

1  
2ej

03475

# UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO



FACULTAD DE CIENCIAS

DIVISION DE ESTUDIOS DE POSGRADO

ESTUDIO ESTRUCTURAL E HISTOQUIMICO DE *Lacandonia schismatica* MARTINEZ-RAMOS (LACANDONIACEAE).  
FAMILIA, GENERO Y ESPECIE NUEVOS PARA LA CIENCIA

## T E S I S

QUE PARA OBTENER EL GRADO ACADEMICO DE  
MAESTRA EN CIENCIAS (BIOLOGIA VEGETAL)

P R E S E N T A

BIOL. SONIA VAZQUEZ SANTANA

MEXICO, D.F.

1992

TESIS CON  
FALLA LE ORIGEN



Universidad Nacional  
Autónoma de México



## **UNAM – Dirección General de Bibliotecas Tesis Digitales Restricciones de uso**

### **DERECHOS RESERVADOS © PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis 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

CONTENIDO .....	i
RESUMEN .....	iii
1. INTRODUCCION .....	1
2. REVISION DE LITERATURA .....	3
2.1. GENERALIDADES DE LAS ANGIOSPERMAS .....	3
2.1.1. LA FLOR .....	3
2.2. FECUNDACION EN ANGIOSPERMAS .....	5
2.3. SISTEMAS DE REPRODUCCION EN ANGIOSPERMAS .....	6
2.3.1. TIPOS DE CLEISTOGAMIA .....	7
2.3.2. MORFOLOGIA DE LAS FLORES CLEISTOGAMAS .....	8
2.3.3. AUTOFECUNDACION .....	9
2.4. ORDEN TRIURIDALES .....	10
2.4.1. UBICACION TAXONOMICA DE <i>Lacandonia schismatica</i> ..	10
2.4.2. DESCRIPCION DE <i>Lacandonia schismatica</i> .....	11
2.4.3. ESTUDIOS DESCRIPTIVOS DE LA FAMILIA TRIURIDACEAE .	12
2.5. ESTUDIOS SOBRE ANATOMIA VEGETATIVA .....	13
2.6. ESTUDIOS SOBRE ANATOMIA REPRODUCTIVA .....	15
2.6.1. ANATOMIA REPRODUCTIVA EN LACANDONIACEAE .....	15
2.6.2. ANATOMIA REPRODUCTIVA EN TRIURIDACEAE .....	16
2.7. ESTUDIOS CROMOSOMICOS .....	19
2.7.1. CROMOSOMAS EN LACANDONIACEAE .....	19
2.7.2. CROMOSOMAS EN TRIURIDACEAE .....	19
2.8. ESTUDIOS SOBRE MICORRIZAS .....	19
2.8.1. MICORRIZAS EN TRIURIDACEAE .....	19
2.9. ESTUDIOS COMPARATIVOS ENTRE <i>Triuris alata</i> y <i>Lacandonia schismatica</i> .....	20
2.10. TEORIA SOBRE EL ORIGEN DE LA FLOR DE <i>L. schismatica</i> ...	22
3. OBJETIVOS .....	23
4. MATERIALES Y METODOS .....	24
4.1. COLECTA Y SEPARACION DEL MATERIAL .....	24
4.2. FIJACION .....	24
4.3. INCLUSION EN PARAFINA (PARAPLAST) .....	26
4.3.1. PRUEBAS HISTOQUIMICAS .....	26
4.3.2. TINCCION DOBLE CON SAFRANINA-VERDE FIJO .....	28



## RESUMEN

Se estudió la anatomía de los órganos vegetativos: raíz, tallo aéreo y rizoma así como el desarrollo de las estructuras reproductoras y el proceso de fecundación de *Lacandonia schismatica* (Lacandoniaceae), una especie cuya posición de los verticilos sexuales está invertida, característica desconocida para las Angiospermas.

La maduración del androceo es más rápida que la del gineceo. De la megaspora micropilar se forma el saco embrionario tipo *Polygonum*, al madurar es heptacelular y octanuclear. El grano de polen maduro consta de una célula vegetativa y dos células espermáticas. Antes de la antesis los granos de polen germinan dentro de la antera indehiscente. Los tubos polínicos crecen entre las células del receptáculo y después se dirigen hacia los óvulos. Uno de ellos entra al saco embrionario por el micrópilo a través de una de las sinérgidas. Presentándose la doble fecundación. Una vez efectuada la doble fecundación, la flor se encuentra abierta. La primera división del cigoto es transversal, el embrión más grande que se observó consta de aproximadamente unas 12 células. El desarrollo del endospermo es del tipo nuclear, en etapa madura hay una gran cantidad de almidón y proteínas como reserva alimenticia en el interior de sus células y una gran cantidad de polisacáridos en sus gruesas paredes celulares. La cubierta de la semilla se forma del tegumento externo. La exotesta presenta taninos. La pared del fruto (aquenio) está formada por dos capas celulares.

Las raíces carecen de pelos radicales. Forman endomicorrizas del tipo vesículo-arbuscular. Hay una endodermis con engrosamientos en las paredes tangenciales externas y bandas de Caspary en las paredes radiales y transversales. La endodermis también es visible en el tallo aéreo y el rizoma. El cilindro central se encuentra muy reducido en los tres órganos vegetativos, aunque su reducción es más evidente en la raíz y sólo ligeramente más desarrollado en el tallo aéreo y en el rizoma.

## 1. INTRODUCCION

*Lacandonia schismatica* (Lacandoniaceae) vive en la selva Lacandona de Chiapas, México. Fue encontrada en septiembre de 1985 por el Biólogo Esteban Martínez y presentada en 1989 como una especie, género y familia nuevas del orden Triuridales.

Cuando esta planta fue descubierta el primer carácter que la definió fue la dehiscencia introrsa (línea de abertura de las anteras para permitir la salida de los granos de polen), pero lo más evidente fue el hecho de que sus verticilos sexuales presentan una posición invertida, encontrándose el androceo en el centro y el gineceo externo. Esto representa el rompimiento de una regla siempre observada en todas las Angiospermas hasta ahora reportadas (aproximadamente 248 mil especies) (A. P. De Candolle, 1813, citado por Martínez y Ramos, 1989; Hutchinson, 1959; Takhtajan, 1969; Cronquist, 1981; Márquez-Guzmán et al., 1989).

La inversión de los verticilos sexuales viene a alterar los criterios que se establecen en la clasificación de las plantas, la cual se basa principalmente en las características florales, haciendo necesario que se consideren ahora otras posibles localizaciones de las estructuras reproductoras dentro de la flor.

*L. schismatica* es una especie importante por la inversión de sus verticilos sexuales que nunca se habían observado. Por esta razón son necesarios estudios sobre su biología, incluyendo su estructura del desarrollo y reproducción. Una vez conocidos estos aspectos se pueden hacer comparaciones con los miembros de la familia Triuridaceae, con la cual presenta algunas afinidades. Estas comparaciones son útiles para conocer que tan emparentados se encuentran estos dos taxa.

Los resultados de este trabajo pueden ayudar a esclarecer si en realidad *L. schismatica* puede formar una nueva familia como lo propusieron Martínez y Ramos (1989), o si independientemente de la inversión de los verticilos sexuales y el estomio introrso deba ser colocada dentro de la familia Triuridaceae como lo menciona RübSamen-Wuestenfeld (1991).

## 2. REVISION DE LITERATURA

### 2.1. GENERALIDADES DE LAS ANGIOSPERMAS

El ciclo de vida de las Angiospermas se caracteriza por una alternancia de generaciones entre el esporofito diploide y el gametofito haploide. El proceso de reducción cromosómica (meiosis) ocurre dentro de órganos específicos que forman parte de un sistema reproductor que caracteriza a las Angiospermas, la flor. Durante la fase gametofítica se forman los gametos masculinos (núcleos espermáticos) y femeninos (ovocélulas), los cuales se unen durante la fecundación para formar el cigoto, restaurándose así la diploidia de la fase esporofítica y completándose el ciclo de vida.

La flor como característica de las Angiospermas tiene una gran importancia, ya que a lo largo del tiempo las estructuras reproductivas han ido tomando más valor que las estructuras vegetativas en la clasificación de las plantas (Maheswari, 1950).

Para una clasificación no sólo interesan las características externas de la flor sino también las estructuras internas como el polen, saco embrionario, endospermo y embrión.

En las Angiospermas, estos caracteres esenciales se refieren a la localización, estructura, desarrollo y disposición de los órganos reproductores masculinos y femeninos, de las cubiertas florales (cáliz y corola), de los verticilos sexuales (androceo y gineceo), de los frutos y de las semillas (Rost, et al., 1988; Ruíz-Oronoz et al., 1977).

#### 2.1.1. LA FLOR

La flor es un sistema de la planta con crecimiento limitado, formada por un conjunto de órganos estériles y reproductores. Cuando las plantas llegan a un estado adulto



algunos o todos los meristemos del tallo se convierten en meristemos florales (Esau, 1982). El cambio de fase vegetativa a la reproductiva se debe a las interrelaciones entre el organismo y su ambiente (Bhojwani y Bhatnagar, 1981).

Una flor completa consiste de cuatro grupos de órganos organizados en verticilos desarrollados en el extremo del tallo llamado receptáculo y que forma la base de la flor. El cáliz es el verticilo más externo, se encuentra formado de sépalos. El siguiente verticilo es la corola, constituida por un conjunto de pétalos. El cáliz y la corola en conjunto forman el perianto. Cuando el perianto no se diferencia en cáliz y corola sus unidades son los tépalos (Bhojwani y Bhatnagar, 1981; Esau, 1982).

El tercer verticilo está constituido por los estambres, conocidos colectivamente como androceo y representa el órgano sexual masculino. Cada estambre consiste de un filamento y una antera, el gametofito masculino (grano de polen) se forma dentro de la antera (Maheswari, 1950; Bhojwani y Bhatnagar, 1981; Esau, 1982).

En el centro de una flor típica se encuentra el órgano sexual femenino, el gineceo. Está formado por unidades llamadas carpelos, los cuales al fusionarse forman el ovario. En la parte terminal del ovario se localiza el estilo y sobre éste se presenta el estigma, que es el sitio de recepción del polen durante la polinización. El ovario contiene a los óvulos. Cada óvulo contiene un gametofito femenino (saco embrionario) rodeado por tejido nucelar y protegido por uno o dos tegumentos (Bhojwani y Bhatnagar, 1981). El desarrollo del saco embrionario puede ser de diferentes tipos, los cuales en su etapa madura difieren en el número de núcleos y contenido cromosómico, el más común en las Angiospermas es el tipo normal o *Polygonum* (Maheswari, 1950).

Cuando las flores presentan los cuatro verticilos se llaman completas, si carece de alguno de éstos son incompletas, pero el orden de los verticilos es invariable (Cronquist, 1969).

En términos de la reproducción sexual, sólo son necesarios los estambres y carpelos. Una flor que tenga estas dos estructuras se llama perfecta, pero si carece de alguna de éstas es imperfecta. Cuando las flores poseen carpelos pero no estambres se llaman pistiladas y cuando tienen estambres pero no carpelos se llaman estaminadas. Cuando las flores pistiladas y estaminadas están presentes sobre la misma planta se llaman monoicas y cuando están en plantas separadas se llaman dioicas (Bhojwani y Bhatnagar, 1981; Esau, 1982).

## 2.2. FECUNDACION EN ANGIOSPERMAS

Dado que la función principal de la flor es la formación de las semillas que darán lugar a otra planta de la misma especie se verifican tres fenómenos sucesivos: la polinización (transferencia del polen desde la antera hasta el estigma), la germinación del grano de polen en el estigma y la fecundación (Maheswari, 1950).

Una vez que el tubo polínico entra al óvulo a través del micrópilo y llega a la pared del saco embrionario, el ápice del tubo polínico puede entrar a una de las sinérgidas o pasar entre ellas hasta la ovocélula y descarga las dos células espermáticas y el núcleo vegetativo. Uno de los gametos masculinos se fusiona con la ovocélula (singamia) formando el cigoto, mientras que el segundo núcleo espermático se fusiona con los dos núcleos polares (triple fusión) para formar el núcleo primario del endospermo (Maheswari, 1950; Bhojwani y Bhatnagar, 1981).

Esto se conoce como doble fecundación, un fenómeno que sólo ocurre en las Angiospermas. El resultado de la doble fecundación es el cigoto diploide y generalmente un endospermo triploide (Bhojwani y Bhatnagar, 1981).

Después de la doble fecundación el óvulo se transforma en semilla y el cigoto en embrión. La cubierta seminal protectora puede formarse de uno o de los dos tegumentos. El cigoto presenta una serie de divisiones celulares y una posterior diferenciación histológica para convertirse en embrión maduro, el cual consiste de un eje hipocótilo-radícula que lleva en el extremo superior uno o dos cotiledones y el meristemo del vástago (Bhojwani y Bhatnagar, 1981; Esau, 1982).

El número de cotiledones en el embrión es un carácter diagnóstico que separa a las Angiospermas en dos subclases principales: Dicotiledoneae (con dos cotiledones) y Monocotiledoneae (con un solo cotiledón), sin embargo, existen excepciones (Bhojwani y Bhatnagar, 1981).

### 2.3. SISTEMAS DE REPRODUCCION EN ANGIOSPERMAS

Una de las clasificaciones de los sistemas de reproducción en las Angiospermas considera cinco tipos. En ellos se presentan una gran variedad de formas florales y modos de polinización: reproducción cruzada (xenogamia) ( es la que predomina), autocruzamiento, apomixis facultativa (usualmente con reproducción cruzada), apomixis (agamospermia) y reproducción vegetativa (Jain, 1976). La reproducción sexual puede ocurrir a través de los tres primeros tipos (Clay, 1982). Son pocas las especies de Angiospermas que están limitadas a alguno de estos mecanismos, ya que la mayoría son capaces de reproducirse por diferentes combinaciones de ellos (Stebbins, 1950; Fryxell, 1957; Allard, 1975; Jain, 1976).

La combinación más común de los mecanismos reproductivos es una mezcla de fecundación cruzada y autofecundación (Fryxell, 1957; Allard, 1975).

Los sistemas de cruce son de interés principalmente debido a los efectos que ellos pueden tener sobre la estructura genética de las poblaciones (Stebbins, 1957; Jain 1976). La

autofecundación total o parcial pueden tener diferentes efectos, incluyendo el número de homocigos, disminución en el flujo génico y subdivisión de la población (Jain, 1976).

La autofecundación parcial ha sido impuesta en algunas especies por la evolución del dimorfismo floral debido a la producción de dos tipos de flores, uno de ellos con flores abiertas adaptadas a la fecundación cruzada (casmógamas) y el otro con flores que nunca abren y se adaptan a la autofecundación (cleistógamas) (Uphof, 1938).

La cleistogamia fue definida por Kuhn (1867, en: Uphof, 1938) para referirse a la producción de flores bisexuales que se fecundan en estado de botón. En este tipo de comportamiento las flores nunca abren y, debido a que no exponen sus órganos sexuales, Bhojwani y Bhatnagar (1981) consideran que es la adaptación floral más eficiente para promover una autofecundación (Uphof, 1938). Sin embargo, el término es también utilizado para describir a especies que producen tanto flores abiertas como cerradas (Lord, 1981). Esta condición cleistógama está ampliamente distribuida en las Angiospermas (Connor, 1979; Maheswari, 1962, en: Lord, 1981).

### 2.3.1. TIPOS DE CLEISTOGAMIA

Lord (1981) hace una revisión de las diferentes clasificaciones de cleistogamia y los grados en los que ésta se presenta y propone cuatro categorías:

#### a) CLEISTOGAMIA PREANTESIS

Se refiere a casos donde la polinización ocurre en el botón y después se presenta la antesis.

#### b) PSEUDOCLEISTOGAMIA

Esto se refiere a casos donde no existen diferencias morfológicas entre flores casmógamas y cleistógamas, además éstas últimas carecen de la expansión de los verticilos (antesis). Este

fenómeno puede ser inducido por factores ambientales y se conoce como cleistogamia ecológica.

#### c) CLEISTOGAMIA COMPLETA

Se refiere a las especies que producen sólo flores cleistógamas.

#### d) "VERDADERA CLEISTOGAMIA"

Se refiere a los casos donde el dimorfismo resulta de vías de desarrollo divergentes en una sola especie o en un individuo. Las flores cleistógamas son formas modificadas de las casmógamas caracterizadas principalmente por reducciones en el tamaño y/o el número de estambres y tamaño de la corola.

### 2.3.2. MORFOLOGIA DE LAS FLORES CLEISTOGAMAS

Se han realizado diversos estudios estructurales, tales como la comparación de megasporogénesis, microsporogénesis, gametogénesis y embriogénesis en las especies cleistógamas y casmógamas en donde se muestra que estos procesos parecen similares en ambas formas florales a nivel de microscopia de luz (Gorczyński, 1929, 1930, 1935; Hanson, 1943; Maheshwari y Baldev, 1958; Parney y Dexheimer, 1976, [todos en: Lord, 1981]).

Sin embargo, otros estudios en algunas especies de Poaceae y Malpighiaceae, muestran diferencias morfológicas entre flores cleistógamas y casmógamas (Uphof, 1938).

Los trabajos de von Mohl y Darwin (1863 y 1877, citados en Lord, 1981) representan los dos primeros intentos para describir la morfología de las flores cleistógamas. Ambos observaron la reducción en el tamaño de la flor siendo las partes más afectadas la corola y androceo. Esto se confirmó por Uphof (1938) y Lord (1981).

En estudios realizados en 30 especies de Angiospermas cleistógamas se menciona que, a pesar de que el cáliz y el

gineceo son los menos afectados, hay excepciones a esto, con reducciones en el tamaño del ovario y estigma en algunos casos (Goebel, 1904, 1905 y Ritzlerow, 1908 ambos en: Lord, 1981). Entre las características más distintivas de las flores cleistógamas se tiene que los sépalos que rodean el botón floral raramente están reducidos en número. Muy frecuentemente la corola es poco desarrollada o no se encuentra, y generalmente pierde el color normal. Estas reducciones también se presentan en el número y tamaño de estambres y sacos polínicos, las anteras carecen de endotecio, y en algunos casos el gineceo está compuesto de pocos carpelos (Uphof, 1938).

