



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE CIENCIAS

Desarrollo de la antera y grano de polen en *Noveloa
coulteriana* (Podostemaceae)

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

B I Ó L O G O

P R E S E N T A:

ULISES RICARDO VILLANUEVA ARCINIEGA



DIRECTORA DE TESIS:

DRA. GUADALUPE JUDITH MÁRQUEZ GUZMÁN

México D.F.

2013



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

DATOS DEL JURADO

1. Ulises Ricardo
Villanueva
Arciniega
59129478
Universidad Nacional Autónoma de México
Facultad de Ciencias
Biología
303289023
2. Doctora en Ciencias
Guadalupe Judith
Márquez
Guzmán
3. Doctor en Ciencias
Antonio
Lot
Helgueras
4. Doctora en Ciencias
Martha Juana
Martínez
Gordillo
5. Doctora en Ciencias
Margarita
Collazo
Ortega
6. Maestra en Ciencias
Mónica Karina
Pérez
Pacheco
7. Desarrollo de la antera y grano de polen en *Noveloa coulteriana* (Podostemaceae).
64 páginas
2013

Esta tesis se realizó en el Laboratorio de Biología del Desarrollo en Plantas, Facultad de Ciencias de la Universidad Nacional Autónoma de México.

DEDICO ESTA TESIS A:

Mi mamá Elia, ya que es la persona que más quiero.

Mi papá Arturo, por enseñarme con el ejemplo.

Mi mamá Tere, por su cariño.

Mi papá Pedro, que nunca se fue y siempre me acompaña.

Mi tía Liz, por su corazón siempre abierto y su mesa siempre puesta.

Chovyz, por su siempre malhumorada, aunque incondicional ayuda.

La Dra. Judith con todo el cariño agradecido, por su tiempo, por su paciencia (que fue bastante), por creer en mí, aun cuando a veces yo ya no lo hacía, pero sobre todo, por ser franca aunque doliera. Muchas gracias.

Mague, por todo el afecto, que siempre ha sido correspondido.

Paty y Ana, por las risas y las bromas que han sido indispensables.

Sony por su ayuda, y por tener siempre una sonrisa y un gesto amable en todo momento.

Rich, por darme alojamiento en su cubículo siempre que lo he necesitado.

Mis amigos, que aunque unos llegaron desde hace muchos años, otros no tantos, pero que sin embargo todos forman parte importante de mi vida.

Laura por todas las cosas vividas, buenas y malas, pero más buenas.

Erika, Olga y Charis por las terapias, por los abrazos y los momentos, pero sobre todo, por las palabras.

Mis amigos del "Labo", por hacer de ahí prácticamente un hogar: A Moni por todo, que es mucho, Ale mi amiga lectora, Diana, ya que empezamos esto juntos, Almita, por los muy buenos momentos, Ros, Isa, Anabel y Alde, muchas gracias chicos, por formar parte de esta hermosa etapa de mi vida que nunca olvidaré.

Las chicas Cristal (Pau, Gaby, Mire, Vianey, Vicky, Moni y Anita) que han sido testigos de tantas cosas en mi vida.

Pero sobre todo, a la UNAM.

AGRADEZCO A:

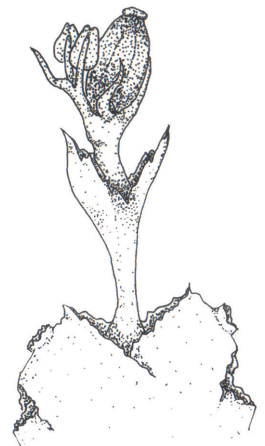
A la Dra. G. Judith Márquez Guzmán por haber dirigido esta tesis, por haber sido mi profesora y por alentar mi amor hacia las plantas.

Al jurado revisor: Dra. G. Judith Márquez Guzmán, Dr. Antonio Lot Helgueras, Dra. Martha Juana Martínez Gordillo, Dra. Margarita Collazo Ortega y M. en C. Mónica Karina Pérez Pacheco, por la mejora de este documento a través de sus correcciones.

Y a las personas que me ayudaron para desarrollar este trabajo:

Dra. Sonia Vázquez Santana (histoquímicas y consejos), Dra. Clara Esquivel Huesca (microscopía), M. en C. Ricardo Wong (ayuda en campo y laboratorio), M. en C. Mónica Karina Pérez Pacheco (campo, microscopía e histoquímicas), Luis Oswaldo Osnaya Arciniega (diseño e ilustración), Biol. Yolanda Ornelas Orozco (por el procesamiento del material para su observación al MEB), M. en C. Alejandro Martínez Mena y M. en C. Ana Isabel Bieler Antolín (Por la toma de micrografías).

A la **UNAM**.



“Sin embargo, como todos los cambios verdaderos, se produjo suave y lentamente por sí mismo, igual que el crecimiento de una planta.”

Michael Ende

ÍNDICE

Resumen	7
Introducción	8
Antecedentes	10
Angiospermas acuáticas	10
La Familia Podostemaceae	12
Sistemática de la familia	12
Morfología	13
Ciclo de vida	13
Embriología	13
Desarrollo del androceo en la familia	15
Genero <i>Oserya</i>	18
Descripción botánica de la especie	21
Justificación	23
Objetivos e Hipótesis	24
Metodología	25
Resultados	29
Observaciones en campo	29
Morfología y anatomía de la flor	36
Desarrollo de la pared de la antera	36
Presencia de almidón en la pared de la antera	37
Microsporogénesis y microgametogénesis	39
Estructura del grano de polen	40
Discusión	51
Conclusiones	57
Referencias	58

RESUMEN

La familia Podostemaceae es de entre las angiospermas acuáticas la más numerosa, habita en cascadas o ríos de corrientes rápidas, su ciclo de vida está ligado a la estacionalidad de dichos cuerpos de agua. La familia posee características embriológicas únicas, una de ellas es la ausencia de la doble fecundación y, por lo tanto, la ausencia de endospermo. *Noveloa coulteriana* es una especie endémica de México. Se llevó a cabo el estudio del desarrollo de la antera, la microsporogénesis y microgametogénesis en esta especie, mediante técnicas de inclusión en plásticos y corte en el ultramicrotomo. *Noveloa coulteriana* posee una antera bilobulada tetrasporangiada. La pared de la antera joven es del tipo monocotiledóneo; está constituida por cinco estratos: epidermis y endotecio uniestratificados, dos capas medias y un tapete del tipo secretor, también monoestratificado. La forma de las tétradas es tetraédrica, y el polen se dispersa en mónadas bicelulares. Durante el desarrollo de la antera el material de reserva (almidón) se encuentra en mayor cantidad en los tejidos de la antera joven y conforme avanza el desarrollo va disminuyendo hasta desaparecer de la pared de la antera. El “septo” que separa la célula vegetativa de la generatriz es muy evidente en esta especie.

