermis está formada sólo por un estrato de células en la región calazal y central y en la región micropilar hay un gran número de estratos.

Singh, (1953) considera que la hipodermis de la semilla comprende las células situadas entre el estrato epidérmico y la capa (e'), por lo que los estratos derivados de la división de (e) en la región micropilar en *S. deppoi* formaría parte de la hipodermis y no una epidermis pluriestratificada.

La capa esclerenquimatosa (e') formada por la primera división periclinal de la exotesta no se vuelve a dividir en *S. deppoi*; Kratzer considera que las células de este tejido se dividen periclinamente a veces, especialmente en *Benthamia*, *Lagenaria*, *Cucurbita*, *Trichosanthes*, *Orea* y Engelman (1983)

reportan más divisiones de (e!) en *Cochlospermum edule*.

Las células de la capa esclerenquimatosa son de interés en la exotesta de *S. deppoi*, debido al particular desarrollo de su engrosamiento: primero ocurre la elongación radial de las células, de la región micropilar hacia la calazal, posteriormente se inicia el engrosamiento de las paredes tangenciales de las células en forma de estalactitas; una vez que ha finalizado este engrosamiento a lo largo de toda la semilla, se inicia el engrosamiento de las paredes radiales de las células esclerequimatosas. Es importante señalar que el desarrollo del embrión está totalmente relacionado con el engrosamiento de la exotesta, ya que hasta el momento en el que termina el engrosamiento de las paredes en forma de estalactitas, el embrión comienza el desarrollo de los cotiledones, con un aumento rápido de tamaño. El tipo de engrosamiento de las paredes radiales de las células esclerequimatosas, difiere en las células de la región calazal, central y micropilar, siendo perpendicular a la superficie en la región calazal y central, y paralelo a la superficie en la región micropilar.

Ninguno de los autores antes mencionados describe en forma detallada el desarrollo del engrosamiento de las células esclerenquimatosas, por lo que no es posible hacer comparaciones, en este aspecto. Lo único que mencionan es que el tamaño, forma y grosor de las esclereidas muestra variaciones entre los géneros y especies estudiadas. Singh y Dathan (1974) describen en *Corallocarpus boehmi* una capa esclerenquimatosa compuesta de

astroesclereidas.

Para Singh, (1953) y Singh y Dathan (1974) los engrosamientos de las paredes de la epidermis (e), hipodermis (e'') y capa esclerenquimatosa (e') son de lignina. Las pruebas histoquímicas realizadas en este trabajo para la exotesta de *S. deppoi* mostraron:

- La presencia de granos de almidón a partir de la segunda división periclinal en los estratos (e), (e'') y (e'), los cuales aumentan de cantidad al avanzar el desarrollo, para después en la semilla madura sólo encontrarse en la epidermis (e). La acumulación observada de almidón en la exotesta (epidermis) apoya la conclusión de Longo, (1907, en Orea y Engleman, 1983) de que la función de la testa es la de almacenamiento de nutrientes.

- En la epidermis (e) e hipodermis (e''), de la región calazal y central, el ligero engrosamiento de las paredes radiales es de polisacáridos insolubles no de lignina. En la hipodermis pluriestratificada, de la región micropilar, se detectaron taninos, en la semilla madura deshidratada.

Singh, (1953) menciona que las células de la hipodermis tienen un poco de contenido obscuro y que en ocasiones las células pueden ser de tipo esclerenquimatoso, lo cual probablemente esté relacionado con la presencia de taninos observados en este trabajo.

El origen de las protuberancias en forma de labios formadas por la hipodermis pluriestratificada en la región micropilar, no ha sido descrito por ninguno de los autores mencionados, Hardy (1976) sólo las menciona en *Luffa cylindrica* pero no describe el tipo de

tejido del que están formadas. Las células de la hipodermis pluriestratificada tienen un engrosamiento de tipo colenquimatoso.

- La depositación diferencial en las células de la capa esclerenquimatosa, fue claramente evidenciada por las pruebas histoquímicas, los engrosamientos de las paredes tangenciales en forma de estalactitas de las osteoesclereidas están compuestos de polisacáridos insolubles, cutina y/o suberina y los engrosamientos de las paredes radiales mostraron una composición más compleja formada por abundantes polisacáridos insolubles, taninos, cutina y lignina.

En la familia Cucurbitaceae la fuerte lignificación de esta capa en semillas maduras es muy característica (Singh, 1953). Así, de acuerdo a Longo (1907) y Orea y Engleman (1983) la testa tiene actividad en el almacenamiento de nutrientes y su función protectora del embrión se enfatiza al existir compuestos como la lignina y taninos depositados en ella.