### 2.3.3. AUTOFECUNDACION

La cleistogamia ha sido muy poco estudiada desde el punto de vista citológico, sin embargo, se sabe que los tubos polínicos se forman dentro de los sacos de polen de las anteras y llegan al estigma a través de la dehiscencia normal de la antera o a través de la pared de ésta (Uphof, 1938).

Se han propuesto los términos de polinización *casmantérica* y *cleistantérica* para cuando el tubo polínico llega al estigma a través de la dehiscencia de la antera debido a la presencia de un estomio; o cuando los tubos polínicos llegan al estigma atravesando la pared de una antera cerrada, respectivamente (Ascherson, 1884, en: Uphof, 1938; Lord, 1981). En algunos casos se ha observado que las paredes de las anteras de especies con flores cleistógamas no son muy desarrolladas, sobre todo en las zonas cercanas al estigma (Lord, 1981).

Así mismo, Anderson (1980) trabajó con cuatro géneros de la familia *Malpighiaceae* (*Aspicarpa*, *Camarea*, *Janusia* y *Gaudichaudia*), los cuales además de flores *casmógamas* también presentan flores *cleistógamas* fuertemente modificadas. Demuestra que la enigmática polinización que ellas presentan es lo que pudo ser considerado equivocadamente como *apomixis* por Ritzlerow (1908) y Trent (1942) [ambos en: Lord, 1981].

En estos cuatro géneros de las Malpighiaceae los granos de polen germinan dentro de la antera indehiscente y los tubos polínicos crecen hacia abajo a través del corto filamento hacia el receptáculo de la flor. Después se dirigen hacia arriba al lóculo del ovario, y llegan al óvulo para efectuar la fecundación.

La fecundación en las flores cleistógamas de esta familia es verdaderamente diferente de todo lo reportado anteriormente para las Angiospermas (Anderson, 1980).

#### 2.4. ORDEN TRIURIDALES

El orden Triuridales se ubica taxonómicamente de la siguiente manera (Takhtajan, 1980):

Clase	Liliopsida
Subclase	Liliidae
Superorden	Triuridanae
Orden	Triuridales

Cronquist (1981) colocó en el orden Triuridales las familias Petrosaviaceae y Triuridaceae. Considera que Triuridaceae "es una familia taxonómicamente aislada y que además de su probable relación con la pequeña familia Petrosaviaceae, difiere agudamente de todos los demás grupos; podría ser necesario constituir al orden Triuridales como una subclase distinta".

Respecto a *Lacandonia schismatica*, este autor menciona que "un nuevo género extraordinario de la familia Triuridaceae (o afín a ésta), con estambres centrales y carpelos periféricos, fue descubierto en México" (Cronquist, 1988).

##### 2.4.1. UBICACION TAXONOMICA DE *Lacandonia schismatica*

Martínez y Ramos (1989) incluyen una nueva familia en el orden Triuridales, Lacandoniaceae, la cual se encuentra formada

por una sola especie, *Lacandonia schismatica*. Esta especie fue colocada dentro de este orden por sus semejanzas con la familia Triuridaceae.

Mencionan que *L. schismatica* comparte con la familia Petrosaviaceae la dehiscencia introrsa de las anteras, el hábito herbáceo y la micotrofia, pero difiere por que Petrosaviaceae presenta estomas, tépalos en dos series, carpelos fusionados basalmente con muchos óvulos, nectarios septales y granos de polen monosulcados (Martínez y Ramos, 1989).

Lacandoniaceae está emparentada con la familia Triuridaceae, porque comparten los siguientes caracteres: gineceo apocárpico, óvulos anátropos, polen inaperturado, flores trímeras, tépalos con apéndices, hábito saprofítico y micorrizas endotróficas. Pero difieren por la disposición de los órganos reproductores, ya que las anteras se encuentran en la parte central de la flor, también se resalta sobre la supuesta dehiscencia introrsa de las anteras de Lacandoniaceae (Márquez-Guzmán et al., 1989; Martínez y Ramos, 1989), mientras que ésta es extrorsa en las de Triuridaceae (Tomlinson, 1982; Maas y Rübsamen, 1986; Rübsamen-Weustenfeld, 1991).

#### 2.4.2. DESCRIPCION DE *Lacandonia schismatica*

En la descripción de Martínez y Ramos (1989) se menciona que entre las principales características de la familia Lacandoniaceae se encuentran las flores hermafroditas y el gineceo apocárpico rodeando al androceo, el cual está formado de tres estambres sésiles, con anteras biloculares con una sola línea de dehiscencia introrsa.

*Lacandonia schismatica* es una hierba de aproximadamente 9 cm de alto con un rizoma glabro, raíces filiformes, de tallos usualmente 3-5 cm de largo, 0.4-0.5 mm de diámetro. Inflorescencia hasta de 4 cm de largo con brácteas trilobadas. Flores (1-)3-7(-13) con disposición en espiral, 3.8-4.1 mm de



diámetro; 6 tépalos, deltoides, fusionados desde la base hasta la parte media. Carpelos obovoides de 0.48-0.6 mm de largo; estilo papilado 0.2-0.25 mm de largo. Tres estambres con filamentos de 0.1 mm de largo; anteras de 0.3 mm largo y 0.1 mm de ancho. Los frutos son aquenios obovoides con el estilo persistente; semilla de 0.4-0.5 mm de largo, 0.2-0.25 mm de ancho, pardo oscura. Estos autores describen la presencia de un supuesto estigma de aproximadamente 0.3 mm de largo.

Debido a la semejanza de las familias Lacandoniaceae y Triuridaceae, se revisaron también algunos estudios realizados con esta última familia.

#### 2.4.3. ESTUDIOS DESCRIPTIVOS DE LA FAMILIA TRIURIDACEAE

Entre los estudios descriptivos y taxonómicos de la familia Triuridaceae se encuentran los de: Jonker (1943), Green y Solbrig (1966), Rao y Verma (1976), Tomlinson (1982), Waechter (1984) Maas y RübSamen (1986), Maas y Maas-van de Kamer (1989). En estos trabajos las descripciones coinciden en lo siguiente aunque existen algunas excepciones: las Triuridaceae son hierbas saprófitas que crecen sobre la hojarasca, madera en descomposición o raramente sobre nidos de termitas. Sus tallos son aclorófilos, generalmente áfilos o con hojas reducidas a pequeñas escamas. Los estomas están ausentes. Los rizomas crecen por abajo de la hojarasca y tienen numerosas raíces micorrízicas. Las flores son pequeñas, actinomórficas, unisexuales, o a veces hermafroditas. Plantas monoicas o dioicas. Perianto corolino; segmentos 3-8, reflexos, uniseriados, connados y valvados. Cuando hay flores masculinas, éstas tienen 2, 3, 4, 6 ú 8 estambres con filamentos cortos o ausentes, las anteras con dehiscencia extrorsa. En el caso de las flores femeninas, éstas presentan ovarios súperos, apocárpicos, con estilo lateral o raramente terminal (*Triuris*), con zona estigmática papilada o glabra. Cada carpelo contiene un sólo óvulo basal, anátropo y bitégmico. El fruto es ovoide o elipsoide, dehiscente o indehiscente. Semillas con endospermo abundante.

Estos autores mencionan cerca de 70-80 especies en 6-7 géneros en los trópicos de ambos hemisferios. Existe gran concentración en el sureste de Asia, incluyendo las Indias del este y Nueva Guinea. Según Green y Solbrig (1966) en América Central se encuentran 4 géneros: *Soridium*, *Triuris*, *Sciaphila* y *Peltophyllum*. El género más grande es *Sciaphila*, con cerca de 50 especies.

Según Dahlgren et al. (1985) y Giesen (1938, en: Maas y Rúbsamen, 1986), la familia Triuridaceae puede dividirse en 2 tribus:

a) Tribu *Sciaphileae*: comprende los géneros con plantas monoicas. Los tépalos barbados, raramente caudados. Este grupo está constituido por el género *Sciaphila* y *Soridium* en América y *Andruris*, *Hyalisma* y *Seychellaria* en el Viejo Mundo.

b) Tribu *Triurideae*: consiste de plantas dioicas con tépalos caudados. A este grupo lo forman *Triuris*, *Hexuris* y *Peltophyllum*. Se encuentran en los Neotrópicos.

El descubrimiento de *L. schismatica* trajo consigo un gran interés para estudiar esta planta y compararla con la familia Triuridaceae por la anatomía vegetativa y reproductiva, ecología, palinología, química, etc.

## 2.5. ESTUDIOS SOBRE ANATOMIA VEGETATIVA

No existe ningún estudio sobre la anatomía de los órganos vegetativos en *L. schismatica*.

El primer estudio anatómico de los órganos vegetativos (raíz, tallo aéreo y rizoma) de *Triuris alata*, del Brasil, demostró que en estos órganos el sistema conductor está fuertemente reducido debido a su hábito saprofítico (Milanez y Meira, 1943). Esta misma observación hace Tomlinson (1982) para otros miembros de la familia.

En ambos trabajos se menciona que la raíz tiene una epidermis uniestratificada, la cual presenta escasos pelos absorbentes poco desarrollados, septados según Tomlinson (1982). En la corteza primaria la exodermis no es constante en toda la circunferencia (Milanez y Meira, 1943). En *Sciaphila japonica*, *S. schwackoana*, *S. tenella*, *Hexuris caudata*, *H. gardnerii* y *Triuris mayor* los dos estratos más externos de la corteza presentan micelio endomicotrófico (Dahlgren et al., 1985). La endodermis presenta engrosamientos en sus paredes tangenciales externas (Milanez y Meira, 1943). Respecto al cilindro central observaron que está constituido por un periciclo uniestratificado esclerótico (algunas veces biestratificado de acuerdo a Tomlinson, 1982) muy cercano a los pocos elementos conductores, los cuales consisten de dos polos de xilema que se unen en una sola masa central, con un total de 4-6 elementos de vaso con engrosamientos en espiral. A cada lado de los polos del xilema hay un elemento de tubo criboso con una célula acompañante y 1-3 células parenquimáticas.

La estructura del tallo aéreo y del rizoma es muy simple, el tejido vascular siempre es un solo cilindro, a menudo asociado con esclerénquima. Ambos órganos presentan una epidermis uniestratificada con paredes tangenciales externas cutinizadas (Milanez y Meira, 1943) y lignificadas (según Tomlinson, 1982). No hay estomas ni tricomas. La corteza está constituida por 4-6 estratos celulares de parénquima que carecen de hifas micorrízicas (Tomlinson, 1982). Sin embargo Dahlgren et al. (1985) mencionan que la corteza del rizoma sí presenta hifas.

De acuerdo con Tomlinson (1982), tanto el tallo aéreo como el rizoma no presentan endodermis; sin embargo Milanez y Meira (1943) encuentran una endodermis con células de diferentes formas y tamaños y además observan bandas de Caspary en las paredes radiales.

El cilindro central consta de un periciclo con células dimórficas, los elementos conductores son más numerosos que en la raíz. El conjunto de xilema presenta un vaso con engrosamiento anular en el tallo aéreo y 2 ó 3 vasos con engrosamiento reticulado en el rizoma. Los haces vasculares son angostos y se unen tangencialmente y algunas veces se asocian con esclerénquima. Tomlinson (1982) menciona que en el tallo los elementos del floema tienen paredes delgadas, el xilema es ligeramente endarco y los vasos no se observan con certeza. En contraste, Dahlgren et al. (1985) mencionan que los vasos están ausentes.

Los primordios foliares se transforman en escamas simples que carecen de sistema vascular (Milanez y Meira, 1943).

## 2.6. ESTUDIOS SOBRE ANATOMIA REPRODUCTIVA

### 2.6.1. ANATOMIA REPRODUCTIVA EN LACANDONIACEAE

En cuanto a la anatomía reproductiva de *L. schismatica* Márquez-Guzmán et al. (1989) describieron la estructura de los órganos sexuales en botón floral, demostrando que la posición central de las anteras es de origen y no se debe a ninguna torsión durante el desarrollo. Demostraron ésto con cortes medianos de botones florales, basándose en la continuidad de la epidermis desde la base de las anteras hasta el receptáculo. Ellos encuentran que el androceo está formado generalmente por 3 estambres que carecen de vascularización, que las anteras son biloculares con línea de dehiscencia introrsa, y que el grano de polen es tricelular. Las anteras maduran antes que los carpelos y persisten sin caerse del receptáculo después de la dispersión de los frutos. El gineceo es apocárpico. La orientación de los carpelos es variable ya que no todos tienen el estilo orientado hacia los estambres. Cada carpelo tiene un estilo subapical del lado que corresponde al hilo de la semilla. Cada carpelo contiene un sólo óvulo sésil, basal, anátropo y bitégmico. El tegumento interno forma el micrópilo. El desarrollo del endospermo es

nuclear. La primera división del cigoto es transversal. La cubierta seminal tiene una capa con inclusiones. El fruto es indehiscente.

Quiroz (1990) hace un estudio sobre el desarrollo del microsporangio de *L. schismatica*. Los resultados muestran que la yema floral en sus inicios está cubierta por una bráctea que la protege, los primeros primordios que surgen de la yema son de los tépalos. En el meristemo floral hay un crecimiento diferencial provocando la formación de pequeños abultamientos; los tres más grandes y centrales corresponden a los primordios de las anteras y los más pequeños son los primordios de los carpelos. El desarrollo de la antera es del "tipo monocotiledoneo". El tapete es del "tipo glandular" porque persiste durante todo el desarrollo del polen y conserva su integridad celular. La pared en la antera bien desarrollada presenta cuatro capas: epidermis, endotecio (con engrosamientos en sus paredes), una capa media efímera y un tapete uninuclear, raramente binuclear. Los estambres maduros son basales. El grano de polen maduro es tricelular e inaperturado, con ornamentación retículo-granulosa.

## 2.6.2. ANATOMIA REPRODUCTIVA EN TRIURIDACEAE

Se conoce muy poco acerca de la embriología de las Triuridaceae. Davis (1966) describió el desarrollo de la antera y el óvulo de *Sciaphila*. Observa que la antera es tetrasporangiada, formada por una epidermis, endotecio con engrosamientos fibrosos, una capa media efímera y tapete probablemente glandular. Las células madres de las microsporas después de la meiosis forman tétradas tetrahédricas o isobilaterales. Los granos de polen son tricelulares.

Los estambres, carpelos y óvulos no presentan tejido vascular. El óvulo es anátropo, tenuinucelado y bitégmico (los tegumentos son biestratificados), el micrópilo está formado por el tegumento interno. Durante la ontogenia el óvulo es encerrado por la pared del carpelo en desarrollo. El cierre tiene lugar

sobre el lado ventral, dejando una abertura angosta (acrópilo), del mismo lado donde se eleva el estilo (Tomlinson, 1982). La curvatura del óvulo es contraria al crecimiento del ovario.

Wirz (1910, en: Tomlinson, 1982) menciona que la nucela permanece uniestratificada a lo largo del desarrollo; se reabsorbe casi completamente cuando el saco embrionario es maduro y sólo quedan algunos restos en la zona calazal.

En *Sciaphila japonica* la célula arquesporrial funciona directamente como célula madre de la megaspora. La megaspora calazal de una tétrada linear o en forma de T desarrolla un saco embrionario tipo *Polygonum* (Ohga y Sinoto, 1932).

Antes de que ocurra la fecundación los dos núcleos polares se fusionan, sin embargo la etapa de fecundación no pudo ser observada (Ohga y Sinoto, 1924). Wirz (1910, en: Tomlinson, 1982) y Dahlgren *et al.* (1985) concluyen que la célula huevo en algunas especies de *Sciaphila* se desarrolla partenogenética o apogámicamente. Sin embargo, parece ser que la doble fecundación sí toma lugar en *Sciaphila albescens*, *Soridium spruceanum*, *Triuris hexophthalma* y *T. hyalina* (Rübsamen, 1986, en: Maas y Rübsamen, 1986).

Engler (1909, en: Maas y Rübsamen, 1986) en *Sciaphila ledermannii* encuentra que la formación del endospermo es nuclear y después este tejido se vuelve celular. Además de almacenar reservas de celulosa en las paredes del endospermo que se engrosan fuertemente al final del desarrollo, también se han observado sustancias protéicas y lipídicas en el interior de las células endospermicas cuando la semilla madura. Los depósitos de almidón también han sido encontrados en semillas inmaduras de varias especies de *Triuris* (Rübsamen, 1986, en: Maas y Rübsamen, 1986).

En las Triuridaceae el embrión de la semilla madura es pequeño e indiferenciado. Consiste del cuerpo del embrión y un suspensor. En *Triuris mayor* se describe un embrión linear con 6 pares de células de cada lado sobre un suspensor unicelular (Poulsen, 1890, en: Maas y Rübsamen, 1986). En *Sciaphila*, *Soridium* y *Triuris*, el embrión llega a etapa globular (Engler, 1909; Johow, 1889, ambos en: Maas y Rübsamen, 1986).

En *Sciaphila albescens* se observó que antes de que el cuerpo del embrión comience a diferenciarse, se desarrolla una hilera de al menos 3 y hasta 7 células (Rübsamen, 1986, en: Maas y Rübsamen, 1986).