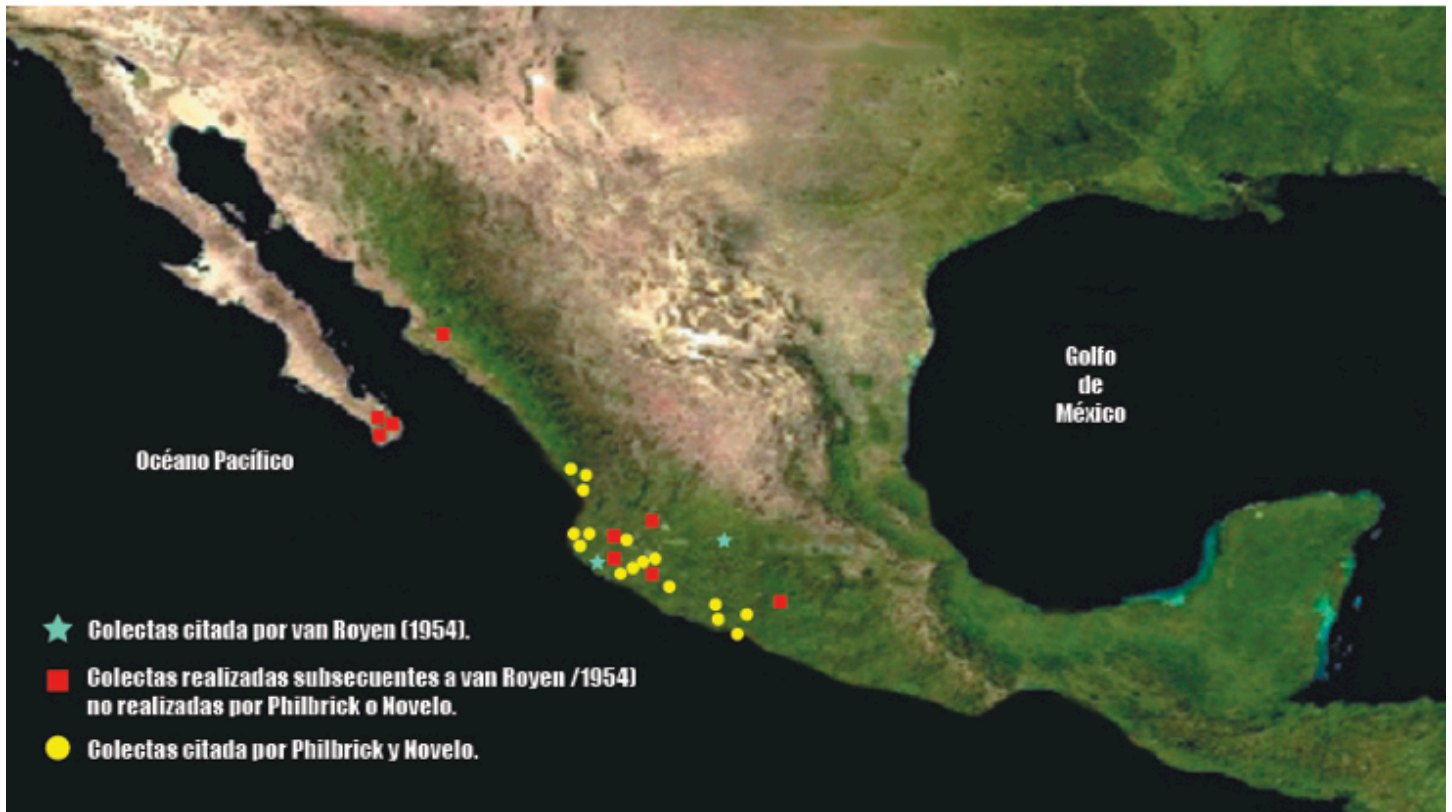
INTRODUCCIÓN

La biología reproductiva de las Podostemáceas es un área de investigación en desarrollo. La familia posee notables características embriológicas que la separan de todas las angiospermas.

Fundamentalmente los resultados de las investigaciones realizadas sobre la estructura y el desarrollo de los órganos sexuales, se han utilizado en gran medida para apoyar estudios taxonómicos, y muy poco para sustentar estudios reproductivos experimentales de la biología de la reproducción.

Todo estudio sobre la biología reproductiva de las angiospermas debe contemplar como punto de partida, un conocimiento profundo del desarrollo de las estructuras sexuales que permitan responder, entre otras preguntas: ¿Cuál es la etapa en la que los granos de polen se encuentran maduros? ¿Cuál es el tiempo de dehiscencia de las anteras con relación a la receptividad del estigma? ¿Cómo es el contenido de reserva en los granos de polen maduros? ¿Con cuántas células se dispersa? ¿Es una especie protándrica o protógina?

Noveloa es un nuevo género de podostemácea que anteriormente se denominaba *Oserya* (Typpery et al., 2011). *Noveloa* es endémica de México, cuenta con dos especies: *N. coulteriana* y *N. longifolia*. La primera se distribuye particularmente de la vertiente del Pacífico, desde Baja California Sur a Guerrero: Sonora, Sinaloa, Nayarit, Jalisco, Colima, Michoacán y Morelia (mapa 1) (Novelo y Philbrick, 1995, 1997 y 2000), mientras que *N. longifolia* sólo se ha reportado en un río del estado de Jalisco (Novelo y Philbrick, 1995, 1997).



Mapa 1. Distribución de *Noveloa coulteriana* (Modificado de Philbrick y Novelo, 1995).