En algunas semillas impermeables al agua - Convolvulaceae, Fabaceae, Malvaceae y Rhamnaceae (Rolston, 1978) - se encuentra una o dos líneas claras en las células esclerenquimatosas; en las Cucurbitaceae no se ha registrado, en *Sicyos deppii* tampoco se observó una línea clara como tal, pero sí una evidente composición diferencial de los engrosamientos en las osteoesclereidas de la capa esclerenquimatosa.

Coe y Martín (1920, en Rolston, 1978), consideran que la línea clara es la barrera de impermeabilidad, mientras que otros autores consideran a toda la capa esclerenquimatosa la barrera de

impermeabilidad (Raleigh, 1930); más aún, hay autores que dividen a las macroesclereidas en dos partes: la parte superior que está situada por arriba de la línea clara y la parte basal, aquella que se encuentra situada por debajo de la línea clara. Spring (1963, 1972) y Lute (1928) consideran que es la parte superior compuesta principalmente por suberina la que impone la impermeabilidad, Ballard (1973) considera que es la parte basal compuesta principalmente por lignina la que impone la impermeabilidad.

La naturaleza química de las macroesclereidas ha sido determinada por varios autores y se han encontrado: sustancias pécticas (Coe y Marti, 1920; Raleigh, 1930), lignina (Reeves y Valle, 1932; Winter, 1960; Mckee et al. 1977) y suberina (Hamly, 1932; Aikten, 1939; Scott et. al., 1962).

Las observaciones realizadas en este trabajo, sugieren que muy probablemente la impermeabilidad de la semilla se inicie cuando ocurre los engrosamientos en forma de estalactitas de las paredes tangenciales; la relación observada entre el desarrollo del embrión y éste hecho podría ser un argumento más para nuestra suposición.

Se reporta una relación entre el color de la semilla y la impermeabilidad al agua (Stewart, 1926, en Rolston, 1978). La presencia de taninos esta relacionada muy probablemente con lo mencionado por Stewart. En las semillas maduras de *Sicyos deppoi* hay variabilidad en el color, siendo la mayoría negras, castaño oscuro o claras.

De esta manera, la impermeabilidad de *S. deppoi* parece estar impuesta por varias de las cubiertas de la semilla, una de ellas sería la capa esclerenquimatosa y la segunda la capa verde.

Respecto a la primera, Singh (1953) observó que el tamaño de las células esclerenquimatosas es diferente, siendo en algunos géneros mayor en la región micropilar (*Cyclanthera exilodens* y *Cucurbita pepo*); o bien que en cortes transversales de la región micropilar se observa que la capa esclerenquimatosa no forma un anillo completo en esta región, dividiendo en dos mitades a la semilla a lo largo del borde, menciona que ésto probablemente sea un mecanismo para la germinación temprana al llevarse a cabo la absorción del agua por la región micropilar. En *S. deppoi* el tamaño de las células de la capa esclerenquimatosa también es diferente, las células de la región micropilar son más pequeñas que las de la región central y calazal, además, la capa esclerenquimatosa rodea completamente al embrión.

El desarrollo de la mesotesta de *S. deppoi* concuerda totalmente con el descrito para otras Cucurbitaceae (Singh, 1953; Singh y Dathan, 1974; Orea y Engleman, 1983), en donde, durante el desarrollo, el número y tamaño de los espacios intercelulares aumenta. Sin embargo, ningún autor ha registrado la presencia de almidón en este tejido, en *S. deppoi* se detectó la presencia de gránulos de almidón desde etapas muy tempranas de desarrollo hasta semillas jóvenes, posteriormente en la semilla madura hidratada ya no se encuentra. El engrosamiento de las paredes de este tejido es peculiar y lo describe Lott (1973) en

Cucurbita maxima como engrosamientos reticulados localizados, que le dan una apariencia aterronada. En *S. deppoi* los engrosamientos son evidentes al microscopio electrónico de barrido.

En la mayoría de las especies estudiadas de la familia Cucurbitaceae, el tegumento interno se degrada en las etapas tempranas del desarrollo de la semilla. En *Sicyos angulatus* la degeneración del tegumento interno es más o menos completa cuando el óvulo se encuentra en el estadio de saco embrionario maduro. *Luffa cylindrica* parece ser la excepción entre las plantas estudiadas, en donde, el tegumento interno persiste mucho tiempo y puede observarse en semillas jóvenes con un embrión globular (Singh, 1953). En *Sicyos deppoi* la desintegración del tegumento interno se inicia cuando el óvulo se encuentra en la etapa de anthesis y finaliza cuando el embrión está en el estadio de proembrión (8 células), por lo que probablemente sea una de las especies en las que más tiempo tarda en desintegrarse el tegumento interno.