En la mayoría de los casos la testa se desarrolla de la capa interna del tegumento externo (endotesta), en otros de ambas capas (exo- y endotesta) como es el caso de *Sciaphila schwackeana* estudiada por Wirz (1910, en: Tomlinson, 1982). La testa consiste (excepto para la región de la "rafe") de células alargadas radialmente con paredes engrosadas características y algunas veces con depósitos de taninos (*Sciaphila* y *Soridium*), también se observaron en la mayoría de las células aplanadas de la capa externa del tegumento externo. En *Peltophyllum* y *Triuris*, la cubierta de la semilla consiste de una sola capa de células más o menos planas. En la semilla madura el tegumento interno desaparece completamente, excepto las células ricas en taninos que se localizan desde el final de la calaza hasta la cutícula media, adyacente al tejido del endospermo. La pared del fruto está reforzada por engrosamientos en forma de barra en las paredes radiales de la capa subepidérmica (Rübsamen, 1986, en: Maas y Rübsamen, 1986).

En las siguientes secciones se incluyen estudios cromosómicos en la familia Triuridaceae y *L. schismatica* con la finalidad de tener más elementos de comparación entre estos dos taxa.

## 2.7. ESTUDIOS CROMOSOMICOS

### 2.7.1. CROMOSOMAS EN LACANDONIACEAE

El número haploide de cromosomas de *L. schismatica* es  $n=9$ , de acuerdo a la determinación en células madres del polen en diacinesis, metafase I y anafase I y II (Davidse y Martínez, 1990). Ellos mencionan que en el complemento cromosómico de *L. schismatica* existen dos tamaños de cromosomas, 4 pares son grandes ( $8.3-12.0 \mu\text{m}$ , uno posiblemente metacéntrico y los otros tres acrocéntricos) y 5 pares son pequeños ( $4.6-6.4 \mu\text{m}$  tres pares metacéntricos y dos pares acrocéntricos).

### 2.7.2. CROMOSOMAS EN TRIURIDACEAE

Ohga y Sinoto (1924) mencionan que la posición sistemática de las Triuridaceae es incierta y que los estudios citológicos de números cromosómicos podrían ayudar en este sentido. Estos autores encuentran que en esta familia hay 3 tamaños de cromosomas con diferencias muy marcadas. El número haploide se contó en CMMi y CCMe ( $n=24$ ), el diploide en células somáticas de nucela ( $2n=48$ ) y en núcleos del endospermo un número triploide ( $3n=72$ ). La diferencia en forma y tamaño de los cromosomas es evidente, dividiéndolos en largos, intermedios y pequeños.

Green y Solbrig (1966) describen que el complemento gamético de algunas especies consiste  $2n=22$  cromosomas, de los cuales 3 pares son largos, 6 medianos y 2 son pequeños; varían en longitud de 17 a  $3 \mu\text{m}$ . Todos los cromosomas largos son subterminales, mientras que los pequeños y medianos son metacéntricos. Estos autores concluyen que el número cromosómico es  $n=11$  para *Sciaphila dolichostyla*,  $n=12$  para *Andruris japonica* y  $n=14$  para *Sciaphila thaidanica*.

## 2.8. ESTUDIOS SOBRE MICORRIZAS

### 2.8.1. MICORRIZAS EN TRIURIDACEAE

Aunque en *Lacandonia* no se han hecho estudios sobre



micorrizas, éstas se conocen en *Triuris alata*. También se han observado en *Sciaphila terella*, *Hexuris caudata*, *H. gardnerii* y *Triuris mayor* (Giesen, 1938, en: Maas y RübSamen, 1986), sugiriendo la posibilidad de que estén presentes en todas las especies de las Triuridaceae.

*Triuris mycoides*, al igual que otras saprófitas, presenta una constitución histológica sencilla, con su tejido vascular muy reducido tanto en tallo como en raíz (Fiebrig, 1921). Estas plantas requieren de la participación de los hongos, que funcionan como intermediarios entre el sustrato orgánico y la planta hospedera, llegando a formar una asociación de dependencia mutua. Las hifas forman masas en los tejidos absorbentes y su función semeja a la de una raíz.

Las micorrizas de *Sciaphila japonica* están formadas con *Dicranum japonicum*. Este hongo micorrízico es un endófito que se desarrolla en los tejidos de la corteza de la raíz (Ohga y Sinoto, 1924).

Dado que las Triuridaceae son plantas aclorófilas y por lo tanto incapaces de realizar la fotosíntesis, dependen totalmente de su asociación con hongos para obtener sus nutrimentos (Waechter, 1984). Por eso se consideran como parásitas que viven a costas de hongos.

## 2.9 ESTUDIOS COMPARATIVOS ENTRE *Triuris* y *Lacandonia*

Después de que se describió *L. schismatica*, se iniciaron algunos estudios comparativos de esta planta con *Triuris alata*.

*T. alata* es una especie de nuevo registro para la flora de la Selva Lacandona (Gómez y Martínez, 1992). Esta especie es una planta dioica, saprófita que anteriormente fue mencionada sólo para Brasil. Esta Triuridaceae vive en lugares sombreados y muy

húmedos, sobre la hojarasca o madera en descomposición, habitat parecido al de *L. schismatica*.

Agredano (1991) comparó, a nivel de microscopía electrónica de transmisión los núcleos interfásicos de *L. schismatica* y *T. alata*. Encuentra que su organización es muy semejante a la de otras monocotiledoneas por presentar una doble membrana nuclear interrumpida por poros, cromatina compacta formando un retículo en el nucleoplasma, un nucléolo con sus regiones características, "micropuffs" y cuerpos espiralados. Sin embargo, *L. schismatica* y *T. alata* discrepan de otras monocotiledoneas por presentar estructuras anulares, estructuras tipo complejo sinaptonémico en células somáticas, y por poseer en la región inter y pericromatínica abundantes gránulos con un tamaño intermedio entre los intercromatinianos.

Agredano propone que la similitud en la estructura de los núcleos de estas especies sugiere que conforman un grupo natural, pero que faltan estudios para ésto porque se desconoce si los gránulos son una característica privativa de *L. schismatica* y *T. alata* o si la comparten con grupos afines.

El segundo trabajo comparativo es el de Espinosa (1991), quien describe la anatomía reproductiva de las flores femeninas de *T. alata* y los resultados que obtiene los compara con los que se han descrito para *L. schismatica*. Menciona que la flor femenina de *T. alata* presenta 3 tépalos deltoides con ápices caudados inflexos en los botones florales, y el gineceo es apocárpico con una maduración asincrónica de los óvulos, los cuales son anátropos, bitégmicos y tenuinucelados. Observa que el desarrollo del ovario, óvulo y saco embrionario es similar al de las otras especies estudiadas de las Triuridaceae, algunas coinciden con las de *L. schismatica*. En su análisis histoquímico encuentra que el citoplasma de las células del endospermo presenta cuerpos protéicos como principal sustancia de reserva, también presenta en semilla madura polisacáridos insolubles.

## 2.10. TEORIA SOBRE EL ORIGEN DE LA FLOR DE *L. schismatica*

Recientemente se propusieron 2 posibles explicaciones para la morfología floral de *L. schismatica* (Stevens, 1991). Una de ellas es que el congestionamiento en las inflorescencias de plantas monoicas (con ambos sexos en flores separadas) de las Triuridaceae puede ser el progenitor de la flor de *L. schismatica*. En la segunda explicación este autor considera una variante monstruosa muy rápida.

El presente trabajo aporta información sobre la anatomía de los órganos vegetativos y el desarrollo de algunas estructuras reproductoras de *Lacandonia schismatica*. Compara estos hallazgos con los obtenidos en la familia Triuridaceae, que junto con Lacandoniaceae constituyen el orden Triuridales. Por ello se plantearon los siguientes objetivos:

### 3. OBJETIVOS

#### OBJETIVO GENERAL

Estudiar algunos aspectos estructurales e histoquímicos de *Lacandonia schismatica* (Lacandoniaceae).

#### OBJETIVOS PARTICULARES

- 1) Estudiar el desarrollo del megasporangio y la megasporogénesis de *L. schismatica*.
- 2) Estudiar la estructura e histoquímica del desarrollo de la diáspora de *L. schismatica*.
- 3) Estudiar la estructura de las micorrizas de *L. schismatica*.
- 4) Describir la anatomía de la raíz, rizoma y tallo aéreo de *L. schismatica*.

## 4. MATERIALES Y METODOS

### 4.1. COLECTA Y SEPARACION DEL MATERIAL

El material vegetal de *L. schismatica* se colectó en el Municipio de Ocosingo, Crucero Corozal al SE de Palenque, camino Boca Lacantum, sobre la carretera fronteriza del Sur (Selva Lacandona de Chiapas, México) en Julio de 1989 y Enero de 1990 (Mapa I.). Esta zona tiene una temperatura anual de 24.6 °C y una precipitación anual de 2609 mm. El sitio de colecta es una zona inundable, las plantas se encuentran creciendo bajo la hojarasca en lugares muy sombreados.

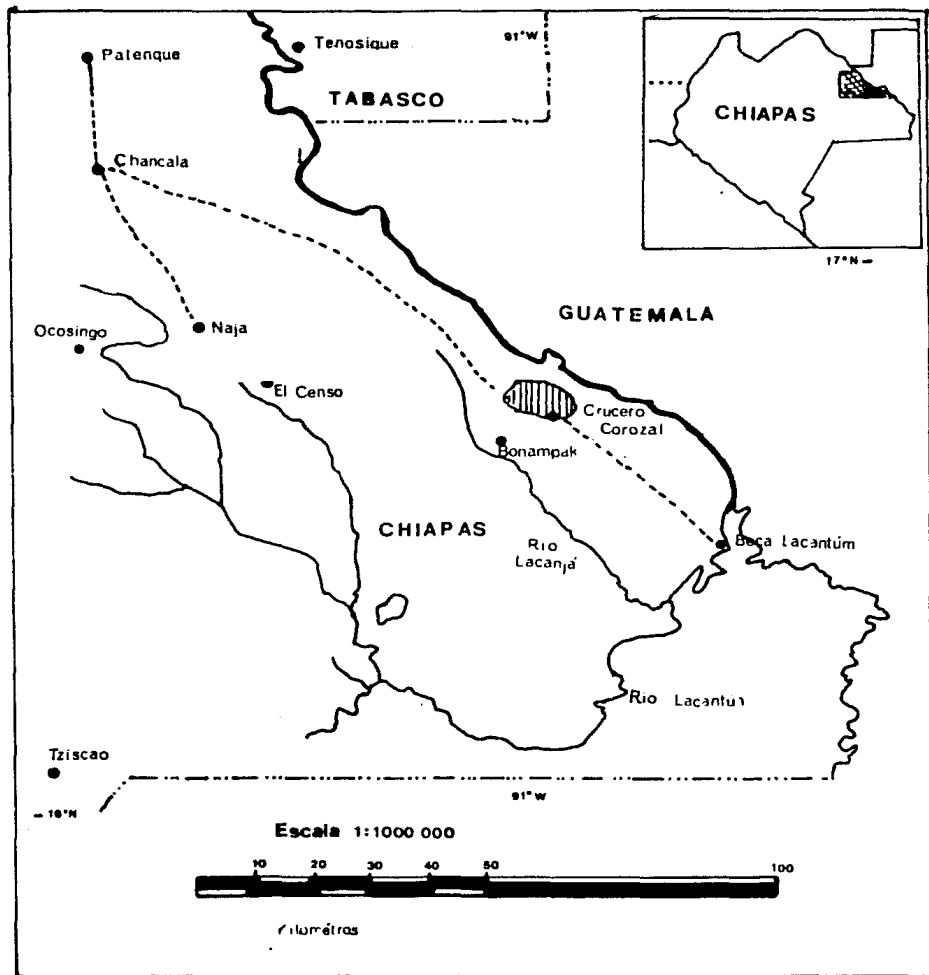
Parte del material colectado consistió de plantas completas con su propio sustrato, las cuales se transportaron al laboratorio dentro de una caja de cartón. La colecta se mantuvo húmeda y en obscuridad. Este material se utilizó posteriormente para la aplicación de pruebas histoquímicas en fresco.

La otra parte del material consistió de plantas completas así como de botones florales, flores en antesis y frutos en diferentes etapas de desarrollo, los cuales se cortaron (excepto los frutos) y se separaron por tamaño y color; las raíces, tallos aéreos y rizomas también se cortaron en pequeños fragmentos. El material se fijó en el mismo sitio de colecta.

### 4.2. FIJACION

Se utilizaron tres fijadores:

- a) FAA (formalina, ácido acético, etanol 96%, agua; 2:1:10:7).
- b) glutaraldehído 5% + paraformaldehído 4 % en amortiguador de S colidina (0.1 M, pH 7.2) a una temperatura aproximada de 4°C, durante 8 h. Este material se lavó en amortiguador de colidina 0.05 M con sacarosa (0.06 M). Parte del material se postfijó en tetraóxido de osmio al 1% durante 30 min para ser incluido en Epon 812 para la morfología interna.



Mapa 1.- Localización de

L. schismatica

c) etanol 70%. Este material se utilizó para algunas pruebas histoquímicas.

El material fijado en FAA y glutaraldehído + paraformaldehído se incluyó en tres materiales diferentes: paraplast, JB-4 y Epon 812.

### 4.3. INCLUSION EN PARAFINA (PARAPLAST)

(Johansen, 1940).

- \* Muestras de material vegetal fijado en FAA, se lavaron en agua corriente durante 3 h,
- \* se deshidrataron en alcoholes etílicos graduales (50, 70, 90, 100 %), 2 h en cada cambio.
- \* se impregnaron gradualmente con paraplast en xilol como solvente en una proporción 1:1 y 2:1 durante 12 y 24 h respectivamente dentro de una estufa a 50 °C,
- \* posteriormente se impregnaron en paraplast puro durante 48 h y se solidificaron en moldes de plástico con paraplast puro.
- \* se obtuvieron cortes entre 8-10  $\mu\text{m}$  en un micrótopo de rotación American Optical 820, los cuales se utilizaron para dos diferentes propósitos: pruebas histoquímicas y tinción con safranina-verde fijo.

#### 4.3.1. PRUEBAS HISTOQUIMICAS

Se utilizaron cortes desparafinados y deshidratados. Estas pruebas permitieron evidenciar la naturaleza química de los diferentes tejidos.

#### A) AZUL DE ANILINA, UTILIZANDO MICROSCOPIA DE FLUORESCENCIA (Currier y Strugger, 1956)

Del material incluido en paraplast se obtuvieron cortes de 20-50  $\mu\text{m}$ , se desparafinaron e hidrataron y se montaron en una solución acuosa de azul de anilina al 0.005 %, pH 8.5 (se ajusta con amortiguador de fosfatos). En presencia de este colorante los cortes se observaron en un microscopio

de fluorescencia, utilizando un filtro de excitación azul en aproximadamente 500 nm para evidenciar la calosa de los tubos polínicos en color verde amarillento.

- B) MEZCLA MERCURICA DE AZUL DE BROMOFENOL (Mazia, et al., 1953)  
Tiñe de azul las proteínas.
- C) AZUL NEGRO DE NAFTOL (Fisher, 1968)  
Tiñen de azul las reservas protéicas.
- D) ROJO O DE ACEITE (E.M. Engleman, com. pers.)  
Tiñe de rojo los lípidos y cutículas.
- E) ACIDO PERYODICO + REACTIVO DE SCHIFF (APS) (E.M. Engleman, com. pers.)  
Tiñe a los polisacáridos insolubles de color rosa intenso.
- F) YODO-YODURO DE POTASIO I<sub>2</sub>KI (LUGOL) (Johansen, 1940)  
Tiñe de morado o café oscuro al almidón.
- G) PERMANGANATO DE POTASIO (KMnO<sub>4</sub>) (E.M. Engleman, com. pers.)  
Tiñe de color pardo oscuro los taninos y otros compuestos susceptibles a la oxidación.
- H) CLOROYODURO DE ZINC (Jensen, 1962)  
Tiñe la celulosa y hemicelulosa de azul, la lignina, cutina y suberina de amarillo o anaranjado.
- I) APS + AZUL NEGRO DE NAFTOL (E.M. Engleman, com. pers.)  
Esta tinción doble se utilizó en semilla madura para evidenciar los polisacáridos insolubles del endospermo, diferenciándolos de los cuerpos proteicos.

Nota: también se aplicaron pruebas histoquímicas en material fresco y en material fijado en etanol al 70% para corroborar si existe o no diferencia con el material fijado en FAA. Estos cortes fueron observados en microscopia de luz.



#### 4.3.2. TINCION DOBLE CON SAFRANINA-VERDE FIJO

- \* Del material incluido en paraplast, se hicieron cortes de 8-10  $\mu\text{m}$ ,
- \* se desparafinaron en xilol (3 cambios de 3 min cada uno),
- \* se hidrataron en soluciones graduales de alcohol etílico (100, 100, 96, 80, 70 y 50 %) 3 min en cada cambio,
- \* se tiñeron en safranina 1% en alcohol 50 % durante 30-45 min,
- \* se deshidrataron los cortes en soluciones graduales de alcohol etílico (50, 70, 80 y 96%),
- \* se agregaron unas gotas de verde fijo (0.03% en alcohol etílico 96%) sobre el corte durante 30-45 segundos,
- \* se deshidrataron en alcoholes etílicos graduales (96, 100 y 100 %), 3 min en cada cambio,
- \* se pararon por xileno (3 cambios de 3 min cada uno) y
- \* se montaron en bálsamo de Canadá.

#### 4.4. INCLUSION EN JB-4

(Valley, 1976)

- \* Se utilizaron piezas de 0.5 mm fijadas en FAA, se lavaron en agua corriente durante 3 h,
- \* se deshidrataron en acetonas graduales (30, 50, 70, 85, 100, 100 %), 1 h en cada cambio.
- \* se impregnaron (preinclusión) en una mezcla del componente A del JB-4 más el catalizador pero sin endurecedor,
- \* posteriormente se incluyó en JB-4 con catalizador en cápsulas de Beem y en ausencia de oxígeno,
- \* se obtuvieron cortes de 1-2  $\mu\text{m}$  de grosor con navajas de vidrio en un ultramicrotomo en un ultramicrotomo Sorvall MT2-B y se tiñeron con azul de toluidina, un colorante metacromático que tiñe diferencialmente los componentes celulares.
- \* Los cortes fueron observados en microscopio de luz.