En este trabajo se investigó el desarrollo del verticilo floral masculino de *Noveloa coulteriana*: el desarrollo de la pared de la antera, la microsporogénesis, la microgametogénesis, la localización, síntesis y consumo del almidón durante el desarrollo del polen. Estos estudios se realizaron mediante el uso de la microscopía de luz, microscopía electrónica de barrido e histoquímica.

ANTECEDENTES

Angiospermas acuáticas.

Las plantas con flores o angiospermas son las dominantes en el mundo, tanto por su diversidad como por su número. Cuentan con 250,000 a 300,000 especies, distribuidas en 300 o 400 familias aproximadamente, de tal manera que, ni aun reuniendo a todos los grupos de plantas sin flores, se obtendría tal número de especies (Martínez, 2013), este número tan grande, se debe a su éxito reproductivo y rápida diversificación. Las angiospermas, surgen en el Cretácico inferior (Cevallos, 2013), pero su rápida diversificación y radiación tuvo lugar durante el Cretácico medio (Willis y Mc Elwain, 2002). Este grupo de organismos no solamente es importante por su riqueza, sino también desde el punto de vista ecológico, ya que se encuentran prácticamente en todos los hábitats de la tierra, desde los trópicos, a la tundra, incluyendo ambientes acuáticos (Martínez, 2013).

Las angiospermas surgieron y se diversificaron notablemente en el medio terrestre, pero la transición a una vida acuática sólo se presenta en un 1% de las especies. Aunque las plantas acuáticas son normalmente consideradas como un grupo biológico unificado, las formas en que las especies han evolucionado a la vida en este medio son tan diversas como lo son sus diferentes linajes evolutivos (Philbrick y Less, 1996).

Aunque pocas en número, las angiospermas acuáticas poseen un interés botánico extraordinario. Éstas presentan una morfología compleja, ya que su reducción vegetativa, como resultado de una adaptación al medio acuático, es tan extrema, que las distinciones morfológicas típicas en las terrestres, como: tallo, raíces y hojas, pueden no ser tan fácilmente distinguibles. Ellas viven y se reproducen, parcial o totalmente de forma sumergida, ya sea en agua dulce (ríos, lagos, lagunas, cascadas, o zonas inundadas con estacionalidad) como en el mar. La forma de evaluar el grado de especialización al medio

acuático de estos organismos es difícil, y por supuesto, varía en función del concepto que adoptemos para una planta acuática (Sculthorpe, 1985).

Es difícil sugerir una definición de hidrófita vascular que sea universalmente aceptable, y que no resulte artificial, debido a que su sorprendente diversidad de hábito y la plasticidad de su organización morfológica, dificultan la clasificación de este grupo tan heterogéneo, Sculthorpe (1985) propone un reconocimiento de las plantas acuáticas vasculares de acuerdo a sus formas de vida:

A. Hidrófitas adheridas a un sustrato

- Con hojas libre-flotantes
- Sumergidas

B. Hidrófitas libre-flotantes

Una de las características principales de las angiospermas son las flores, estructuras especializadas para la reproducción sexual y las menos afectadas por los cambios ambientales. Las flores en la mayoría de las angiospermas acuáticas están especializadas para realizar la reproducción en el medio aéreo, es decir dependiendo aún de animales o factores físicos como agentes polinizadores, como cualquier angiosperma terrestre. La última adaptación a la vida acuática estricta, es la formación de flores hidrófilas, completamente sumergidas, como los pastos marinos (Sculthorpe, 1985).

En la familia Podostemaceae, mientras que el cuerpo vegetativo (cuya vida se desarrolla debajo del agua) está altamente modificado por el ambiente, el patrón floral es constante. Sus flores son expuestas a un medio aéreo durante la antesis para que ocurra la polinización (Rutishauser, 1997).

La familia Podostemaceae Rich. ex Kunth

Es la familia más grande de angiospermas acuáticas (O' Neill *et al.*, 1997), con aproximadamente 280 especies y 50 géneros ubicados en tres subfamilias: Podostemoideae, que incluye a la mayoría de los géneros, Tristichoideae y Weddellinoideae (Cook y Rutishauser, 2007). La familia se encuentra distribuida tanto en el Viejo como en el Nuevo Mundo, pero está presente principalmente en regiones tropicales y subtropicales (Philbrick y Novelo, 1995). Las podostemáceas del Nuevo Mundo comprenden aproximadamente 135 especies en 21 géneros (Tippery *et al.*, 2011).

Sistemática de la familia

Las relaciones infrafamiliares de las podostemáceas han sido complicadas a causa del número limitado de caracteres que han sido utilizados para la taxonomía infrafamiliar, particularmente en las subfamilias. Algunos autores dividen la familia en solo dos subfamilias: Podostemoideae y Tristichoideae. La subfamilia Tristichoideae se caracteriza por distintos tipos de periantos, y Podostemoideae se distingue de ésta por poseer un tipo de escama muy pequeña en sus tallos o por sus periantos filamentosos y una espátula membranosa no vascularizada que cubre los botones florales (Kita y Kato, 2001). En la clasificación de van Royen (1951), Tristichoideae está compuesta por cinco géneros, siendo *Weddellina* uno de ellos, mientras que Podostemoideae tiene aproximadamente cuarenta géneros. Sin embargo, en estudios más recientes (Jäger-Zürn, 1997; Rutishauser, 1997; Kita y Kato, 2001; Tippery *et al.*, 2011) apoyan la clasificación propuesta por Engler (1930), quien dividió a las podostemáceas en tres subfamilias: Podostemoideae (35 géneros), Tristichoideae (3 géneros) y Weddellinoideae (monotípico).

Morfología

En general, la morfología de la familia es una fuente de controversia, ya que poseen raíces, tallos y brotes que difieren sustancialmente de las demás angiospermas (Rutishauser, 1997) y adoptan formas postradas y dorsoventralmente aplanadas contra el sustrato rocoso, semejando cuerpos talosos y foliosos (O' Neill *et al.*, 1997), que recuerdan la morfología de los musgos y líquenes. Dicha morfología extremadamente especializada les permite estar expuestas a tensiones mecánicas impuestas por los ambientes en que viven (Rutishauser, 1997). Debido a esto las relaciones filogenéticas en esta familia han sido muy controvertidas (Kita y Kato, 2001).