El desarrollo de la nucela en la semilla de *S. deppoi* se siguió con mucho interés, debido a que es a partir de la fecundación del óvulo que ésta sufre cambios, parte del tejido del pico nucelar se destruye por la entrada del tubo polínico, el tejido nucelar se va degradando por sus estratos centrales mientras ocurre el incremento del endospermo. La presencia de almidón en el tejido nucelar concuerda con lo mencionado por Kirwood (1905), quien atribuye la disminución del tejido nucelar al aumento en la cantidad de endospermo. Para Kirwood y Singh,

(1953) la nucela está totalmente ausente en la semilla madura, Singh, y Dathan (1974) mencionan que la epidermis nucelar y dos o tres estratos de células subepidérmicas laterales y las células cutinizadas de la región micropilar y calazal persisten en la semilla madura de *Corallocarpus*, *Kedrostis* e *Iberbillea*. Hardy (1976) menciona que la parte interna de la cubierta seminal esta formada por el clorénquima, vestigios de nucela y endospermo. Vaughan (1985) describe que en la semilla madura se encuentran presentes tres o cuatro estratos de pequeñas células, estando formado el estrato más externo de células regulares con paredes engrosadas - además le llama perispermo - en *Cucurbita pepo*, *Citryllus vulgaris* y *Telfairia pedata*. En la semilla madura de *Sicyos deppei* se encuentran de uno a tres estratos de paredes celulares de color verde y forman una cubierta en forma de red al rededor del embrión y se encuentra completamente adherida a él, el pigmento que contiene es soluble en alcohol absoluto y acetato de etilo. Esta capa verde se trató de observar al microscópio electrónico, pero como lo menciona Lott (1973) la estructura de esta delgada capa es difícil de determinar aún a través de el microscópio electrónico.

La capa verde que se encuentra rodeando al embrión de *S. deppei* no forma parte de la testa, ya que se encuentra ubicada por debajo de la mesotesta y de la cutícula nucelar; es un tejido constituido de paredes comprimidas de origen nucelar. La composición química de esta cubierta, revelada por las pruebas histoquímicas es de polisacaridos insolubles y cutina, además de

un pigmento que le da la coloración verde. Por su intensa reacción al rojo O de aceite probablemente esta cubierta esta realcionada también con la impermeabilidad de la semilla.

Lott y Darley (1973, en Lott, 1973) registraron que la capa verde de la cubierta de la semilla, estrechamente adherida a los cotiledones, de *Cucurbita maxima*, está compuesta de células intactas que contienen protoclorofila (PChl) y restos de paredes aplastadas. Sudquist y Rhyberg (1979) describen la estructura de la protoclorofila contenida en plastidios en el interior de la cubierta seminal de *Cucurbita pepo* la cual no es fotoconvertible y está frecuentemente asociada a una proteína y cuyo espectro de absorción esta en la región de los rojos a los 680 nm ó 640 nm dependiendo de su peso de agregación. Además, menciona que el grado de madurez de una semilla se puede caracterizar a partir de su contenido de agua y del contenido de protoclorofila en la semilla.

Sudquist y Rhyberg(1983) mencionan que para *Cyclanthera eximodens* el espectro de absorción de la protoclorofila presente en esta especie es de 671 nm y que éste puede variar cuando el extracto es hecho en acetona mostrándose una absorción de 626 nm (Sudquist, et al. 1980), *Luffa cylindrica* contiene en el interior de su cubierta seminal PChl la cual tiene una absorción máxima de 675 nm y esta asociada con la formación de cristaloides. Extractos en acetona muestran un espectro de absorción de 625 nm.

No consideramos a la capa verde de *Sicyos deppel* como parte de la cubierta seminal, sino como una cubierta de la semilla de origen nucelar. El hecho de que el pigmento que contiene se disuelva en alcohol absoluto y acetato de etilo nos hace suponer que muy probablemente esté relacionado con la protoclorofila, sin embargo, consideramos de interés se lleven a cabo más estudios de esta cubierta, ya que nosotros no observamos células vivas en ella y sería muy importante estudiar los organelos asociados en la síntesis del pigmento.