#### 4.5. INCLUSION EN EPON 812

- \* Se utilizaron piezas de 0.5-3.0 mm fijadas en glutaraldehído 5%

- + paraformaldehido 4% en amortiguador de s-colidina 0.1 M, pH 7.2,
- \* se lavaron en amortiguador de colidina + sacarosa, 5 cambios de 10 min cada uno,
  - \* se postfijaron en osmio al 1% durante 30 min,
  - \* se lavaron nuevamente en amortiguador de colidina + sacarosa, 5 cambios de 10 min cada uno,
  - \* se deshidrataron con alcoholes etilicos en soluciones graduales de 50, 70, 80, 90, 100 y 100%, 30 min en cada cambio,
  - \* se pasaron por óxido de propileno, 2 cambios de 15 min cada uno,
  - \* las muestras se preincluyeron en una mezcla de óxido de propileno + Epon 812 1:1 en frascos sellados durante 8 h a temperatura ambiente,
  - \* después en óxido de propileno + Epon 812 1:2 durante 12 h, en Epon 812 puro por 24 h y finalmente se incluyeron en Epon 812 en moldes de plástico blando orientando las muestras con la ayuda de un microscopio estereoscópico.
  - \* Los moldes se colocaron en una estufa de polimerización a 60 °C durante 48 h.

#### 4.5.1. MICROSCOPIA DE LUZ

La inclusión en este plástico tuvo la finalidad de obtener cortes semifinos (1-2  $\mu\text{m}$ ) en un ultramicrotomo Sorvall MT2-B y teñirse con azul de toluidina para observarse al microscopio de luz.

#### 4.5.2. MICROSCOPIA ELECTRONICA DE TRANSMISION

De las muestras incluidas en este plástico también se obtuvieron cortes ultrafinos (dorados) en un ultramicrotomo Sorvall MT2-B con navajas de vidrio, los cuales se colectaron en rejillas de cobre cubiertas con una película de formvar. Los cortes se contrastaron con acetato de uranilo (2 minutos) y citrato de plomo (3 min) y se observaron en un microscopio electrónico de transmisión Zeiss EM-9.

#### 4.6. MICROSCOPIA ELECTRONICA DE BARRIDO

Algunas muestras de frutos fijadas en glutaraldehido + paraformaldehido se deshidrataron en acetonas graduales y se desecaron a punto crítico, se pegaron en un portamuestras con adhesivo de plata y se recubrieron con oro para su observación en un microscopio electrónico de barrido JEOL JMS-35.

#### 4.7. TECNICA PARA MICORRIZAS

(Phillps y Hayman, 1970)

Se utilizaron raíces de *L. schismatica* en fresco, con la siguiente metodología:

- \* las raíces se lavaron con agua destilada,
- \* se hierven en KOH 10% durante 30 min aproximadamente hasta que las raíces estén blandas. El KOH se utiliza para aclarar el citoplasma, núcleo y pigmentos de las raíces.
- \* se colocan en HCl 2% por 10 min para neutralizar el KOH y facilitar la penetración del colorante,
- \* se colocan en azul de tripano 0.05% (0.05 g de colorante en 100 ml de una solución de ácido láctico:glicerina:agua destilada 1:1:1) durante 3 h,
- \* se lavan con agua destilada para remover el exceso de colorante,
- \* las preparaciones se montan con alcohol polivinílico (alcohol polivinílico 0.83 g: ácido láctico 5 ml: agua destilada 5 ml: glicerina 5 ml) y se observaron en microscopia de luz.

#### 4.8. DISOCIACION DE TEJIDO VASCULAR

Es un método que consiste en disolver la lámina media y separar a las células que constituyen el tejido vascular para observar su forma y dimensiones completas.

- \* Se utilizaron muestras de raíz, tallo aéreo y rizoma fijadas en FAA,
- \* se enjuagaron por 3 h en agua de la llave y se colocaron en una solución de hipoclorito de sodio (NaOCl) al 2% a temperatura

ambiente durante 2 h, posteriormente se lavaron y montaron en jalea glicerizada.

Algunas muestras se colocaron en KOH al 5% durante 3 h, se separaron las células y se montaron en jalea glicerizada.

#### 4.9. FOTOMICROSCOPIA

Una vez seleccionadas las preparaciones se fotografiaron para ilustrar las secuencias del desarrollo de semillas y frutos y la morfología, estructura y ultraestructura de los órganos vegetativos y reproductivos de *L. schismatica*.

## 5. RESULTADOS

### 5.1. MORFOLOGIA EXTERNA

*Lacandonia schismatica* se encontró creciendo sobre materia orgánica en descomposición (Fig. 1) bajo la hojarasca en la selva Lacandona de Chiapas. Presenta un rizoma de cuyos nudos emergen raíces filiformes y tallos aéreos que terminan en inflorescencias de crecimiento simpodial (Fig. 2). Los tallos carecen de hojas, los únicos apéndices son las escamas que cubren los botones florales (Fig. 3). La flor en antesis muestra las tres anteras localizadas en el centro del receptáculo, rodeadas por el gineceo apocárpico (Fig. 4). Conforme la flor va abriendo, las caudas terminales de los tépalos se van extendiendo (Fig. 5). Las raíces carecen de pelos radicales (Fig. 6).

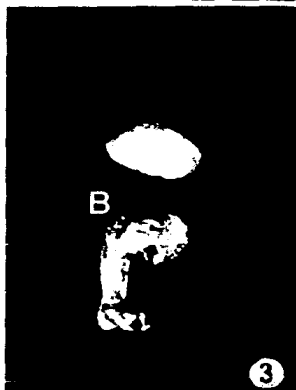
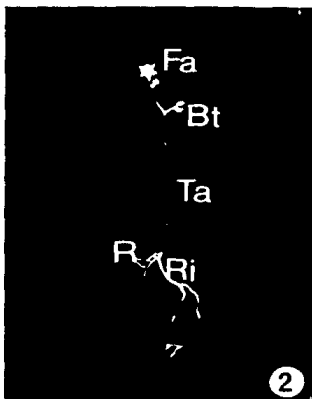
### 5.2. ANATOMIA REPRODUCTIVA

El botón floral de *Lacandonia schismatica* al principio de su ontogenia consta de un tejido meristemático cubierto por una bráctea de dos estratos celulares. Las células de la bráctea son alargadas. En esa yema floral surgen los primordios de los tépalos, los cuales rodean el tejido meristemático. Las células de la protodermis son aplanadas periclinalmente. Las células del meristemo fundamental son isodiamétricas y pequeñas (Fig. 7).

Durante la ontogenia en el meristemo floral un crecimiento diferencial conduce a la aparición de varios promontorios

LAMINA I. Figuras 1-6: Morfología externa. Figura 1: hábitat. Figura 2: Una planta completa mostrando los tres órganos vegetativos, botones florales y flor en antesis. Figura 3: botones florales en diferentes etapas de maduración. Figura 4: Flor madura. Figura 5: flor un poco después de iniciada la antesis con caudas reflexas aún. Figura 6: rizoma mostrando las raíces filiformes no pubescentes.

(B, bráctea; Bt, botón floral; Cr, cauda reflexa; Fa, flor en antesis; R, raíz; Ri, rizoma; Ta, tallo aéreo).



celulares. Los que se ubican en la periferia del receptáculo son los primordios de los ovarios (Fig. 8) y se distinguen por ser de menor tamaño y más tardíos que los primordios de las anteras ubicados en el centro del receptáculo (Fig. 9).

#### 5.2.1. ONTOGENIA DEL OVARIO Y OVULO

La diferenciación del androceo es más rápida que la del gineceo. Cuando en las anteras aparecen las tétradas de las microsporas, en los primordios de los ovarios la nucela apenas inicia su levantamiento del receptáculo y se encuentra rodeada por el primordio carpelar (Figs. 10 y 11). Las células de la nucela son isodiamétricas y pequeñas en comparación con las del primordio carpelar, que son más alargadas. Los ovarios se disponen por pares, es decir, se forman uno frente al otro (Fig. 11).

Del tejido nucelar y en posición hipodérmica, una célula arquesporial comienza a diferenciarse de las células adyacentes por su mayor tamaño y citoplasma más denso, indicando que tiene una mayor actividad metabólica (Fig. 12).

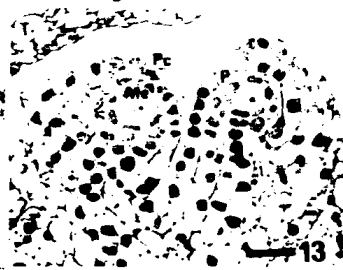
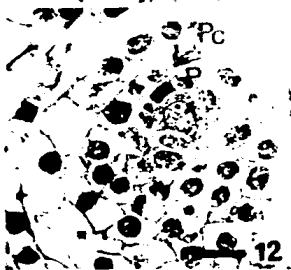
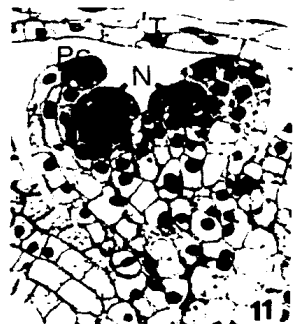
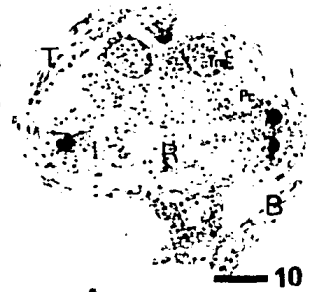
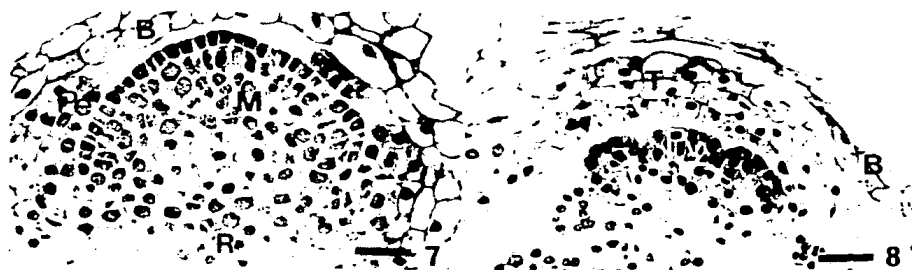
La célula arquesporial no sufre ninguna división mitótica, su núcleo se hace más evidente y funciona directamente como célula madre de la megaspora, la cual se encuentra rodeada por un estrato de células nucelares pequeñas y alargadas.

Se observa que la curvatura del óvulo es en sentido contrario al carpelo del ovario que se está formando frente a él (Fig. 13).



LAMINA II. Figuras 7-14: Inicio de la diferenciación en el botón floral hasta célula madre de la megaspora. Figura 7: corte longitudinal mediano de botón floral mostrando los primordios de los tépalos. Figura 8: corte longitudinal no mediano mostrando los primordios de los ovarios. Figura 9: Primordios de las anteras en el ápice del receptáculo. Figura 10: corte longitudinal de botón floral con anteras en etapa de tétradas y surgimiento de los ovarios. Figura 11: surgimiento de la nucela en dos primordios de ovarios. Figura 12: célula arquesporial en posición hipodérmica. Figura 13: etapa de célula arquesporial en dos primordios de ovarios. Figura 14: célula madre de la megaspora, surgimiento tegumentario y mayor curvatura del óvulo.

(A, célula arquesporial; B, bráctea; C, carpelo; Me, célula madre de megaspora; M, meristemo; N, nucela; P, protodermis; Pa, primordios de anteras; Pc, primordio carpelar; Pe, primordios de los tépalos; Pv, primordios de los ovarios; R, receptáculo; T, tépalo; Ti, primordio del tegumento interno; Tm, tétradas de microsporas).



La nucela comienza a curvarse y va hundiéndose bajo el primordio del tegumento interno que surge del tejido nucelar en este momento. El primordio carpelar crece en sentido contrario a la curvatura del óvulo, de tal manera que lo va rodeando (Fig. 14).

Cuando la curvatura del óvulo es mayor de  $90^\circ$  el núcleo de la célula madre de la megaspora sufre su primera división meiótica sin la formación de nueva pared celular. En este momento se manifiesta el segundo primordio tegumentario (el externo). En cada uno de los tegumentos se observan dos estratos celulares.

El carpelo sigue rodeando el óvulo y alcanza el tejido del receptáculo en el lado opuesto al que inició su desarrollo, muy cercano al sitio de donde surgió la nucela. De esta manera se completa el desarrollo de un ovario unilocular que alberga un sólo óvulo (Fig. 15). En esta etapa inicia el desarrollo del estilo (Fig. 16). La meiosis II tiene lugar (Fig. 17), resultando una tétrada de núcleos megasporicos rodeada por nucela (Fig. 18).

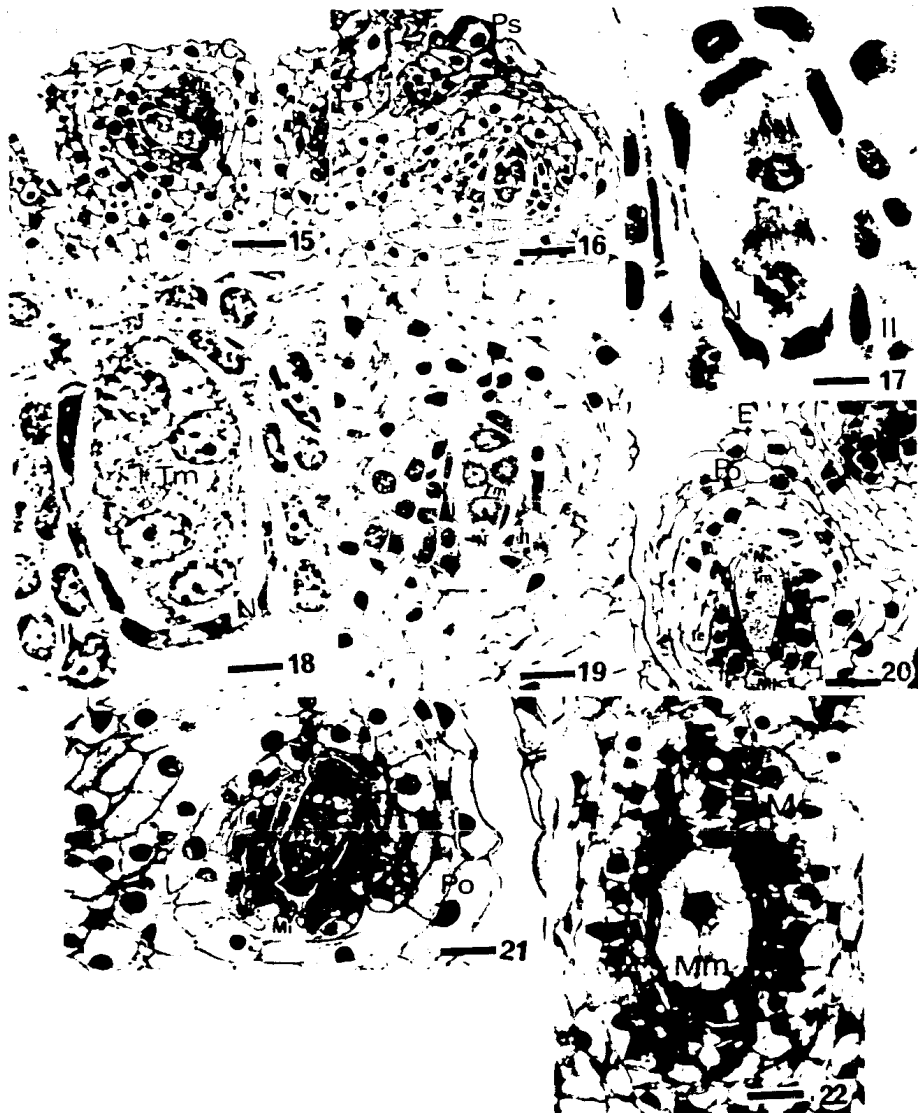
Los primordios tegumentarios tienen un crecimiento diferencial ya que en la parte donde este óvulo en formación se une a la placenta es menor el crecimiento de acuerdo con la curvatura (Fig. 19). El tegumento interno se desarrolla más rápido y rodea la nucela, dejando abierto sólo un pequeño canal, el futuro micrópilo (Fig. 20).

#### 5.2.1.1. DESARROLLO DEL GAMETOFITO FEMENINO (SACO EMBRIONARIO)

Los núcleos megasporicos se acomodan en una línea y entre

LAMINA III. Figuras 15-22: Meiosis de la célula madre de la megaspora. Figura 15: meiosis I de la célula madre de la megaspora, surgimiento del segundo tegumento y unión del carpelo a la placenta (flecha). Figura 16: surgimiento del estilo. Figuras 17-18: meiosis II. Figura 19: tétrada joven de megaspora. Figura 20: formación de micrópilo. Figura 21: vista lateral de la tétrada de megaspora, se observa el crecimiento diferencial de los tegumentos y degeneración de la nucela. Figura 22: Tétrada lineal y celular, degeneración de las megasporas calazales.

(C, carpelo; E, estilo; Ie, tegumento externo; Ii, tegumento interno; Mc, megasporas calazales, Mi, micrópilo; Mm, megaspora micropilar; N, nucela; Po pared de ovario; Ps, primordio estilar; Tm, tétrada de megasporas; Tx, primordio del tegumento externo).



ellos se forman paredes celulares. La nucela es poco conspicua y el óvulo ha alcanzado su curvatura (Fig. 21).

Tres de las megasporas comienzan a degenerar, excepto la que se encuentra en posición micropilar (Fig. 22), la cual aumenta de tamaño. Su núcleo se prepara para dividirse indicando que es la única megaspora funcional que dará origen al saco embrionario (monospórico). La nucela se ha desintegrado (Fig. 22). Después de las tres cariocinesis del núcleo de la megaspora (Figs. 23 y 24), el resultado es un saco embrionario con ocho núcleos libres (Fig. 25) que al final del desarrollo se acomodan en siete células. Este desarrollo es de tipo normal o *Polygonum* (Fig. 26).