Ciclo de vida

El ciclo de vida de las podostemáceas está relacionado con cambios estacionales en el nivel de agua de los ríos, debido a las temporadas de lluvia y sequía. En la temporada de lluvias, cuando el nivel del río es alto, se desarrolla el cuerpo vegetativo que se encuentra totalmente sumergido, y conforme inicia la temporada de secas y baja el nivel del río emergen los botones florales y se lleva a cabo la etapa reproductiva.

Embriología

El cuerpo vegetativo de las podostemáceas no es lo único particularmente notable de estas plantas, también presentan características embriológicas únicas, el patrón de desarrollo dentro de la familia Podostemaceae, difiere con respecto al de todas las demás angiospermas (Jäger-Zürn, 1997), debido a la presencia de un gametofito femenino tetracelular (Battaglia, 1971; 1980, Jäger-Zürn, 1997, Murguía-Sánchez, 2003), dando lugar a un saco embrionario del tipo Apinagia (Arekal y Nagendran, 1975) (figura 1), y de un pseudosaco embrionario o plasmodio nucelar (Battaglia, 1971). Otra característica embriológica notable es la ausencia de endospermo, lo cual se ha adjudicado a la ausencia de una doble fecundación (Kapil, 1970).

No. de megasporas	Tipo	Célula madre de la megaspora	Meiosis I	Meiosis II	Mega-spora	Mitosis I	Mitosis II	Mitosis III	Organización cel. del s.e.
Monosporico	Polygonum								
	Lacandonia								
	Oenothera								
	Apinagia								
	Schisandra A								
Bisporico	Allium								
	Endymion								
	Schisandra B								
			Megasporogénesis			Megagametogénesis			

Figura 1. Clasificación de los tipos de desarrollo monosporicos y bispóricos del saco embrionario en angiospermas. (Modificado de Raghavan, 1997)

Desarrollo del androceo

Existen pocas investigaciones sobre la familia Podostemaceae respecto al microsporangio, el desarrollo de la antera, la ontogenia del androceo, y, hasta ahora, ninguna hace referencia específica del tipo de desarrollo completo de la pared de la antera (Kita y Kato, 2001).

Murguía-Sánchez (2003), encontró que el tipo de desarrollo de la pared de la antera de *Vanroyenella plumosa* Novelo & C. Philbrick corresponde al tipo básico, y el de *Tristicha trifaria* (Bory ex Willd) Spreng al dicotiledóneo. En el mismo trabajo se abordó también el desarrollo de la pared de la antera de otras especies de la misma familia, tales como: *Marathrum rubrum* Novelo & C. Philbrick, *Oserya coulteriana* Tul. ahora *Noveloa coulteriana* (Tul). C. Philbrick, y *Podostemum ricciiforme* (Liebm.) P. Royen, en donde las capas medias se han desintegrado cuando se inicia la meiosis y persisten tres capas celulares en la pared de la antera: epidermis, endotecio y tapete.

En *Weddellina squamulosa* Tul. Jäger-Zürn (1997) reportó que la pared de la antera está formada por cuatro o cinco capas de células: epidermis, una capa endotecial densamente fibrosa, una o dos capas medias comprimidas y el tapete. En las anteras maduras de *W. squamulosa* solamente se encuentra la epidermis y el endotecio y se observa un desarrollo tardío del tejido gametofítico, ya que las células arquesporales y células madres de las microsporas se encuentran en la antera al comienzo de la antesis. La meiosis y la formación de las microsporas ocurren de manera muy rápida, pero el tipo de desarrollo, ya sea simultáneo o sucesivo, se desconoce.

Mukkada (1969) realizó una descripción detallada sobre la embriología de *Terniola zeylanica* (Gard.) Tul. y reporta que la antera está formada por cuatro capas celulares, que son: epidermis, endotecio, capa media y tapete, y que durante la profase de la célula madre de la microspora la capa media llega a degenerar y las células del tapete se convierten en binucleadas. Hasta la fase de microsporas, la capa del endotecio está densamente llena de granos de almidón, más tarde el endotecio desarrolla engrosamientos fibrosos.

En algunos trabajos se reporta la presencia de cuerpos de Ubisch en anteras jóvenes (Ameka et al., 2002; Jäger-Zürn *et al.*, 2006), como en el género *Saxicolella* que posee un tapete secretor, y en la madurez, la pared de la antera tiene una epidermis y una o dos capas de endotecio con engrosamiento fibroso en las paredes.

Otra característica que varía en la familia es la microesporogénesis simultánea y sucesiva (en el desarrollo temprano del polen). En la subfamilia Tristichoideae se ha observado que es uniforme con respecto a que sólo presenta citocinesis simultánea, en contraste con la subfamilia Podostemoideae que presenta citocinesis tanto sucesiva como simultánea (Jäger-Zürn *et al.*, 2006).

A continuación se exponen las características de un estudio embriológico del gametofito masculino realizado en algunas especies (tabla 1).

Tabla 1. Caracteres embriológicos del gametofito masculino en la familia Podostemaceae (Bravo, 2011).