El hecho de estar presente una cubierta verde al rededor de el embrión de *S. deppel* y completamente adherida a él, podría complicar más la explicación de los factores que influyen en la germinación de la semilla de *S. deppel*, probablemente el pigmento presente en la cubierta verde (PCh1) tenga alguna relación durante la germinación de las semillas. Este hecho nos continúa sugiriendo que esta cubierta de la semilla interviene en la impermeabilidad de la semilla y su latencia, lo cual concuerda con Cruz-García, (1989) quien supone que las semillas de *S. deppel* presentan latencia múltiple.

Como menciona Kirwood (1905) en las Cucurbitaceae es de gran interés el desarrollo del endospermo, en donde es una regla que la división del endospermo nuclear ocurre antes que la primera división del cigoto. Esto también se observó en *S. deppel* en donde el endospermo nuclear en forma de cuentas de rosario rodea al cigoto, ocurriendo la fusión de los núcleos polares probablemente cerca del momento de la fertilización.

Posteriormente se inicia la celularización en la región micropilar y termina en la calazal.

En la semilla madura se presenta una capa de aleurona, formada por un estrato de células vivas al rededor de todo el embrión y con remanentes endospermicos entre los cotiledones.

Para Kirwood (1905), Singh (1953) y Rodríguez (1986) las semillas son no endospermicas, sin embargo en este trabajo se observó una capa de aleurona con células vivas con gotas de aceite y grano de proteína, por lo que desde el punto de vista estructural la consideramos semilla endospermica.

Vaughan (1985) observó en *Cucurbita pepo*, *Cucumis melo*, *Citrullus vulgaris* y *Telfairia pedata* una capa de aleurona de células con gotas de aceite y granos de proteína.

En *Seschium edulis* se registra la presencia de remanentes endospermicos entre los cotiledones en la semilla madura (Flores, 1989).

En las Cucurbitaceae las sinérgidas desaparecen después de la fertilización y las antípodas degeneran y son reabsorbidas totalmente cuando el embrión se encuentra en la etapa globular, no siendo esto lo usual en las especies estudiadas (Singh, 1953 y Kirwood, 1905).

La primera división en *Sicyos dipepal* es transversal, participando la célula apical y basal en la formación del cuerpo del embrión esto concuerda con Kirwood (1905), quien registra que dos o tres divisiones transversales del cigoto dan como resultado a un embrión y a un suspensor rudimentario que esta presente por

corto tiempo ,también menciona que para el género *Sycios* la primera división del cigoto aparentemente es diagonal , esto no concuerda con lo observado en este trabajo

Singh, (1953) observó en *Sicyos angulatus* al embrión en estado bicelular en una flor con los pétalos cerrados y la nucela completa, no interpretó su observación. En *S. deppoi* el desarrollo de la semilla se observó siempre a partir de flores en antésis.

El haber hecho el estudio del desarrollo de todos los tejidos de la semilla, permitió detectar la relación que existe entre el desarrollo de la testa y del embrión.

El embrión de *S. deppoi* permanece en estado globular hasta que las paredes de la exotesta y particularmente las de la capa esclerenquimatosa, han sufrido el engrosamiento en forma de estalactitas de sus paredes tangenciales; posteriormente se observó la forma acorazonada del embrión, a apartir de esta etapa fue rápido desarrollo de los cotiledones y del eje radícula hipocótilo. En la semilla madura hidratada el embrión ya ha alcanzado su tamaño definitivo antes de que la semilla se deshidrate y complete su madurez.

Toda semilla contiene carbohidratos, proteínas, grasas y/o minerales para nutrir al embrión que se encuentra en su interior. Su naturaleza y las proporciones de cada uno de ellos difiere dentro de las muchas clases de semillas.

Los compuestos presentes en las semillas de las Cucurbitaceae, no han sido completamente descritos.

Vaughan (1985) menciona la presencia de gotas de aceite y granos de proteína en las células parenquimatosas del embrión en *Cucurbita pepo*, *Cucumis melo*, *Citrullus vulgaris* y *Telfaria pedata*.

Lott (1973) registra la presencia de una gran cantidad de cuerpos proteicos claramente revelados por las micrografías del microscopio electrónico en las células cotiledonarias.

En *Sicyos deppel* hay una alta concentración de proteínas en el embrión.

Los cuerpos proteicos, de las células cotiledonarias, observados al microscopio electrónico de barrido, confirman lo observado por Lott, quien detectó que la cantidad de éstos es muy alta y que el tamaño entre ellos es variable.