En un saco embrionario maduro y todavía en botón floral observamos hacia la zona calazal tres antípodas (Fig. 27). En el centro del saco y dentro de la célula central se encuentran los dos núcleos polares.

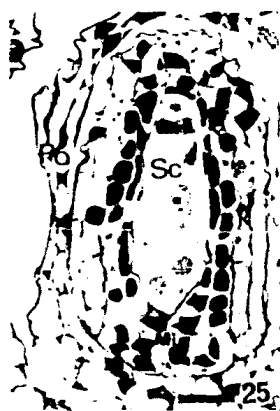
En el aparato ovocelular las dos sinérgidas son de apariencia triangular y la ovocélula se distingue por su gran tamaño, núcleo conspicuo orientado hacia la célula central y una gran vacuola localizada hacia la zona micropilar (Fig. 28).

### 5.2.2. ANTERA MADURA

El desarrollo de la antera fue descrito por Quiroz (1990). Nuestro estudio en el microsporangio inicia desde antera madura.

LAMINA IV. Figuras 23-28: Desarrollo del saco embrionario. Figura 23: saco embrionario con 4 núcleos visibles. Figura 24: saco embrionario con 6 núcleos visibles. Figura 25: saco embrionario octanuclear. Figura 26: megagametofito heptacelular y octanuclear. Figura 27: zona calazal mostrando las antípodas. Figura 28: aparato ovocelular y núcleos polares.

(An, antípodas; Ca, cálaza; Ie, tegumento externo; Ii, tegumento interno; Mi, micrópilo; Np, núcleos polares; O, ovocélula; Po, pared de ovario; S, sinérgidas; Sc, saco embrionario)





Un poco antes de la antesis las anteras se encuentran completamente formadas (Fig. 29). Son biesporangiadas y su pared está constituida por una epidermis y un endotecio en cuyas paredes celulares se observan engrosamientos en forma de banda. El estomio de forma linear se localiza en la parte interna de la antera (hacia el centro de la flor). En el estomio el endotecio es ausente y la epidermis es muy delgada (Fig. 30).

### 5.2.3. GAMETOFITO MASCULINO (grano de polen)

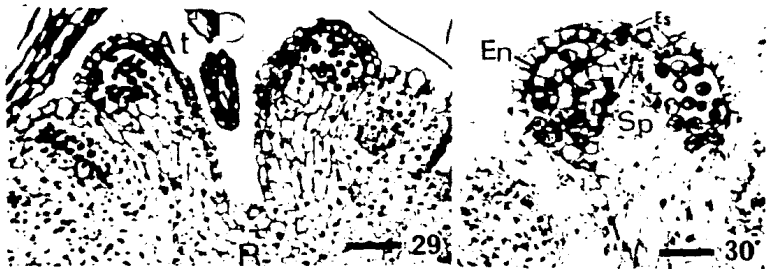
En la antera se encuentran los granos de polen maduros, tienen una exina delgada con apariencia granular. Estas granulaciones tienen una forma de estrella que se observa en cortes semifinos. Los granos de polen son inaperturados. Están formados por una célula vegetativa de gran tamaño con núcleo muy conspicuo y dos pequeñas células espermáticas (Fig. 30).

### 5.2.4. "POLINIZACION" Y FECUNDACION

En el interior de la antera y sin que se haya presentado la dehiscencia de ésta, los granos de polen comienzan a germinar, emitiendo cada uno de ellos, a través de su pared de exina, un tubo polínico (Figs. 31-33). Los tubos polínicos que emergen se dirigen hacia la parte proximal de la antera sésil y después hacia casi todo el tejido del receptáculo desplazándose entre las paredes de estas células (Figs. 34 y 35).

LAMINA V. Figuras 29-33: Germinación de los granos de polen dentro de la antera. Figura 29: corte longitudinal de botón floral con granos de polen maduros. Figura 30: corte longitudinal de antera madura mostrando parte del estomio indehiscente, los granos de polen triceulares. Figura 31: germinación de los granos de polen dentro del lóculo de la antera. Figura 32: granos de polen en germinación, cuyos tubos polínicos (flechas) contienen los núcleos espermáticos. Figura 33: pared del grano de polen y el contenido citoplásmico de los tubos polínicos (MET).

(At, anteras; Ba, base de la antera; Eg, exina granular; En, endotecio; Es, estomio; Ov, óvulo; Pp, pared del tubo polínico; Tp, tubo polínico; R, receptáculo; Sp, septo; Ce, células espermáticas; CV, célula vegetativa).



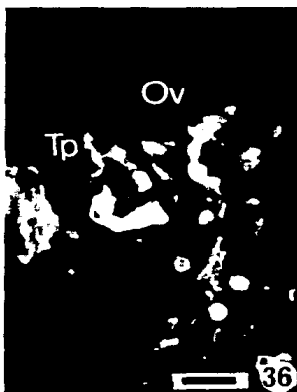
Después la ruta de los tubos polínicos cambia de dirección y ellos se dirigen hacia los óvulos (Fig. 36). Una vez que el tubo polínico llega al micrópilo entra al saco embrionario maduro a través de una de las sinérgidas (Figs. 37 y 38), descargando los dos núcleos espermáticos, uno de los cuales se une a la ovocélula (singamia) para formar el cigoto (Figs. 39 y 40) y la otra se fusiona con los dos núcleos polares (triple fusión) formando el núcleo primario del endospermo llevándose a cabo la "doble fecundación" que caracteriza las angiospermas. Se observó que los dos núcleos polares se fusionan entre ellos antes de que ocurra la triple fusión (Fig. 40). La sinérgida a la cual llega el tubo polínico se desintegra, mientras que la otra persiste después de que ocurre la fecundación hasta las primeras etapas de desarrollo del endospermo (Fig. 42).

En todos los ejemplares revisados nunca se observaron anteras abiertas a pesar de que se presenta una línea de dehiscencia. Después de la antesis sólo se encontraron restos de las paredes de exina de los granos de polen germinados en el interior de las anteras. No se encontró ningún grano de polen sin germinar (Figs. 67-69).

Los tubos polínicos que se ponen en contacto con la pared de la antera se dirigen hacia la base, pero nunca atraviesan las paredes. Tampoco se encontraron tubos polínicos en el estilo o región estigmática. La antesis se presenta después de que en diferentes óvulos se ha realizado la fecundación.

LAMINA VI. Figuras: 34-42: Fecundación. Figura 34: microscopía de fluorescencia mostrando los tubos polínicos (flechas) en la base de la antera y el receptáculo. 35: Un tubo polínico entre las células del receptáculo. Figura 36: microscopía de fluorescencia mostrando la llegada del tubo polínico al micrópilo. Figura 37: tubo polínico entrando por el micrópilo y llegando a una de las sinérgidas. Figura 38: tubo polínico en una de las sinérgidas. Figura 39: fusión de los núcleos polares. Figura 40: acercamiento para mostrar la descarga del tubo polínico en una de las sinérgidas y la fusión de los núcleos polares. Figura 41: etapa de cigoto y cariocinesis del núcleo primario del endospermo, el endotegmen comienza a degenerar. Figura 42: endospermo nuclear, nótese la persistencia de una de las sinérgidas junto al cigoto, antípodas en degeneración.

(An, antípodas en degeneración; Ci, cigoto; Ed, endospermo nuclear; En, endotecio; Ie, tegumento externo; Ii, tegumento interno; Mi, micrópilo; Ne, núcleo espermático; Npf, núcleos polares fusionados; O, ovocélula; Ov, óvulo; Pf, pared del fruto; Po, pared de ovario; R, receptáculo; S, sinérgida; Te, testa; Tg, tegmen; Tp, tubo polínico).



### 5.2.5. EMBRIOGENESIS Y DESARROLLO DEL ENDOSPERMO

La fecundación da como resultado, un cigoto y un núcleo primario del endospermo que se divide antes que el cigoto (Fig. 41). En las primeras divisiones del endospermo y cigoto persiste aún una sinérgida y las antípodas comienzan a desintegrarse (Fig. 42).

La primera división del cigoto es transversal dando como resultado una célula basal y una apical (Fig. 43). El núcleo primario del endospermo sufre cariocinesis, lo que da lugar a un endospermo de desarrollo nuclear, acomodándose el citoplasma en la periferia del saco embrionario debido a la presencia de una gran vacuola central.

En el proembrión bicelular se presentan nuevas divisiones transversales, teniendo como resultado un proembrión de cuatro células. La formación de paredes en el endospermo comienza en la zona micropilar y avanza hacia la zona calazal en la cual se observa aún una gran vacuola (Fig. 44).

Las divisiones transversales en el proembrión continúan hasta formar un proembrión linear formado de seis células. En esta etapa las paredes del endospermo son delgadas y hay numerosas vacuolas (Figs. 45-49).

Posteriormente se presentan divisiones longitudinales en el proembrión observándose dos hileras de células (Fig. 50). Las células apicales presentan divisiones oblicuas, pero no precisamos la etapa de éstas. El embrión en semilla madura tiene

LAMINA VII. Figuras 43-51: Embriogénesis y desarrollo del endospermo. Figura 43: primera división del cigoto. Figura 44: proembrión con 4 células, obsérvese la división oblicua en las células cercanas al micrópilo; inicio de celularización del endospermo. Figura 45: endospermo celular pero con paredes delgadas, embrión linear de cuatro células. Figuras 46-48: acercamientos de embriones con divisiones transversales y endospermo con paredes delgadas y muchas vacuolas, nótese las cutículas. Figura 49: endospermo con paredes muy engrosadas; cutículas. Figura 50: embrión en vista lateral donde se muestran las divisiones longitudinales en las células del embrión. Figura 51: embrión en etapa de dispersión de semilla. (Cu, cutícula; Ec, endospermo celular; Ed, endospermo nuclear; Em, embrión; Et, endotesta; Pr, proembrión; Pf, pared del fruto; Xt, exotesta)





la parte apical ensanchada. Está formado por más de 12 células y se encuentra rodeado por un endospermo de células de mayor tamaño con un citoplasma que contiene una gran cantidad de reservas y las paredes celulares muy engrosadas (Fig. 51).

#### 5.2.6. ONTOGENIA DEL PERICARPIO Y DE LA CUBIERTA SEMINAL

Cuando surgen los dos tegumentos del óvulo, ambos son biestratificados (Fig. 19), pero durante el desarrollo, cuando el óvulo es completamente anátropo, el tegumento externo tiene de tres a cuatro estratos en la zona donde se une a la placenta (Figs. 52, 57 y 58). En el lado opuesto permanece con dos (Figs. 52, 59 y 60). Ambos tegumentos mantienen este número de estratos hasta el momento de la fecundación. Llamaremos a partir de este momento tegmen al tegumento interno y testa al externo.

La testa está dividida en exotesta y endotesta, el tegmen en exotegmen y endotegmen.

Poco después de que el endospermo presenta sus primeras divisiones nucleares, el endotegmen se desintegra (Fig. 53); después de la división del cigoto comienza a desintegrarse el exotegmen (Fig. 54). Por eso la cubierta de la semilla se forma de la exotesta y endotesta. Las células de la testa que se encuentran en la zona micropilar se alargan perpendicularmente a la superficie, ocupando así el espacio que dejó el tegmen al degradarse y obliterando al micrópilo después de que ha ocurrido la fecundación, permanece de esta manera en la semilla madura

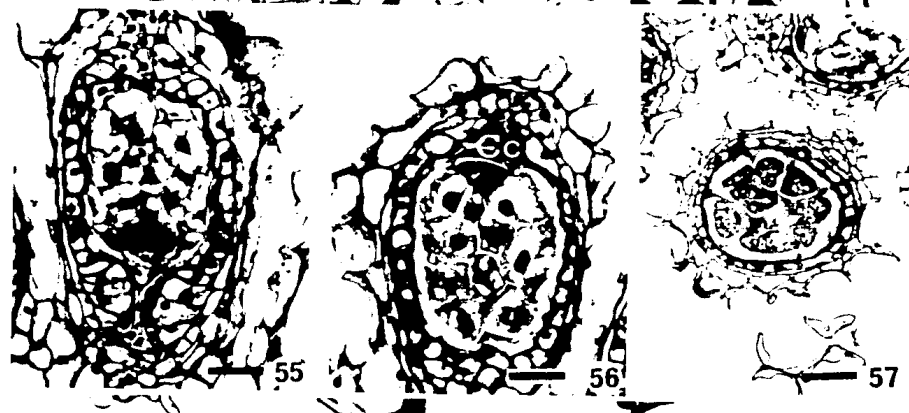
(Fig. 55). Se observa en la zona calazal un acúmulo celular que forma una protuberancia, el capuchón calazal (Fig. 56).

En cortes transversales de frutos a nivel un poco arriba del embrión, se observan los estratos de la meso- y exotesta, en estos cortes se puede notar que las células de la endotesta son de mayor tamaño que las de la exotesta y en su lúmen se presentan algunas inclusiones (Figs. 57-60). Se observan dos capas cuticulares que separan el endospermo de la testa, la que se adosa al endospermo corresponde a la cutícula nucelar y la que se encuentra junto a la endotesta es la intertegumentaria (Figs. 46-48).

La pared del fruto desde el inicio de la ontogenia del carpelo está formado por dos capas celulares. La más externa consta de células grandes con paredes muy delgadas. Las paredes periclinales externas presentan depresiones en forma de U y recibe el nombre de epicarpio. La capa interna o endocarpio. consta de células alargadas y aplanadas con paredes delgadas y núcleos muy pequeños al igual que las del epicarpio. Ambas capas permanecen de esta manera hasta la dispersión del fruto (Figs. 58-60). El estilo persistente en el fruto maduro. Es un estilo sólido, de 2-3 células de grosor y carente de estigma. El fruto es la unidad de dispersión de *L. schismatica* y contiene en su interior una sola semilla, la testa está constituida por dos capas celulares (exotesta y endotesta), contiene un embrión poco desarrollado inmerso en un endospermo abundante con muchas reservas tanto en el lumen como en sus paredes.

LAMINA VIII. Figuras 52-60: Desarrollo de testa. Figura 52: tegumentos biestratificados. Figura 53: corte mediano de óvulo mostrando los cuatro estratos del tegumento externo en el lado del hilo de la semilla. Figura 54: degradación del endotegmen. Figura 55: inicio de la degradación del exotegmen. Figura 56: corte transmediano de semilla mostrando la endo- y exotesta. Figura 57: corte transmediano de semilla mostrando el capuchón calazal. Figura 58: corte transversal de fruto mostrando la diferencia entre los estratos de la exotesta. Figura 59: acercamiento de la figura 58 en el hilo joven, note los estratos de la exotesta y los taninos en la endotesta. Figura 60: acercamiento de la figura 58 en la zona opuesta al hilo.

(Cc, capuchón calazal; Dp, endocarpio; Eg, exotegmen; Et, endotesta; Ie, tegumento externo; Ig, endotegmen; Ii, tegumento interno; Pe, pericarpio; Xt, exotesta)



Cuando el fruto se encuentra maduro y listo para dispersarse, las células de la pared del ovario con las que se une al receptáculo, comienzan a esclerosarse para permitir el desprendimiento de la diáspora (Fig. 64).

#### 5.2.7. HISTOQUIMICA

##### 1) Azul de anilina

La fluorescencia para calosa fue positiva en los tubos polínicos (Figs. 34, 36).

##### 2) Acido peryódico - reactivo de Schiff (APS)

Esta prueba fue positiva para polisacáridos insolubles en las paredes celulares durante todo el desarrollo del óvulo hasta semilla madura (Fig. 63). En etapa de primera división del cigoto la tinción fue positiva en el lumen de las células de exotesta, en el endospermo en etapa nuclear y mucho mayor cuando las paredes celulares del endospermo son aún delgadas (Fig. 61), disminuyendo en la etapa de semilla madura (en ésta última ya no hay almidón en las células de la exotesta sino en la endotesta) (Fig. 62).

Fue positiva también en los engrosamientos de la pared de las células que mantienen en contacto al fruto con el receptáculo.

##### 3) Rojo O de aceite

Esta reacción fue positiva en las cutículas nucelar e intertegumentaria en semilla madura.

#### **4) Azul Negro de Naftol**

Con este colorante la reacción fue positiva para lípidos en la cutícula nucelar e intertegumentaria.

#### **5) Permanganato de Potasio**

La reacción café oscuro que indica la presencia de taninos u otras sustancias reductoras fue positiva en el citoplasma y paredes de las células de la endotesta. La presencia de estos taninos se detectó también en color amarillo-pardo sin tinción (Fig. 63).

#### **6) Mezcla mercurica de Bromofenol y azul negro de Naftol**

La reacción positiva para proteínas con estos colorantes se manifestó en todos los núcleos y en las células del endospermo desde etapa nuclear. Sin embargo la mayor cantidad de cuerpos proteicos se presentó en etapa de endospermo maduro.

#### **7) APS - Azul negro de Naftol**

Esta prueba doble permitió evaluar cualitativamente la proporción de proteínas y polisacáridos insolubles durante el desarrollo del endospermo. En etapa nuclear la cantidad de polisacáridos insolubles (almidón) es considerablemente alta en comparación con la de proteínas. Los polisacáridos también están presentes en las células de la endotesta, mientras que las proteínas no se encuentran en este sitio. Cuando el endospermo se celulariza la cantidad de proteínas y almidón aumenta considerablemente en las células del endospermo (Fig. 62), pero este último disminuye casi por completo en endotesta.