		# Capas pared antera inmadura	Tipo de desarrollo de la pared	Tipo de tapete	Tipo de citocinesis	Tipo de tétradas	# Esporangios de la antera	Polen liberado	Tipo de diseminación del polen	Tipo de dehiscencia
Podostemoideae	<i>Apinagia latifolia</i> ¹	3		secretor	sucesiva	isobilaterales o decusadas	4	bicelular	mónadas	
	<i>Diamantina lombardi</i> ²				simultánea	tetraédricas			tétradas	
	<i>Marathrum rubrum</i> ³	2,3,4	mono o dicotiledóneo	secretor	simultánea	tetraédricas	4	bicelular	mónadas	introrsa
	<i>Vanroyenella plumosa</i> ⁴	5-6	Básico	secretor	simultánea	tetraédricas	4	bicelular	mónadas	introrsa
	<i>Oserya coulteriana</i> ⁵		no observado	secretor	no observado	no observado	4	bicelular	mónadas	introrsa
	<i>Podostemum ricciiforme</i> ⁶		no observado	Secretor	sucesiva	isobilaterales	4	bicelular	diadas	introrsa
	<i>Podostemum subulatum</i> ⁷				sucesiva			bicelular	diadas	
	<i>Podostemum olivaceum</i> ⁸				sucesiva			bicelular	diadas	
	<i>Polypleurum stylosum</i> ⁹	5	básico		sucesiva			bicelular	diadas	
	<i>Thelethylax minutiflorus</i> ¹⁰				simultánea					
	<i>Terniola zeylanica</i> ¹¹	4	mono o dicotiledóneo	secretor	simultánea			bicelular	diadas	
<i>Griffithella hookeriana</i> ¹²	4	mono o dicotiledóneo	secretor	sucesiva			bicelular	diadas		
Tristichoidae	<i>Tristicha trifaria</i> ¹³	4	dicotiledóneo	secretor	no observado	no observado	4	bicelular	mónadas	introrsa
	<i>Indotristicha ramosissima</i> ¹⁴	4	monocotiledóneo		simultánea		4	tricelular	mónadas	introrsa
	<i>Dalzellia ceylanica</i> ¹⁵				simultánea				mónadas	
Weddioidae	<i>Weddellina squamulosa</i> ¹⁶	4-5	básico o mono o dicotiledóneo	secretor	desconocido	desconocido		bicelular	mónadas	

1. Jäger-Zürn *et al.*, (2005); 2. Philbrick *et al.*, (2004) en Jäger-Zürn *et al.*, 2005. 3. Jäger-Zürn *et al.*, (2005) y Murguía-Sánchez, (2003); 4. Murguía-Sánchez *et al.*, (2011) y Murguía-Sánchez, (2003); 5. Murguía-Sánchez, (2003); 6. Murguía-Sánchez, (2003); 7. Magnus y Werner 1913 en Jäger-Zürn *et al.*, 2005 y Magnus, (1913) en Murguía-Sánchez, 2003; 8. Magnus y Werner 1913 en Jäger-Zürn *et al.*, 2005 y Magnus, (1913) en Murguía-Sánchez, 2003; 9. Magnus y Werner 1913 en Jäger-Zürn *et al.*, 2005; Khosla *et al.*, 2005; Khosla *et al.*, (2000) y Kapil (1970) en Murguía-Sánchez, 2003; 10. Jäger-Zürn, (1967) en Jäger-Zürn *et al.*, (2005); 11. Mukkada, (1969) en Murguía-Sánchez, 2003; 12. Razi, (1949) en Jäger-Zürn *et al.*, 2005; 13. Murguía-Sánchez, (2003); 14. Khosla y Sehgal, (2009), Chopra y Mekkada, (1966) en Jäger-Zürn *et al.*, 2005; 15. Mukkada, (1969) en Murguía-Sánchez, 2003; 16. Jäger-Zürn (1997).

Género *Oserya* Tul. & Wedd

Oserya es un género neotropical establecido por Tulasne en 1849, quien describió cuatro especies con anteras que presentan dehiscencia extrorsa, dos de Brasil (*O. bíceps* Tul. y Wedd. y *O. flavellifera* Tul y Wedd). una de Guyana (*O. sphaerocarpa* Tul. y Wedd.) y una de México (*O. coulteriana*). Went (1910) cuestionó el reconocimiento del género, ya que sólo estaba basado en la dehiscencia de las anteras y colocó a *Oserya* en sinonimia con *Apinagia* (Tippery *et al.*, 2011).

Van Royen (1954), propuso que *Oserya* era distinto de *Apinagia*, enfatizando otras características, además de la dehiscencia de las anteras, que apoyaban su reconocimiento, específicamente, contrastó las flores uniestaminadas, anteras basifijas, y un estilo bulboso que se presenta en *Oserya* con las flores uniestaminadas, anteras dorsifijas, y un estilo lineal que se presenta *Apinagia*.

Van Royen (1954), reconoció seis especies de *Oserya*, incluyendo las cuatro descritas por Tulasne en 1849 y dos especies adicionales del norte de Sudamérica (*O. minima* P. Royen. fue una nueva especie y *O. perpusilla* (Went) P. Royen. originalmente fue puesta en *Apinagia* por Went en 1910). Novelo y Philbrick (1995) después describieron una nueva especie en el género, *O. longifolia* Novelo & C. Philbrick del oeste de México.

Novelo y Philbrick en 1997 cuestionaron la inclusión de las especies de *Oserya* mexicanas (*O. coulteriana* y *O. longifolia*) en el género, por sus considerables diferencias morfológicas con las especies sudamericanas. Las especies mexicanas tienen anteras dehiscentes, introrsas o latrorsas, uno a tres (*O. coulteriana*) o dos (*O. longifolia*) estambres por flor, y cápsulas con seis costillas sin sutura. En contraste, las especies sudamericanas de *Oserya* presentan anteras con dehiscencia extrorsa, un solo estambre y diez costillas sin sutura.

Oserya es disyunta geográficamente; su rango norte incluye centro y sur de México, mientras que su distribución al sur es predominantemente en el norte de Sudamérica (el centro de Venezuela, las Guayanas, y el norte de Brasil). Los dos clados donde se encuentra *Oserya*, propuestos por Tippery *et al.*, (2011) (clados D y E, figura 2) reflejan la disyunción mexicana/sudamericana. Aunque la parafilia de estos clados no fue soportada por el análisis de datos combinados (datos moleculares -ITS, rbcL, trnL- y morfológicos), ninguno de estos análisis las ubica como monofiléticas.

Debido a las diferencias mencionadas entre los miembros de *Oserya* en México, comparadas con las sudamericanas se establecieron dos especies de este género para México: *Noveloa coulteriana* y *Noveloa longifolia* (Tippery *et al.*, 2011). *Noveloa* es diferente de su género hermano *Oserya* por la división de sus hojas en forma dicotómica o subdicotómica (pinnada en *Oserya*) tres costillas sin sutura por cápsula (5 en *Oserya*) y de 1 a 3 estambres (flores uniestaminadas en *Oserya*).