La prueba histoquímica de rojo "O" de aceite reveló la presencia de aceites en las células cotiledonarias y la prueba de lugol, la presencia de almidón poco abundantes en la semilla madura.

Así, este trabajo aporta conocimientos acerca de la estructura de la semilla de *Sicyos deppel* G. Don, una de las 390 especies de malas hierbas que se han detectado en los cultivos de maíz, de la cual no se conocen totalmente hábitos, desarrollo, ciclo de vida, estructura y comportamiento de la diáspora, esperando sea de utilidad en las manos de aquéllos que se dedican al control de las malezas.

VI CONCLUSIONES

1. *Sicyos deppel* posee un óvulo anátropo, bitégmico, séssil, con placentación parietal, saco embrionario pequeño heptacelular dirigido hacia la región micropilar, nucela persistente y calaza amplia.

2. El micrópilo es largo y ligeramente curvo hacia su región terminal. Está formado por el tegumento interno.

3. El haz vascular no ramificado corre por el parénquima del tegumento externo desde el hilio hasta cerca del micrópilo.

4. La fecundación del óvulo es porógena.

5. La cubierta seminal de la semilla madura está formada exclusivamente por la diferenciación del tegumento externo. Es una semilla exotestal según la nomenclatura de Corner, 1976.

6. Existen diferencias en el desarrollo de cada una de las regiones: Calazal, Central y Micropilar, en una misma etapa.

7. Las capas de la testa son:

Exotesta.- Constituida por tres zonas: epidermis, hipodermis y capa esclerenquimatosa.

Mesotesta.- Presenta almidón en las semillas jóvenes; en la semilla madura es una zona de paredes celulares comprimidas con abundantes espacios y poco engrosadas.

8. Las divisiones, elongaciones y engrosamientos celulares de la exotesta siempre se llevan a cabo de la región micropilar hacia la región calazal.

9. Las características de la exotesta de *S. deppel* son:

Capa epidérmica con dos tipos celulares y con presencia de almidón.

Hipodermis biestratificada en la región calazal y central, y pluriestratificada en la región micropilar, la cual forma dos protuberancias en cada una de las caras de la semilla, también presenta dos tipos celulares y taninos.

La capa esclerenquimatosa está constituida por osteoesclereidas cuyas paredes están muy engrosadas.

10. El engrosamiento de las osteoesclereidas es de tres tipos: en forma de estalactitas, en las paredes tangenciales y en las paredes radiales puede ser perpendicular o paralelo a la superficie.
11. La composición de los engrosamientos de las paredes tangenciales en forma de estalactitas, es diferente a la del resto de las osteoesclereidas.
12. El tamaño de las osteoesclereidas de la región calazal y central es diferente al de las de la región micropilar.
13. La degradación de la nucela forma una cubierta de paredes celulares de color verde alrededor del embrión y está completamente adherida a él.
14. El desarrollo del endospermo es de tipo nuclear y persiste en la semilla madura una capa de aleurona.
15. La célula apical y basal intervienen en la formación del cuerpo del embrión.
16. El embrión tiene dos cotiledones blancos, ovoides, dorsalmente poco convexos y ventralmente planos, el eje radícula-hipocótilo escotogruoso, recto y diferenciado claramente de los cotiledones.
17. Las células cotiledonarias contienen abundantes granos de proteínas, aceites y escasos granos de almidón.
18. La semilla madura deshidratada es de forma ovoide, consta de dos caras convexas, testa dura impermeable al agua, lisas o con ligeras reticulaciones, bordes redondeados. El hilio se encuentra en la región apical con dos protuberancias en forma de labios en cada una de las caras.
19. El fruto de *S. deppel* es la diáspora, es monosporico, indehisciente, de color castaño oscuro o negro, con superficie reticulada y cubierta por dos tipos de tricomas, unos permanentes en forma cónica y otros caducos en forma de largas espinas acerradas.
20. La impermeabilidad al agua en la semilla de *S. deppel* está relacionada probablemente con la capa esclerenquimatosa de la exotesta y la cubierta verde (restos de nucela).

21. A diferencia de *Sicyos angulatus* en *Sicyos deppoi* se encuentra en la testa de la semilla madura :

- Almidón en la epidermis
- Hipodermis biestratificada en la región central y calazal y pluriestratificada en la región micropilar que forma a las protuberancias laterales.