LAMINA IX. Figuras 61-66: Histoquímica de testa y endospermo. Figuras 67-69: anteras persistentes en el receptáculo. Figura 61: corte longitudinal de semilla joven mostrando los granos de almidón en el endospermo (tinción con APS). Figura 62: granos de almidón y cuerpos proteicos en las células del endospermo, almidón en endotesta (tinción con APS y azul negro de naftol). Figura 63: taninos en algunas células de endotesta (flechas), celulosa en paredes de endospermo. Figura 64: corte transmediano de fruto mostrando esclerosamiento de la base del pericarpio (flecha). Figuras 65: corte longitudinal de fruto mostrando las reservas del endospermo (MEB). Figura 66: acercamiento de la fig. 65. Figuras 67-68: dos etapas de anteras persistentes que muestran el estomio cerrado y en su interior las paredes de los granos de polen que germinaron (flechas). Figura 69: paredes de los granos de polen (MET). (En, endotecio; Es, estomio; Ga, granos de almidón; Pt, proteínas; Sp, septo; Tn, taninos; Et, endotesta; Xt, exotesta).





61



62



63



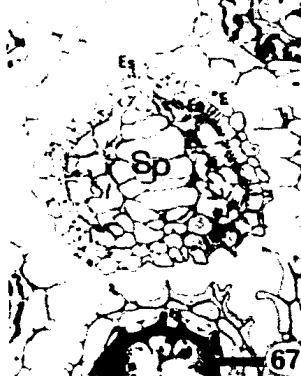
64



65



66



67



68



69

En etapas de semilla madura la cantidad de polisacáridos es muy alta en las paredes del endospermo y baja en el citoplasma, en esta etapa la cantidad de cuerpos protéicos aumenta drásticamente (Fig. 64).

#### 8) Lugol

La aplicación de esta prueba para evidenciar almidón fue positiva, lo cual nos lleva a concluir que los polisacáridos insolubles que se detectaron con APS en el interior de la células de testa y endospermo, son granos de almidón.

### 5.3. ANATOMIA VEGETATIVA

Los tres órganos vegetativos estudiados de *Lacandonia schismatica* fueron la raíz, el tallo aéreo y el rizoma, en estos órganos se encuentran representados los tres sistemas básicos de tejidos: dérmico, fundamental y vascular. A simple vista se observa que la raíz es de color oscuro debido a las hifas micorrízicas en el interior, distinguiéndose del rizoma y tallo aéreo porque éstos carecen de hifas.

#### 5.3.1. RAIZ

*Lacandonia schismatica* presenta raíces filiformes de apariencia fibrosa que salen del rizoma. Sus células se asocian con hongos, formando micorrizas. Sólo presentan crecimiento primario y carecen de raíces laterales.

Su estructura primaria en corte transversal presenta de afuera hacia adentro:

Una epidermis de células parenquimáticas cuyas paredes periclinales externas, así como las anticlinales, presentan depresiones y levantamientos, dándoles una forma irregular, probablemente con el fin de aumentar la superficie de absorción, en algunas ocasiones las prolongaciones son tan pronunciadas que toman la apariencia de tricomas, tampoco se observó la presencia de pelos absorbentes (Fig. 70). En algunos cortes se observaron hifas entre las paredes de las células epidérmicas.

La corteza consta de tres capas celulares: la exodermis, "corteza media" y endodermis.

a) La exodermis se ubica por abajo de la epidermis, es uniestratificada y discontinua. Sus células son de paredes delgadas, excepto las periclinales externas, las cuales presentan un engrosamiento secundario uniforme. Tienen una forma casi cuadrada. La exodermis carece de hifas micorrízicas (Fig. 70).

b) El término "corteza media" implica que no están involucradas ni la exodermis ni la endodermis. Está formada por tres estratos celulares. Los dos estratos más externos son de células grandes, de forma casi isodiamétrica, con paredes delgadas, con muchos espacios intercelulares y con una gran cantidad de hifas micorrízicas en su interior. El segundo estrato está formado por células de tamaño medio y también presenta hifas en su interior. El tercer estrato está formado por células pequeñas en las cuales las hifas micorrízicas están ausentes.

c) endodermis, está formada por células pequeñas de forma rectangular y sin espacios intercelulares. Sus paredes tangenciales externas presentan engrosamientos. En las paredes radiales y transversales primarias se observan espesamientos, las bandas de Caspary (Figs. 72 y 73). Cada célula de la endodermis forma una hilera radial con células de la corteza media.

#### CILINDRO CENTRAL

El cilindro central es pequeño y comprende el tejido vascular y el periciclo. La distribución del tejido vascular de la raíz es muy simple. El periciclo (Figs. 71, 72) es uniestratificado de células parenquimáticas. El xilema tiene generalmente un solo elemento traqueal (Figs. 72); sin embargo en la zona donde éstos se unen lateralmente pueden observarse 2 ó 3 elementos traqueales. El floema tiene 1 ó 2 elementos cribosos y una célula acompañante (Fig. 72).

El elemento traqueal tiene engrosamientos de pared secundaria de forma reticulada, un elemento se une a otro tangencialmente.

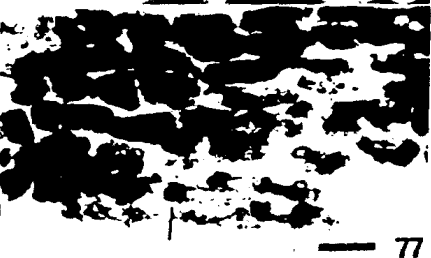
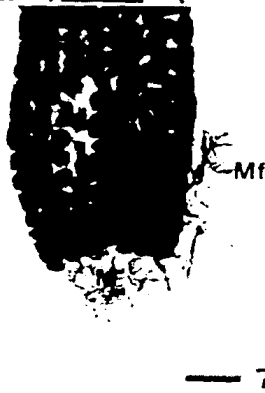
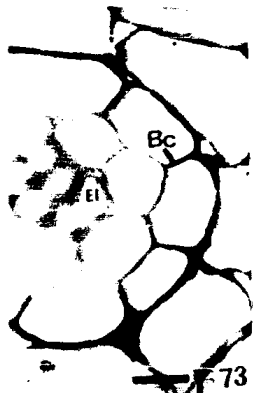
#### 5.3.1.1. MICORRIZAS

En el material procesado con azul de tripano se observó que las hifas no penetran en la zona meristemática, sino un poco mas arriba (Fig. 74).

Estas hifas se observan penetrando en determinados sitios de la raíz entre las paredes de algunas células epidérmicas. Nunca se observaron hifas en la exodermis.

LAMINA X. Figuras 70-77: Estructura de raíz. Figura 70: cortetransversal de raíz mostrando los dos estratos de la corteza con hifas micorrízicas, obsérvense las vesículas. Figura 71: parte interna de la corteza y cilindro central. Figura 72: otra vista semejante a la fig. 71. Figura 73: acercamiento de la fig. 72 mostrando las bandas de Caspary en la endodermis. Figura 74: raíz teñida con azul de tripano mostrando que las hifas llegan muy cerca del meristemo apical. Figura 75: acercamiento de hifas del manto fúngico. Figura 76: raíz teñida con azul de tripano mostrando hifas enrolladas en el interior de la corteza y esporas (flechas). Figura 77: raíz teñida con azul de tripano mostrando vesículas en el interior de la corteza (flechas).

(Bc, bandas de Caspary; Ci, corteza interna; Co, corteza; Ed, endodermis; El, elemento traqueal; Ep, epidermis; Eq, elemento criboso; Es, espora; Ex, exodermis; H, hifas; M, meristemo; Mf, manto fúngico; P, periciclo; V, vesícula).



En los dos estratos ubicados bajo la exodermis las hifas penetran al interior de sus células y se enrollan formando madejas u ovillos que llenan casi todo en interior celular y se tiñen densamente (Fig. 74 y 80).

Se trata de endomicorrizas ya que tienen muy pocas hifas alrededor de la raíz (Fig. 75), la mayoría de ellas invade el interior de las células corticales y forman diferentes estructuras dentro de las células corticales, a) vesículas que cubren en algunas ocasiones el diámetro menor de la célula vista en corte transversal y b) hifas enrolladas (madejas u espirales). No se observaron arbusculos (proyecciones dicotómicas de las hifas). Sin embargo, se puede considerar que las endomicorrizas son del tipo vesículo-arbuscular (Figs. 70, 77 y 79).

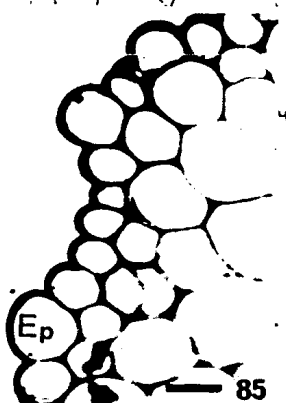
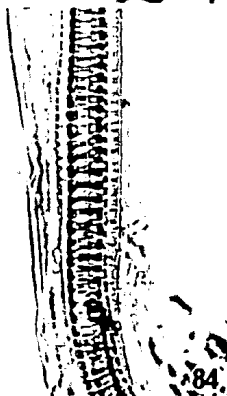
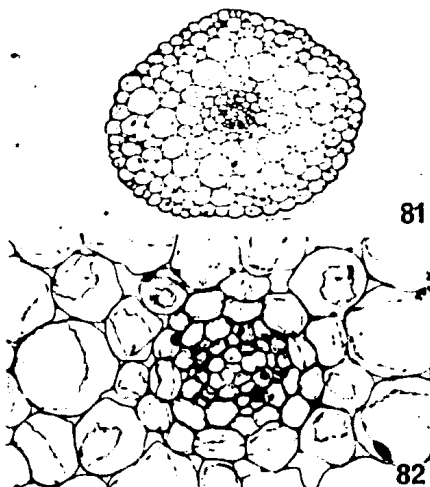
También se observaron esporas sobre la superficie de la raíz (Figs. 76 y 78).

### 5.3.2. RIZOMA

La epidermis consta de células parenquimáticas de diferentes tamaños, cuya superficie presenta una cutícula. La corteza presenta células parenquimáticas que dejan espacios intercelulares. Está formada por 4-5 estratos celulares sin micorrizas (Fig. 81). El más interno corresponde a la endodermis, la cual no presenta engrosamientos secundarios ni en las paredes tangenciales externas ni internas, sus células son de tamaño y forma irregular, pero menos variables que las del tallo aéreo. En

LAMINA XI. Figuras 78-80: Micorrizas. Figuras 81-84: Rizoma. Figura 78: mayor aumento de las esporas. Figura 79: mayor aumento de las vesículas. Figura 80: hifas intra e intercelulares en la corteza (MET). Figura: 81: corte transversal de rizoma. Figura 82: corte transversal de rizoma mostrando la endodermis y cilindro central. Figura 83: corte longitudinal de rizoma mostrando elementos traqueales con engrosamientos reticulares. Figura 84: material disociado de rizoma mostrando elementos traqueales. Figura 85: Corte transversal de tallo aéreo mostrando la epidermis y parte de la corteza. (Co, corteza; Ep, epidermis; Es; espora; Hi, hifa intracelular; Ht, hifa intercelular V; vesícula).





las paredes radiales y transversales se observan bandas de Caspary (Fig. 82).

En el cilindro central el periciclo es uniestratificado, de células parenquimáticas, sin espacios intercelulares. El xilema forma un cuerpo central. El floema es externo al xilema (Fig. 82).

Los elementos traqueales tienen engrosamientos reticulares (Fig. 83) y helicoidales (Fig. 84).

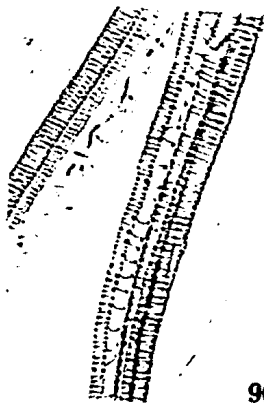
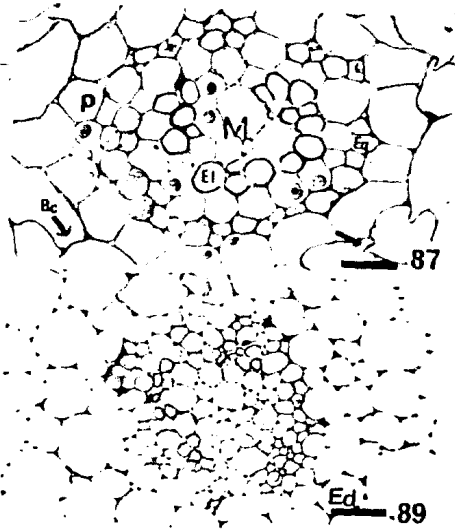
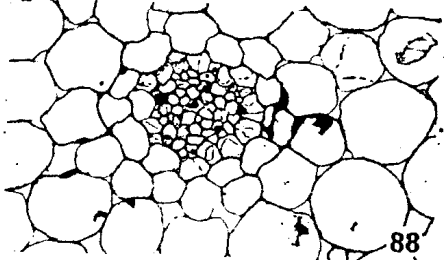
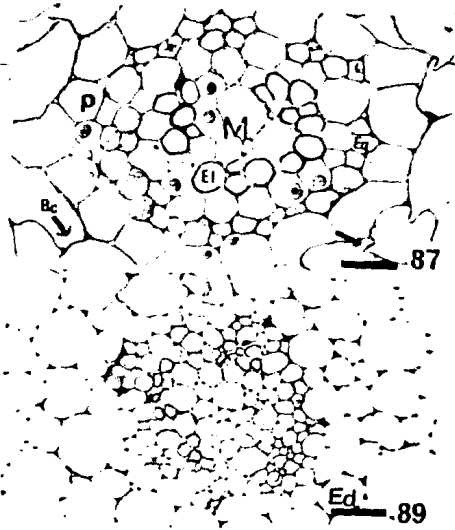
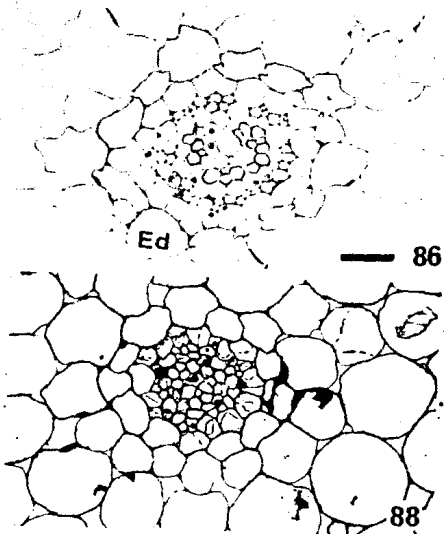
### 5.3.3. TALLO AEREO

En diámetro el tallo aéreo es mucho mayor que la raíz. La epidermis uniestratificada consta de parénquima cubierto de cutícula. No se observaron tricomas ni estomas. La corteza forma el volumen mayor de este órgano. Está formada por 6 a 7 estratos de células parenquimáticas de forma casi isodiamétrica en corte transversal y con muchos espacios aéreos (Fig. 85). El estrato más interno corresponde a la endodermis, la cual, al igual que en el rizoma, carece de engrosamiento en las paredes tangenciales externas e internas, pero sí se observa la banda de Caspary en las paredes radiales y transversales (Figs. 86 y 87).

El cilindro central está constituido por un periciclo biestratificado (Figs. 86, 86) o uniestratificado (Figs. 88 y 89). La distribución del xilema tiene 3 formas. 1) El xilema en

LAMINA XII: Figuras 86-92: Estructura y material disociado de tallo aéreo. Figura 86: corte transversal de tallo aéreo mostrando parte de la corteza y cilindro central. Figura 87: mayor aumento de la fig. 86 mostrando en el cilindro central el xilema en forma de U y la traza ramal. Figura 88: corte transversal de tallo mostrando dos ejes de xilema separados por médula. Figura 89: anillo de haces vasculares (flechas). Figuras 90: material disociado de tallo mostrando engrosamientos anulares, helicoidales y reticulados. Figura 91: material disociado mostrando la desviación de los haces vasculares hacia el receptáculo. Figura 92: elementos traqueales en el receptáculo mostrando la forma y longitud diferente a los del tallo.

(Bc, bandas de Caspary; Ed, endodermis; El, elemento traqueal; Eq, elemento criboso; M, médula; P, periciclo).



forma de U rodea la médula y el floema ocupa el lado externo de la U, frente a esa U y separado por la laguna ramal se observa otro haz vascular, la traza ramal (Figs. 86 y 87), esto ocurre por abajo de los nudos. 2) El xilema forma dos haces separados por una médula. El floema rodea al xilema (Fig. 88). 3) 3-4 haces vasculares colaterales se encuentran en un anillo alrededor de la médula (Fig. 89), esto se observa a nivel de entrenudos.

Los elementos traqueales tienen engrosamientos secundarios en forma reticulada, helicoidal y anular. Estos últimos son los elementos traqueales del protoxilema (Figs. 90 y 91).

Los ovarios, óvulos y estambres de *L. schismatica* carecen de haces vasculares, ya que éstos terminan en la base del receptáculo, sólo se prolongan hacia los tépalos. En el receptáculo los elementos traqueales toman formas triangulares o romboidales y son más cortos que en el tallo (Figs. 91 y 92).

Se anexa un cuadro comparativo entre las estructuras reproductivas y vegetativas de Lacandoniaceae (*Lacandonia schismatica*) y Triuridaceae (principalmente *Triuris alata*) como una síntesis de la información que hasta hoy se conoce.