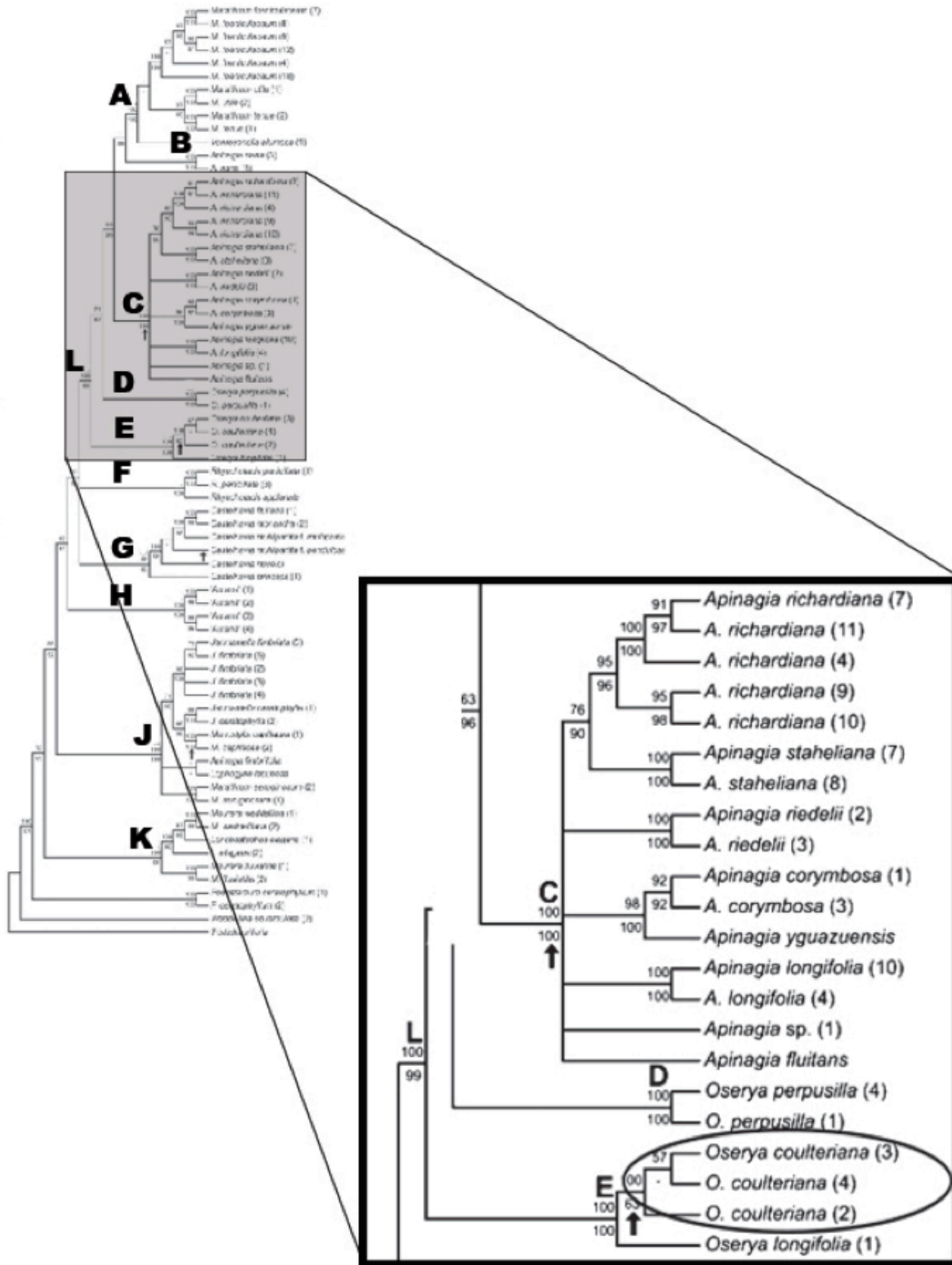


Figura 2. Cladograma de sensu stricto, árbol más parsimonioso obtenido del análisis molecular combinado de ITS, rbcL, trnL. (Modificado de Tippery *et al.*, 2011).

Descripción botánica de la especie

Noveloa coulteriana (Tul.) C. Philbrick.

Planta perenne o anual bajo condiciones desfavorables, raíces de hasta 20 cm de largo y de 0.5 a 1.8 mm de ancho; hojas hasta de 10 cm de largo cuando están sumergidas, más pequeñas o ausentes cuando quedan expuestas, cerca de la superficie del agua o durante la antesis, de color verde brillante o a veces rojizas, pecíolo comprimido, de 0.5 a 1.5 cm de largo, generalmente armado a los lados con papilas o denticillos agudos a redondeados, láminas hasta seis veces divididas, últimas divisiones de 0.1 a 0.3 mm de ancho, ápice agudo; espátela hasta de 6.5 mm de largo; tépalos laterales de 0.7 a 1.6 mm de largo, tépalo del ápice del andropodio de 0.4 a 0.8 mm de largo, andropodio de 0.9 a 1.5 mm de largo, filamentos de 0.4 a 1.4 mm de largo, anteras con dehiscencia introrsa, de 0.4 a 1.1 mm de largo; ovario con dos carpelos iguales, estigmas de 0.2 a 0.7 mm de largo, de ápice agudo; pedicelos en fruto hasta de 1.5 cm de largo, cápsulas elipsoides, de 1.6 a 2.8 mm de largo y 0.8 a 1.2 mm de diámetro, con dos valvas del mismo tamaño, persistentes, de color moreno claro, éstas con tres costillas cada una, las costillas se unen al ápice del pedicelo formando una estructura columnar; semillas elipsoides, ca. 30 por fruto, de 0.22 a 0.28 mm de largo y 0.12 a 0.14 mm de ancho (Novelo y Philbrick, 2000) (figura 3).

Es un elemento propio de ríos con sedimento rocoso, agua limpia o ligeramente contaminada. Florece durante la época seca del año, de octubre a mayo, dependiendo de los niveles de agua. *Noveloa coulteriana*, como en toda la familia Podostemaceae, presenta la característica de polinización aérea al igual que sus parientes terrestres, ya que es en la temporada de secas, cuando el nivel de agua ha bajado, cuando las flores emergen en antesis (Novelo y Philbrick, 2000).