22. Se observaron al microscopio electrónico de barrido:

- Tricomas del fruto.
- Región hilar de la semilla madura deshidratada.
- Engrosamientos de la mesotesta en la semilla madura deshidratada.
- Cuerpos proteícos de las células cotiledonarias.

VII BIBLIOGRAFIA

- Agundis, M. O. 1984. Logros y aportaciones de la investigación agrícola en el combate de la maleza. S.A.R.H. Publicación especial. No. 115. México. pp.19.
- Baker, H. G. 1974. The evolution of weeds. Ann. Rev. of Ecol. and Sys. 5: 1-24.
- Corner, E. J. 1976. The seed of dicotyledons. Cambrige. Univ. Press. London. 1 : 110.
- Cronquist, A. J. 1981. An integrated system of classification of flowering plants. Columbia Univ. Press. New York. 1262 pp.
- Cruz, G. F. 1989. Germinación y establecimiento de plantulas de "atatana" (*Sicyos deppei*, Cucurbitaceae), maleza del maíz. Tesis Licenciatura. Fac. Ciencias.- UNAM. México.
- Espinoza, G.F.J. 1981. Las malezas: Una maldición ? . Naturaleza. 5: 297-307.
- Flores, M.E. 1989. El chayote, *Séchtium edule* Swartz (Cucurbitaceae). Rev. Biol.Trop. 37(1): 1-54.
- Hardy, I. 1976. Consideraciones generales sobre frutos y semillas de las Cucurbitaceae de Venezuela. Acta Botanica Venezuelica. 11 (1-4): 205-281.
- Hill, Thomas A. 1977. The biology of weeds. Edward Arnol (Publisher) Limited. pp.65.
- Jensen, W. A. 1962. Botanical histochemistry: Principles and practice. WH Freeman and Co., San Francisco.

- Johansen, D. A. 1940. Plant microtechnique. MC Graw Hill. New York. 124-126 p.
- Kirkwood, J.E. 1905. The comparative embryology of the Cucurbitaceae. Bull. New York. Bot. Gard. 3 : 313-402.
- Kornerup, A. Wanscher, J.H. 1978. Methuen Handbook of colour. Ed. 3. Eyre Methuen, London.
- Lott, A. J. 1973. A scanning electron microscope study of *Cucurbita maxima* seed coat structure. Can. J. Bot. 51 : 1711-1714.
- Maheshwari, P. 1950. An introduction to the embryology of angiosperms. Mc Graw Hill.
- Marquéz, G. J. 1988. Reporte técnico al CONACYT. Laboratorio de Citología. Facultad de Ciencias. UNAH.
- Mann, R. K.; Rick, C.E.; and Witt, W.W. 1981. Germination and emergence of burcucumber, *Sicyos angulatus*. Weed Science 29 : (1) 83-86.
- Orea, C. D. y Engleman, E. M. 1983. Anatomía de la testa de *Sechium edule*. Chapingo. Año VIII. 39 : 27 - 30.
- Parka, S.J. 1976. The identification and utilization of weed biology information. Weed Science. 24 : 282-287.
- Puri, V. 1954. Studies in floral anatomy. VII. Placentation in the Cucurbitaceae. Phytomorphology. 4 : 278-299.
- Rolston, Ph.M. 1978. Water impermeable seed dormancy. The Botanical Review. 44 : 385-396.
- Rzedowski, J. y Rzedowski, C. G. 1985. Flora fanerogámica del Valle de México, ENCB, I.E. Vol. II. Dicotyledoneae. México. pp.674.

- Rzedowski, J. 1986. La Vegetación de México. Limusa. México. pp.432.
- Sing, B. 1953. Studies on the structure and development of seeds of Cucurbitaceae. Phytomorphology. 3: 224-239.
- Sing, D. 1985. Ovule and Seed of *Sechium edulis* Sw. a reinvestigation. Curr. Sci. 34 (24): 696 - 697.
- Sing, D. y Dathan, R. 1974. Structure and development of the seed coat in Cucurbitaceae. IX. Seeds of *Coralcarpus*, *Kedrostis* e *Iberivillea*. Bull. Torrey Bot. Club 101: 78-82.
- Vaughan, I. G. 1985. The structure and utilization of oil seeds. Champan and Hall LTD. London. pp. 279.
- Zepeda, A. S. 1988. Estudio preliminar de la biología de la arvense *Sicyos deppoi* G. Don y el efecto de poblaciones naturales sobre el rendimiento y la cosecha de maíz. *Zea mays* L. Tesis Maestría en Ciencias. Centro de Botánica. Colegio de Postgraduados. Chapingo.