CUADROS COMPARATIVOS ENTRE TRIURIDACEAE (PRINCIPALMENTE  
*Triuris alata*) Y LACANDONIACEAE (*Lacandonia schismatica*)

CUADRO COMPARATIVO 1. ANATOMIA REPRODUCTIVA			
CARACTER	TRIURIDACEAE	<i>Triuris alata</i>	<i>Lacandonia schismatica</i>
1 FLOR	unisexuales bisexuales	unisexuales	bisexuales
2 GINECEO	apocárpico		
3 CELULA AR- QUESPORIAL	funciona directamente como cé- lula madre de la megaspora		
4 CELULA MADRE DE MEGASPORA	hipodérmica		
5 CRECIMIENTO CARPELAR	contrario al del óvulo		
6 OVULO	anátropo y sésil		
7 # DE TEGU- MENTOS	dos, cada uno biestratificado, el interno desa- parece antes de que madure el saco embrionario		
8 MICROPILO	formado por el tegumento interno		
9 SACO EMBRIONARIO	monosporico, del tipo <i>Polygonum</i>		
10 NUCELA	persiste hasta la formación del saco embrionario		desaparece du- rante la meio- sis de la CMME
11 PLACENTA- CION	basal		

## (continuación)

12 TIPO DE RE- PRODUCCION	se reporta que algu- nas especies son apomicticas y en otras se presenta la doble fecundación pe- ro no se ha observado	no hay reportes	las flores se autofecundan en botón y después abren Cleistoga mia preantesis
13 DESARROLLO ENDOSPERMO	tipo nuclear		
14 PRIMERA DI- VISION DEL CIGOTO	no se ha registrado	transversal	
15 SUSTANCIAS RESERVA EN ENDOSPERMO	proteínas almidón	proteínas polisacárido lípidos	proteínas almidón
16 CUBIERTA SEMINAL	formada por endotesta (principalmente) o por endo- y exotesta en pocas especies)	formada por el tegumento externo	
17 ENDOTESTA	paredes engrosadas. Taninos y polisacáridos insolubles		almidón taninos
18 FRUTO	aquenio foliculo	aquenio	aquenio
19 DIASPORA	semilla o fru- to, el embrión es indiferenciado, en algunas espe- cies se dispersa en etapa globular	fruto, el embrión se dispersa indiferenciado, antes de etapa globular	
20 MADURACION DE LOS FRUTOS	no se ha reportado	asincrónica, del centro a la periferia	sincrónica
21 ESTILO	no se ha reportado	persistente, situado en el lado que corresponde al hilo de la semilla	

CUADRO COMPARATIVO 2. ANATOMIA VEGETATIVA

CARACTER	TRIURIDACEAE	<i>Triuris alata</i>	<i>Lacandonia schismatic</i>
22 RAIZ	solitarias o en pares, con raíces laterales	solitarias y filiformes, sin raíces laterales	
23 EPIDERMIS	uniestratificada, pelos radicales septados	uniestratificada, pelos radicales escasos y poco desarrollados	con pelos (Martínez y Ramos, 1989). Nosotros no encontramos ninguno
24 CORTEZA	exodermis con paredes periclinales externas engrosadas, corteza media con 1-3 estratos, 1 ó 2 con hifas	exodermis discontinua con paredes periclinales externas engrosadas. Corteza media con 3 estratos, las dos más externas con hifas micorrízicas	
25 endodermis	presente, paredes periclinales externas engrosadas, bandas de Caspary en las paredes radiales		
26 CILINDRO CENTRAL	generalmente con periciclo uniestratificado, menos frecuente biestratificado, con paredes esclerosadas, excepto en <i>T. alata</i> . Tejido vascular reducido, con 1-2 polos de xilema con paredes escalariiformes y punteaduras en las paredes laterales. Células del floema con placas perforadas		periciclo uniestratificado, de paredes delgadas
27 MICORRIZAS	endomicorrizas en 1 ó 2 capas de la corteza, no se reporta el tipo	presentes, sus hifas forman vesículas semejantes a esporangios	endomicorrizas del tipo vesículo-arbuscular



## (continuación)

28 TALLO AEREO	filiforme, carece de hojas, solo presenta algunas brácteas o escamas.		
29 EPIDERMIS	uniestratificada, con cutícula, carece de estomas y tricomas		
30 CORTEZA	consiste de 1-3 estratos de células con paredes engrosadas Se forma una médula central	de 4-6 estratos	6-7 estratos
31 endodermis	ausente	presente, formada por células de diferentes tamaños, las paredes no están engrosadas pero presentan bandas de Caspary	
32 TEJIDO VASCULAR	haces vasculares dispersos en un esclerénquima cortical que a veces forma un anillo. Floema poco conspicuo	rodeado por un periciclo de diferentes formas y tamaños, 2 ejes de xilema y por fuera el floema	El xilema en 3 formas: en U, en 2 ejes, o anillo de haces. El floema externo al xilema
33 RIZOMA	con escamas en los nudos		escama en el meristemo apical
34 EPIDERMIS	uniestratificada, sin estomas ni tricomas		
35 CORTEZA	formada por 4-6 estratos	de 5-6 estratos de células parenquimáticas	4-5 estratos
36 endodermis	ausente	presente, formada por muchas células de diferente tamaño con banda de Caspary	presente, las paredes tangenciales sin engrosamientos. hay bandas de Caspary
37 TEJIDO VASCULAR	como en tallo aéreo a veces asociado con esclerénquima	anillo continuo	2 brazos de xilema o una masa compacta

## 6. DISCUSION

### 6.1. ANATOMIA REPRODUCTIVA

Los procesos de desarrollo embriológico como la microsporogénesis, megasporogénesis, gametogénesis, polinización, fecundación y embriogénesis junto con la anatomía de los órganos vegetativos en las angiospermas han tomado un valor importante como caracteres taxonómicos. Por esto mismo estos procesos han sido muy útiles en las revisiones minuciosas que se hacen entre aquellas especies u otras categorías taxonómicas que se consideran relacionadas. Muchas veces, se ha comprobado que entre más similitudes se observen entre los grupos comparados sus relaciones filogenéticas son más estrechas. Por esta razón esta discusión pretende comparar los procesos de desarrollo embriológico y anatomía vegetativa de *L. schismatica* con los de algunas especies de la familia Triuridaceae.

Comparando el desarrollo del gametofito femenino de *L. schismatica* y las Triuridaceae se observa que es similar, la diferencia es que en *L. schismatica* se forma de la megaspora micropilar de una tétrada lineal, mientras que en Triuridaceae se forma de la megaspora calazal (Davis, 1966). En *Sciaphila japonica* la tétrada puede ser también en forma de T (Ohga y Sinoto, 1932).

En *L. schismatica* los núcleos polares se fusionan antes de la fecundación, tal como en *Sciaphila japonica*, sin embargo, en esta especie la etapa de fecundación no pudo ser observada (Ohga y Sinoto, 1924). Sin embargo Wirz (1910, en: Tomlinson, 1982) y Dahlgren et al. (1985) mencionan que en *Sciaphila* la célula huevo se desarrolla en embrión partenogenética o apogámicamente. A pesar de esto en *Sciaphila albescens*, *Soridium spruceanum*, *Triuris hexophthalma* y *T. hyalina* la doble fecundación sí se ha observado (Rübsamen, 1986, en: Maas y Rübsamen, 1986). En *T. alata* la etapa de fecundación no fue observada, sin embargo,

Espinosa (1991) considera que los remanentes del tubo polínico en el micrópilo es una evidencia de que la fecundación del óvulo es porógama y la formación de la semilla es un proceso sexual. En *L. schismatica* la doble fecundación también se lleva a cabo y considero que en las especies hermafroditas de las Triuridaceae que se sospecha son apomícticas, deberían hacerse estudios minuciosos, porque tal vez esté ocurriendo un tipo de autofecundación semejante al descrito para *L. schismatica*.

El tipo de desarrollo de endospermo de *L. schismatica* es similar al de las Triuridaceae (Engler, 1909 en: Maas y Rübsamen, 1986; Davis, 1966; Tomlinson, 1982; Maas y Rübsamen, 1986). Márquez-Guzmán, et al. (1989) observan que las células del endospermo de *L. schismatica* presentan muchas reservas. En el presente trabajo se encontró que esas reservas son almidón y proteínas. Aunque al principio del desarrollo el principal material de reserva es el almidón, en el endospermo maduro predominan las proteínas y la cantidad de almidón es menor al igual que en *T. alata* (Espinosa, 1991). En *L. schismatica* el endospermo no sólo contiene reservas en el lumen de sus células, también almacena una gran cantidad de polisacáridos en sus gruesas paredes celulares. Rübsamen (1986, en: Maas y Rübsamen, 1986) también encontró almidón en semillas inmaduras de varias especies de *Triuris* y *Peltophyllum*, el cual es transformado durante la maduración en otras sustancias de reserva. Otros autores también encontraron reservas en las paredes del endospermo de *Sciaphila* y *Soridium*, en estas especies las reservas del interior de las células endospermicas son proteínas y lípidos (Engler, 1909 en: Maas y Rübsamen, 1986; Maas y Rübsamen, 1986). En *L. schismatica* no se encontraron lípidos en el endospermo.

Considero que esta gran cantidad de reservas en el endospermo de *L. schismatica* compensa por el tamaño diminuto del embrión en semilla madura. También para las Triuridaceae el embrión es muy pequeño e indiferenciado; en *T. mayor* el cuerpo

del embrión es linear y consta de 6 pares de células y descansa sobre un suspensor unicelular *P* (Poulsen, 1980, en Maas y Rüksamen, 1986). En *Sciaphila*, *Soridium* y otras especies de *Triuris*, el embrión se encuentra en etapa globular (Johow, 1889 y Engler, 1909, ambos en: Maas y Rüksamen, 1986). Espinosa (1991) menciona que al momento de la dispersión del fruto, el proembrión de *T. alata* tiene cerca de ocho células. En *L. schismatica* el cuerpo del proembrión de aproximadamente 12 células también parece descansar sobre un suspensor unicelular.

Con respecto la testa, el desarrollo es similar entre *L. schismatica* y *T. alata*. Los depósitos de taninos en la endotesta de *L. schismatica* también se han observado en esta *T. alata* (Espinosa, 1991). En *Sciaphila schwackeana* la testa se desarrolla de la endotesta y más raramente de endo y exotesta (Wirz, 1910, en: Tomlinson, 1982). En algunas especies de *Sciaphila* y *Soridium* se presentan también depósitos de taninos. En *Peltophyllum* y otras especies de *Triuris* se menciona que la cubierta de la semilla consiste de una sola capa celular.

Comparando el desarrollo de la semilla de *L. schismatica* y el de *T. alata* realizado por Espinosa (1991), se considera que son muy semejantes, incluso en el capuchón calazal en la testa de la semilla.

A excepción de la posición invertida de los órganos sexuales y la dehiscencia introrsa de las anteras, la ontogenia y anatomía de las estructuras reproductoras entre Lacandoniaceae y Triuridaceae es semejante de acuerdo a los resultados presentados por Tomlinson (1982), Maas y Rüksamen (1986) y Espinosa, (1991); lo cual apoya la idea de algunos investigadores que ambas familias están muy relacionadas filogenéticamente. Incluso recientemente algunos taxónomos consideran que *L. schismatica* debe ser incluida en la familia Triuridaceae (Rüksamen-Weustenfeld, 1991).

### 6.1.1. "POLINIZACION" Y FECUNDACION

En *L. schismatica* no se observó ninguna asociación con insectos u otros posibles polinizadores, y dado que los granos de polen germinan dentro de la antera los polinizadores no son necesarios. En cuanto a la polinización en la familia Triuridaceae no existe ningún estudio, a pesar de ello, Maas y RübSamen (1986) consideran que tal vez estén involucrados algunos insectos en este proceso, ya que los tépalos de algunas especies presentan estructuras atractivas como apéndices parecidos a colas, penachos rojizos y algunas veces papilas que emiten fragancias agradables.

En *L. schismatica* al hablar de polinización el término no es adecuado ya que las definiciones referentes a este suceso implica el transporte del polen desde la antera hasta la parte receptiva del carpelo y en esta especie no es el grano de polen el que se transporta sino sólo el tubo polínico. Es esta la razón por la cual este término aparece entre comillas. En *L. schismatica* este tipo de "autopolinización" no corresponde a la descripción de polinización casmantérica y cleistantérica propuestos por Ascherson (1884, en: Uphof, 1938) para las angiospermas que se autopolinizan, sino que es similar a la "polinización" que se presenta en las flores cleistógamas de 4 géneros de la familia Malpighiaceae (*Aspicarpa*, *Camarea*, *Janusia* y *Gaudichaudia*) estudiados por Anderson (1980). Este autor sugiere que los tipos de autopolinización descritos por Ascherson tal vez no ocurran en las angiospermas. Este tipo de fecundación también fue recientemente demostrado para una planta acuática (*Callitricha*) de la familia Callitrichaceae, la cual produce tanto flores masculinas como femeninas que se encuentran sumergidas en el agua. Los granos de polen germinan dentro de las anteras y bajan hacia el receptáculo, atraviesan tejido vegetativo hasta llegar a la flor femenina para realizar la fecundación (Phillbrick, 1984).

En la presente investigación se considera que la "polinización" y fecundación en *Callitricha*, *L. schismatica* y Malpighiaceae (sólo las que presentan flores cleistógamas) son similares. Las diferencias estructurales que presentan estos diferentes grupos al modo de fecundación tal vez se deban a las características propias del taxón al que pertenecen ya que *Callitricha* (planta acuática) y las Malpighiaceae (terrestres) son dicotiledoneas, mientras que *L. schismatica* (saprófita terrestre) está colocada dentro de las monocotiledoneas. La diferencia principal es que *Callitricha* presenta flores con sexos separados y en *L. schismatica* y Malpighiaceae las flores son hermafroditas. En estos cuatro géneros de las Malpighiaceae se presentan tanto flores casmógamas como cleistógamas; las flores casmógamas producen una gran cantidad de granos de polen, tienen el estigma y estilo presentes y hay una polinización cruzada. Hasta donde se ha podido observar, *L. schismatica* sólo produce flores cleistógamas que abren después que la "polinización" y fecundación de la mayoría de los óvulos se han efectuado.

Entre las flores cleistógamas de estas familias también hay diferencias estructurales. En las Malpighiaceae los carpelos carecen de estigma y estilo, en *L. schismatica* no hay estigma diferenciado pero sí está presente el estilo. Otra diferencia es que las anteras de estos géneros de las Malpighiaceae carecen de estomio, pero en *L. schismatica* se encuentra claramente representado. El estilo y el estomio, presentes en *L. schismatica*, que aparentemente no tienen una función, nos hace pensar que no ha transcurrido el tiempo suficiente para que a través de algún mecanismo evolutivo sean eliminados. Sin embargo, no hay estudios de polinización en Triuridaceae que apoyen la funcionalidad de estas estructuras.

De acuerdo a Bradshaw (1965) y Levin (1972) la cleistogamia es una ventaja cuando las condiciones para la reproducción casmógama son desfavorables. Entre estas ventajas se tiene que la cleistogamia le permite a la planta aumentar la probabilidad de

producir semillas a bajo costo aún en condiciones ambientales extremas, ya que las flores camógamas requieren 2 ó 3 veces más energía que las cleistógamas para asegurar la fecundación y de esta manera utilizar mejor sus recursos (Donnelly, 1955; Schemske, 1978).

Dado que *L. schismatica* se ha encontrado en una sola población de la Selva Lacandona, se puede suponer que la autofecundación le permite producir un alto número de semillas a bajo costo energético ya que no está desviando recursos a la producción de una alta cantidad de polen ni en estructuras que sean utilizadas para atraer a polinizadores. Este ahorro energético puede ayudarle a tener una mayor población en menor tiempo. Algunas especies pueden alternar la autofecundación con fecundación cruzada ya que pueden presentar en la misma o diferente generación flores casmógamas que permiten una polinización cruzada, lo cual no se ha observado en *L. schismatica* y sería interesante observar su comportamiento por varias generaciones.

Sin embargo, la casmogamia puede ser el mejor mecanismo para mantener la variabilidad genética en la población, lo cual es un factor importante en la evolución de las angiospermas. Así mismo, el entrecruzamiento requiere de mecanismos de polinización eficiente para "garantizar" la transferencia de polen de una flor a otra por diferentes vectores (viento, agua o animales). Muchas veces estos procesos de polinización son un ejemplo de coevolución entre plantas y polinizadores.

Otro aspecto que se debe considerar en estos dos modos de apareamiento son los sucesos que están relacionados con la producción de óvulos y polen por las casmógamas, lo cual les permite un flujo de genes a través de la parte masculina (polinización) y femenina (dispersión de semillas), mientras que

en las cleistógamas el traslado de los genes de la población está limitado sólo a la dispersión de semillas (Schemske, 1978).

La consecuencia genética de la autogamia es el cambio rápido hacia la homocigosidad de la población (Anderson, 1980). El aumento de homocigotos en la población de *L. schismatica* ha sido mostrada por Coello et al. (1992). Mencionan que no detectaron variabilidad genética.

Estos autores plantean dos hipótesis para explicar la disminución en la variabilidad genética de *L. schismatica*, 1) que esta especie tenga un origen reciente a partir de una población pequeña y la pérdida de variación sea simplemente el resultado de un obstáculo genético (Waller et al., 1987, en: Coello et al., 1992). Un estudio comparativo usando grupos relacionados que demostrara diferencia genética entre ellos, haría que esta hipótesis fuera válida.

2) que *L. schismatica* sea un relicto de una población ancestro de amplia distribución y la pérdida de la variación genética puede ser explicada en términos de la genética o de algún proceso reproductivo como la autofecundación, apomixis y/o reproducción vegetativa que traen como consecuencia una baja variabilidad genética dentro de las poblaciones.

En cuanto a la segunda hipótesis y de acuerdo a nuestras observaciones, en *L. schismatica* considero que la falta de variabilidad se principalmente a una autofecundación, ya que la reproducción sexual sí se lleva a cabo. A pesar de que no se ha visto la germinación de las semillas, hemos encontrado plantas solitarias de *L. schismatica* que no forman rizomas, lo cual, aumenta la probabilidad de que estas plantas sean producto de la germinación de las semillas. Sin embargo no descartamos que también se reproduzca asexualmente por medio de rizoma, lo que puede también contribuir a la falta de variabilidad genética.