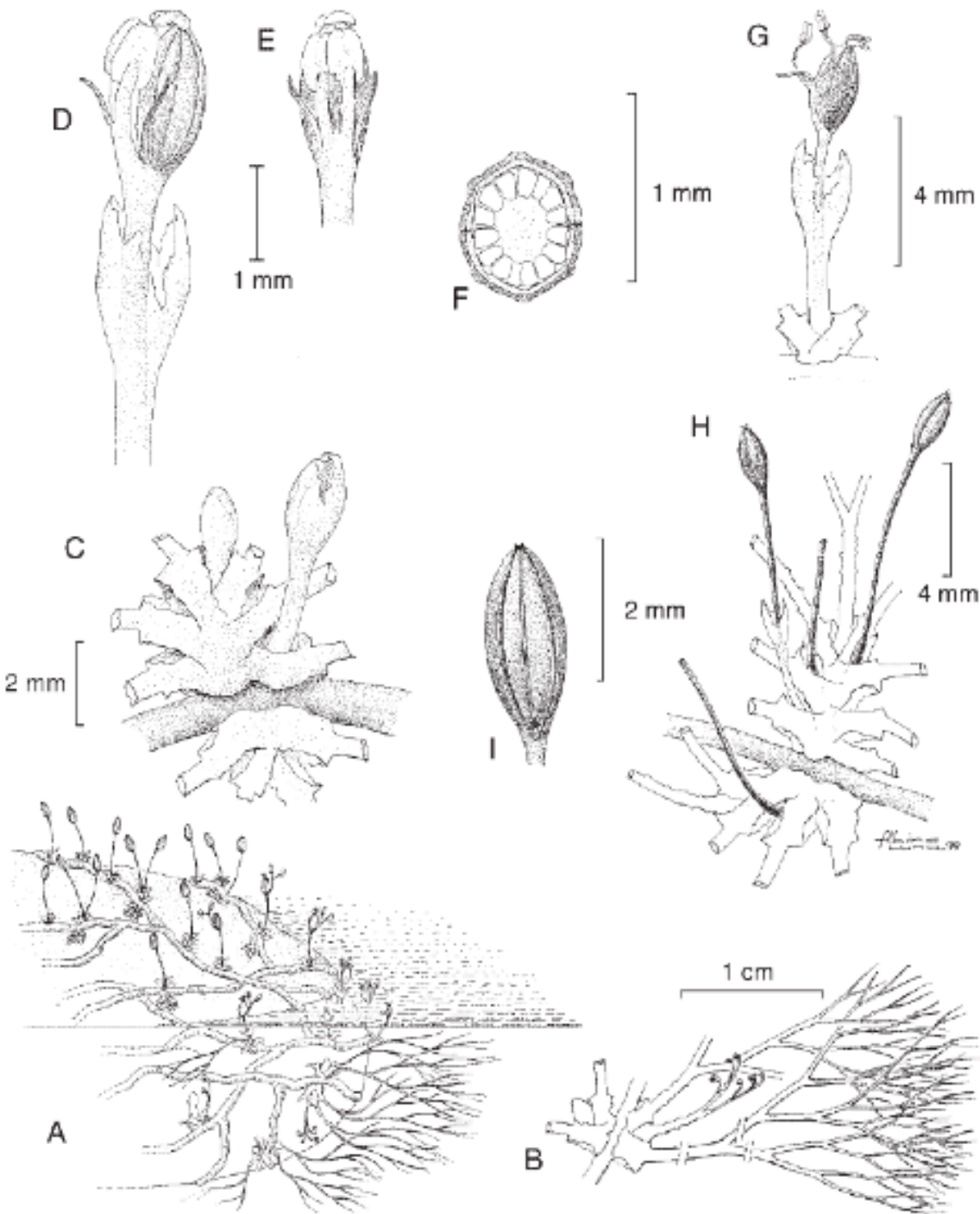


Figura 3. *Noveloa coulteriana*. A. Aspecto general de la planta; B. Detalle de una raíz de donde emergen nuevos vástagos con hojas sumergidas; C. Detalle de las dobles vainas de las hojas de donde emergen las flores; D. Flor joven emergiendo de la espatela; E. Flor joven vista por el lado donde se encuentra el androceo; F. Corte transversal del ovario; G. Flor madura; H. Planta expuesta al aire con frutos maduros; I. Detalle de la cápsula (Novelo y Philbrick, 2000; ilustrado por Albino Luna).

JUSTIFICACIÓN

Existe un solo trabajo embriológico que involucra al género *Noveloa* (Podostemoideae), que menciona de manera general aspectos de la microsporogénesis y microcrogametogénesis en *N. coulteriana*. Por lo que los conocimientos generados en este trabajo, además de proporcionar información básica sobre la embriología de la especie, también aportan conocimientos de su biología reproductiva, área en pleno desarrollo para las especies americanas de la familia Podostemaceae.

OBJETIVOS

General

- Conocer el desarrollo de la antera, la microsporogénesis y microgametogénesis de *Noveloa coulteriana* (Podostemaceae).

Particulares

- Conocer el desarrollo de la pared de la antera.
- Conocer la microesporogénesis y microgametogénesis.
- Conocer el estado en el cual se dispersa el grano de polen.
- Determinar la naturaleza química de las reservas, su distribución y su utilización durante los eventos de formación del polen.

HIPÓTESIS

La microsporogénesis, microgametogénesis y el desarrollo de la pared de la antera, son procesos comunes a todos los miembros de la subfamilia Podostemoideae de la familia Podostemaceae.

METODOLOGÍA

Área de estudio

Ríos en el estado de Jalisco, México: Los Horcones, Municipio de Cabos Corrientes (20°27'12.1"N, 105°17'23.9"O; 371 msnm); Las Juntas del Sur, Municipio de Cabo Corrientes, Jalisco (20°14'43.6"N, 105°18'42.2"O; 347 msnm), y Las Juntas y Los Veranos, este último llega a la localidad conocida como Chico's Paradise, aproximadamente 25 km al sur de Puerto Vallarta (20° 26' 05"N, 105° 18' 10" O; 264 msnm) (mapa 2).