La variabilidad genética en poblaciones naturales tiene valores relativamente altos, sin embargo hay algunas excepciones en aquellas especies con distribuciones muy restringidas o que han pasado recientemente por un "cuello de botella" poblacional (reducción drástica en el número de individuos), (Eguiarte y Piñero, 1990), *L. schismatica* representa un buen ejemplo de embotellamiento debido a su aparentemente restringida distribución.

Otros punto de gran interés en *L. schismatica* es la posición del gineceo con respecto al androceo. Dado que esta inversión de los verticilos sexuales no había sido observada en las angiospermas (Cronquist, 1981), no existe información acerca de este fenómeno. Sin embargo hay autores que piensan que *L. schismatica* se originó de alguna especie de la familia Triuridaceae en el cual posiblemente hubo una acumulación de mutaciones que originó la inversión de los verticilos sexuales por algún proceso macroevolutivo, es decir por una macromutación en uno o más genes que controlan la morfogénesis floral (Davidse y Martínez, 1991).

Otro punto de vista propone que la flor de *L. schismatica* es una inflorescencia producto del congestionamiento en corimbos de plantas monoicas de alguna especie de la familia Triuridaceae progenitor de la flor de *L. schismatica* (Stevens, 1991). En la segunda explicación este autor considera una variante monstruosa muy rápida. Sin embargo considero que para apoyar alguna de estas teorías hacen falta estudios.

## 6.2. ANATOMIA VEGETATIVA

La anatomía de los órganos vegetativos de *L. schismatica* es muy semejante a la de *Sciaphila africana*, *S. albescens* y *Andruris vitiensis* de la familia Triuridaceae (Tomlinson, 1982), pero sobre todo a la de *Triuris alata* (Milanez y Meira, 1943).

En *L. schismatica* el esclerénquima no se observa en ningún órgano vegetativo, mientras que en algunas especies de las Triuridaceae puede estar presente (Tomlinson, 1982). En *T. alata* no se presenta (Milanez y Meira, 1943).

En el tallo aéreo y rizoma de *L. schismatica* se observa endodermis, aunque ésta no es tan conspicua como en la raíz. Lo mismo se observa en *T. alata*, en esta especie las células de la endodermis de tallo aéreo y rizoma también son de formas y tamaños variados, y en ellas se observan las bandas de Caspary. Tomlinson (1982) reporta que en algunas Triuridaceae la endodermis está ausente en el tallo aéreo.

A nivel de raíz y tallo aéreo, en *L. schismatica* las paredes celulares de la corteza media y del periciclo no están esclerosadas, a diferencia de las especies estudiadas por Tomlinson (1982). En *T. alata* sólo el tallo aéreo presenta esclerosamiento (Milanez y Meira, 1943).

En las Triuridaceae, Tomlinson (1982) menciona la presencia de pelos radicales septados. Milanez y Meira (1943) observan que los pelos radicales en *Triuris alata* son escasos y poco desarrollados. Para *L. schismatica* Martínez y Ramos (1989) mencionan que las raíces son ligeramente pubescentes. Sin embargo en *L. schismatica* las observaciones hechas por diferentes técnicas indican que la apariencia pubescente se debe a las hifas del hongo micorrízico y no a pelos radicales.

Las Triuridaceae y Lacandoniaceae son plantas saprófitas y por lo tanto incapaces de elaborar sus nutrimentos, por lo que dependen de su asociación micorrízica para obtenerlos (Waechter, 1984). En el caso de las asociaciones micorrízicas se considera que el hongo debería obtener algún beneficio (carbohidratos y hormonas) de la planta hospedera para que sea una asociación mutualista, sin embargo en *L. schismatica* y en las Triuridaceae se desconoce cómo pueden ayudar a la nutrición del hongo. Algunos

autores consideran que las saprófitas cuyas raíces forman micorrizas, funcionan como parásitos de sus propios huéspedes, ya que, debido a que no realizan la fotosíntesis no pueden proporcionarle nutrientes al hongo. Si éste ocurre, el único beneficio que *L. schismatica* le proporcionaría al hongo sería el de protección. En la familia Monotropaceae se estudiaron asociaciones micorrízicas con raíces de plantas saprófitas, encontrando que además de *Monotropa* se presenta un tercer participante que sí fotosintetiza y que les proporciona al hongo y la saprófita los carbohidratos y nutrimentos, donde el hongo es el intermediario del transporte entre una y otra planta (Smith y Douglas, 1987).

Las micorrizas en *L. schismatica* son consideradas como endomicorrizas ya que se encuentran en el interior de las células de la corteza, y se describen como las de tipo vesículo-arbuscular a pesar de que no pudimos observar los arbusculos, lo cual puede ser porque son muy efímeros o porque hay algunas endomicorrizas vesículo-arbusculares que no los forman. En *T. alata* también las consideran como vesículo arbuscular (Milanez y Meira, 1943). Estos autores mencionan que las madejas que forman hifas en el interior de las células corticales pueden ser un obstáculo para visualizar los arbusculos.

Las micorrizas han sido también reportadas en *Sciaphila japonica*, *S. terella*, *Hexuris caudata*, *H. gardnerii* y *Triuris alata* y *T. mayor* (Giesen, 1938 [In: Maas y RübSamen, 1986]; Milanez y Meira, 1943), sin mencionar el tipo de hongos que las forman.

Dahlgren et al. (1985) mencionan que es frecuente la presencia de hifas micorrízicas en el rizoma de las Triuridaceae. Sin embargo, en el rizoma de *L. schismatica* no se encontraron, ni tampoco en las especies estudiadas por Milanez y Meira (1943), Tomlinson (1982) y Maas y RübSamen (1986).

La distribución del tejido vascular de las Triuridaceae y Lacandoniaceae es muy sencilla. El tejido vascular es escaso y es difícil distinguir entre el meta y protoxilema, y meta y protofloema, como sucede en las monocotiledoneas, ya que el tejido vascular en tallo aéreo y rizoma puede formar un anillo de haces vasculares como sucede en algunas dicotiledoneas (Fahn, 1978; y Esau, 1982). Tomlinson (1982) considera que el xilema de *T. alata* es ligeramente endarco, pero en *L. schismatica* no se distinguen los primeros elementos en madurarse.

Respecto al floema, en *L. schismatica* es muy difícil distinguir los elementos cribosos así como sus células acompañantes. En *T. alata* sí se observan células acompañantes (Milanez y Meira, 1943).

En *T. alata* (Milanez y Meira, 1943) se menciona que los elementos traqueales son vasos con engrosamientos anulares en el caso del tallo aéreo con y engrosamiento reticulado en el caso del rizoma. Al respecto Tomlinson (1982) menciona que los vasos no se observan con certeza, la ausencia total de vasos en las Triuridaceae fue publicada por Dalghren et al. (1985). En *L. schismatica* hasta el momento sólo se puede decir que son elementos traqueales, ya que no se observó con detalle la unión entre estos elementos para corroborar la ausencia o presencia de perforaciones.

Los resultados de este trabajo aumentan el conocimiento sobre la biología de *Lacandonia schismatica*, que junto con los que se realicen en otras disciplinas integrarán un cuerpo de conocimientos sobre esta extraordinaria planta.

## 7. CONCLUSIONES

1. Todas las flores de *Lacandonia schismatica* presentan las anteras en el centro del receptáculo.
2. Los ovarios se forman por pares, uno frente al otro.
3. La célula arquesporrial funciona directamente como célula madre de la megaspora, por lo tanto el óvulo es tenuinucelado.
4. El óvulo es anátropo, sésil y bitégmico, el interno forma el micrópilo.
5. Cada tegumento es biestratificado, excepto que el externo tiene 4 estratos en el lado en que se une a la placenta.
6. La nucela permanece hasta la etapa de tétrada de megasporas.
7. El desarrollo del saco embrionario es monospórico del tipo *Polygonum*, se desarrolla de la megaspora micropilar.
8. Los granos de polen germinan dentro de la antera indehisciente y sus tubos polínicos crecen hacia la base de las anteras-receptáculo-óvulo. Entrando por el micrópilo y descargando en una de las sinérgidas.
9. La doble fecundación se lleva a cabo antes de la antesis.
10. La primera división del cigoto es transversal; el desarrollo del endospermo es nuclear.
11. El tegmen se reabsorbe después de las primeras divisiones del cigoto.
12. El embrión en semilla madura está formado por dos hileras de cuatro células cada una. Se encuentra inmerso en un endospermo cuyas paredes celulares son muy gruesas y tiene proteínas y almidón como reserva.
13. La testa de la semilla está formada por una delgada exotesta y una endotesta de células con mayor tamaño y con taninos.
14. El pericarpio es biestratificado desde el principio del desarrollo del ovario. El estilo es persistente.
15. La unidad de dispersión es el fruto que alberga una sola semilla.
16. Las raíces carecen de pelos radicales, son filiformes y delgadas. Dos de los estratos de la corteza están asociados con hongos micorrízicos.

17. Las micorrizas son del tipo vesículo-arbuscular.
18. El cilindro central está muy reducido, el periciclo rodea a 2 ó 3 elementos traqueales y de 1 a 3 elementos cribosos.
19. El tallo aéreo y rizoma carecen de estomas.
20. Por abajo de los nudos del tallo aéreo el tejido vascular tiene forma de U, mientras que en los entrenudos forma un anillo de haces vasculares. En todos los casos hay médula.

## 8. LITERATURA CITADA

Agredano, M.L.T. 1991. Estudio ultraestructural comparativo del núcleo interfásico de *Lacandonia schismatica* E. Martínez y C.H. Ramos (Triuridales: Lacandoniaceae) y *Triuris alata* Brade (Triuridales: Triuridaceae). Tesis de Licenciatura. Facultad de Ciencias. U.N.A.M. México.

Allard, R.W. 1975. The mating system and microevolution. *Genetics* 74: 115-126.

Anderson, W.R. 1980. Cryptic self-fertilization in the Malpighiaceae. *Science* 207: 892-893.

Bhojwani, S.S., y S.P. Bhatnagar. 1981. The embryology of angiosperms. Vikas Publishing House PVT LTD., Delhi. 280 pp.

Bradshaw, A.D. 1965. Evolutionary significance of phenotypic plasticity in plants. *Adv. Genet.* 13: 115-155.

Clay, K. 1982. Environmental and genetic determinants of cleistogamy in a natural population of the grass *Danthonia spicata*. *Evolution* 36: 734-741.

Coello, G., A. Escalante y J. Soberón. 1992. Lack of genetics variation in *Lacandonia schismatica* Martínez-Ramos in its only known locality. *Ann. Missouri Bot. Gard.* (en prensa).

Connor, H.E. 1979. Breeding systems in the grasses: a survey. *New Zealand J. Bot.* 17: 547-574.

Cronquist, A. 1969. Introducción a la botánica. (traducido del inglés). CECSA, México. 800 pp.

\_\_\_\_\_. 1981. An integrated system of classification of flowering plants. Columbia University Press, New York. 1262 pp.

\_\_\_\_\_. 1988. The evolution and classification of flowering plants. The New York Botanical Garden, New York. 555 pp.

Currier, H.B., y S. Strugger. 1956. Aniline blue and fluorescence microscopy of callose in bulb scales of *Allium cepa* L. *Protoplasma* 45: 552-559.

Dahlgren, R.M.T., H.T. Clifford y P.F. Yeo. 1985. The families of the Monocotyledons: structure, evolution and taxonomy. Springer-Verlag, New York. 520 pp.

Davidse, G., y E. Martínez. 1990. The chromosome number of *Lacandonia schismatica* (Lacandoniaceae). *Syst. Bot.* 15: 635-637.

Davis, G.L. 1966. Systematic embryology of the angiosperms. John Wiley and Sons, Inc., New York. 528 pp.

Donnelly, E.D. 1955. The effects of outcrossing on forage and seed yields in *Sericea lespedeza*. *Agron. J.* 47: 466-467.

Eguiarte, L.E., y D. Piñero. 1990. Genética de la conservación: leones vemos, genes no sabemos. *Ciencias* 4: 34-47.

Esau, K. 1982. Anatomía de las Plantas con Semilla. (traducido del inglés). Hemisferio Sur, Buenos Aires. 512 pp.

Espinosa, M. S. 1991. Estudio estructural e histoquímico de individuos femeninos de *Triuris alata* (Triuridaceae) nuevo registro para México. Tesis de Licenciatura. Facultad de Ciencias. U.N.A.M. México. 74 pp.

Fahn, A. 1978. Anatomía vegetal. (traducido del inglés). H. Blume, Madrid. 643 pp.

Fiebrig C. 1921. Fanerógamas saprófitas: *Triuris mycoides* sp. nov. *Rev. Bot. Paraguay.* I: 164-165.



- Fisher, D.B. 1968. Protein staining of ribboned Epon sections for light microscopy. *Histochemie* 16: 92-96.
- Fryxell, P.A. 1957. Mode of reproduction in higher plants. *Bot. Rev* 23: 135-233.
- Gómez, P.L.D., y E. Martínez. 1992. *Triuris* Miers. En: *Flora Mesoamericana*, Vol. 6. Davidse, G., S.M. Sousa. y A.O. Chatters (Eds). (en prensa).
- Green, P.S., y O.T. Solbrig. 1966. *Sciaphila dolichostyla* (Triuridaceae). *J. Arnold Arboretum* 47: 266-269.
- Jain, S.K. 1976. Evolution of inbreeding in plants. *Annu. Rev. Ecol. Syst.* 7: 469-495.
- Jensen, W.A. 1962. *Botanical Histochemistry. Principles and practice.* W.H. Freeman and Co., San Francisco. 406 pp.
- Johansen, D.A. 1940. *Plant Microtechnique.* McGraw-Hill, New York. 523 pp.
- Jonker, F.P. 1943. *Triuridaceae. Flora of Suriname.* 1: 461-466.
- Levin, D.A. 1972. Plant density cleistogamy and self-fertilization in natural populations of *Lithospermum carolinense*. *Amer. J. Bot.* 59: 71-78.
- Lord, E.M. 1981. Cleistogamy: a tool for the study of floral morphogenesis, function and evolution. *Bot. Rev.* 47: 421-449.
- Maas, P.J.M., y T. RübSamen. 1986. *Triuridaceae. Fl. Neotrop.* 40: 1-55.
- \_\_\_\_\_, y H. Maas-van de Kamer. 1989. *Triuridaceae. Flora of the Guyanas.* 21 pp.
- Maheshwari, P. 1950. *An introduction the embryology of*

angiosperms. McGraw-Hill, New York. 453 pp.

Márquez-Guzmán, J; M. Engleman, A. Martínez-Mena, E. Martínez y C. Ramos. 1989. Anatomía reproductiva de *Lacandonia schismatica* (Lacandoniaceae). Ann. Missouri Bot. Gard. 76: 124-127.

Martínez, E., y C.H. Ramos. 1989. Lacandoniaceae (Triuridales): Una nueva familia de México. Ann. Missouri Bot. Gard. 76: 128-135.

Mazia, D., P.A. Brewer, y M. Alfert. 1953. The cytochemical staining and measurement of protein with Mercuric Bromophenol Blue. Biol. Bull. 104: 57-67.

Milanez, F.R., y E. Meira. 1943. Observações sobre *Triuris alata* Brade. Arq. Serv. Florestal 2: 51-65.

Ohga, I., y Y. Sinoto 1924. Cytological studies on *Sciaphila japonica* Mak. I. On chromosome. Bot. Mag. (Tokyo) 38: 202-207.

\_\_\_\_\_. 1932. Cytological studies on *Sciaphila japonica* Mak. (Prel. note) II. On pollen- and embryo sac- development. III. On micorrhiza. Bot. Mag. (Tokyo) 46: 311-315.

Phillps, J.M., y D.S. Hayman. 1970. Improved procedure for clearing root and staining large numbers of plant root samples for endomycorrhizal fungi for rapid assessment of infection. Trans. Br. Mycol. Soc. 55: 158-161.

Quiroz, CH.S. 1990. Estudio estructural del desarrollo del microsporangio de *Lacandonia schismatica* (Lacandoniaceae). Tesis de Licenciatura. Fac. de Ciencias. U.N.A.M. México.

Rao, A.S., y D.M. Verma. 1976. Materials towards a monocot flora of Assam-V: Triuridaceae. Bull. Bot. Surv. India 18: 1-48.

Rost, T.L., M.G. Barbour, R.M. Thornton, T.E. Weier y C.R. Stocking. 1988. Botánica: introducción a la biología vegetal.

Ruiz-Oronoz, M., D.N. Roaro, y R.I. Larios. 1977. Tratado elemental de botánica. ECLALSA, México. 730 pp.

Schemske, D.W. 1978. Evolution of reproductive characteristics in *Impatiens* (Balsaminaceae): The significance of cleistogamy and chasmogamy. *Ecology* 59: 596-613.

Smith, D.C., y A.E. Douglas. 1987. The biology of symbiosis. Series contemporary biology. Edward Arnold, Baltimore Md. 302 pp.

Stebbins, G.L. 1950. Variation and evolution in plants. Columbia Univ. Press, New York. 643 pp.

\_\_\_\_\_. 1957. Self-fertilization and population variability in the higher plants. *Amer. Natur.* 41: 337-354.

Stevens, P.F. 1991. *Lacandonia schismatica* -a challenge to some recent theories of floral morphogenesis?. *Flowering Newsletter* 11: 32-33.

Takhtajan, A.L. 1980. Outline of the classification of flowering plants (Magnoliophyta). *Bot. Rev.* 46: 225-359.

Tomlinson, P.B. 1982. Helobiae (Alismatidae). In: Metcalfe, C.R. (editor), *Anatomy of the Monocotyledons VII*. Clarendon Press, Oxford, 466-559 pp.

Uphof, J.C.T. 1938. Cleistogamic flowers. *Bot. Rev.* 4: 21-49.

Valey, P. 1976. Industrial Park JB-4 embedding kit. Polysciences Inc. Printed in U.S.A.

Waechter, J.L. 1984. Ocorrência da família Triuridaceae no Rio Grande do Sul, Brasil. *Iheringia. Sér. Bot.* 32: 3-8.