Colecta de material

Se realizaron tres colectas, todas en temporadas de secas; noviembre-diciembre 2009, 2010 y 2011. En los tres ríos se encontraron botones florales en diferentes estados de desarrollo, así como flores en antesis.

Tratamiento de las muestras

Fijación

Los botones florales y flores de *Noveloa coulteriana* se fijaron en FAA: (10% de formaldehído, 5% de ácido acético glacial, 50% de etanol y 35% de agua destilada). Una parte del material colectado se fijó en glutaraldehido-paraformaldehido (3:1.5%) en amortiguador de S-colidina 1M pH 7.2 más sacarosa al 8% a 4 °C, después de 24 horas de fijación, se realizaron 6 enjuagues con amortiguador de S-colidina (1:1) con agua destilada y se mantuvieron a 4 °C.

Deshidratación

Las muestras que se encontraban en FAA y en glutaraldehído-paraformaldehído se deshidrataron en alcoholes graduales al 50%, 70%, 85%, 96% hasta llegar al 100%, durante 2 horas cada uno.

Las muestras se separaron en diferentes etapas de desarrollo, las cuales se obtuvieron aún dentro del tallo (con espátula), que en campo se encontraban aún por debajo del nivel del agua. Nuestra etapa más desarrollada corresponde a una flor ya en antesis (figura 4 y tabla 2).



Mapa. 2 Localidades de los ríos: las Juntas y los Veranos (Chicos Paradise), Los Horcones y Las Juntas, en donde se colectó *Noveloa coulteriana*.

Tabla 2. Determinación de las distintas etapas florales.

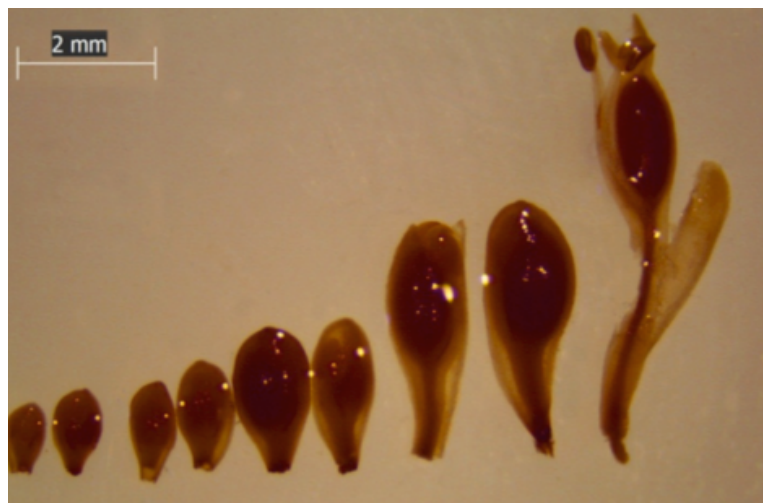


Figura 4. Botones florales y flores de *Novelloa coulteriana*.

Etapa	Longitud (mm)
1	0.976 - 1.24
2	1.25 - 1.31
3	1.32 - 1.63
4	1.64 - 2.14
5	2.15 - 2.20
6	2.21 - 3.42
7	3.43 - 3.71
8	3.72 - 5.96
9	>5.97

Inclusión

Las muestras se incluyeron en LR-White, en donde el material, una vez deshidratado, se sometió a mezclas de etanol absoluto y LR-White en distintas proporciones: 25%, 50%, 75% por una hora en cada tratamiento. Se realizó un cambio de LR-White al 100% y se mantuvieron 24 h a 4 °C.

Cortes

Se realizaron cortes longitudinales y transversales en el ultramicrotomo de rotación (RMC-MT990), obteniendo cortes semifinos de 0.75 a 1 μm de grosor con ayuda de cuchillas de vidrio (López *et al.*, 2005).

Pruebas histoquímicas

- Prueba de lugol para determinar almidón (López *et al.*, 2005). Cortes en LR-White se les aplicó lugol, se lavaron e inmediatamente se observaron al microscopio óptico.
- Prueba de calosa. Se aplicó azul de Anilina decolorado al 1% sobre cortes en LR-White y se observó con microscopía de fluorescencia.
- Reactivo de SCHIFF (APS) para determinar polisacáridos insolubles (comunicación personal Dra. Clara Esquivel). Se aplicó ácido peryodico sobre cortes en LR-White, los cuales se mantuvieron en una parrilla a 20 °C y se observaron al microscopio óptico.

Microscopía electrónica de barrido (MEB)

Las flores en anthesis fueron procesadas para el microscopio electrónico de barrido, para esto, el material se deshidrató en una serie gradual etanólica, a partir de alcohol al 30% hasta llegar al 100%, una hora en cada cambio. Después se llevó el material a punto crítico con CO₂ en una desecadora Sandri 795. Este material se montó en portamuestras metálicos para cubrirse con una capa de oro por medio de una ionizadora Jeol fc-1100. Se realizaron las observaciones correspondientes en un microscopio electrónico de barrido (Jeol JSM-6360LB SEM) y se tomaron micrografías electrónicas de una flor completa y de granos de polen.

RESULTADOS

Observaciones en campo

Las tres localidades donde se trabajó presentan condiciones muy similares: ríos de corrientes rápidas y el sol incide de forma directa sobre las rocas en donde se encuentran las plantas; en la figura 5 se presentan imágenes de los ríos en la época de colecta (sequía). La literatura señala que las podostemáceas se encuentran en ríos oligotróficos, siendo éstos de este tipo (Quiroz *et al.*, 1997).

Aunque las colectas se realizaron durante tres años consecutivos (2009, 2010 y 2011) en la misma temporada de secas (diciembre-enero), la etapa de madurez en la que se encontraron los botones y las flores fue muy diferente. En 2009 había en su mayoría flores ya senescentes, frutos y semillas. En los dos siguientes años, se encontró abundante material y en diferentes etapas de desarrollo, como se muestra en las figuras 6 y 7.

A



B



C



Figura 5. Ríos: A. Los Horcones. B. Las Juntas del Sur y C. Las Juntas y Los Veranos (Chico's Paradise).

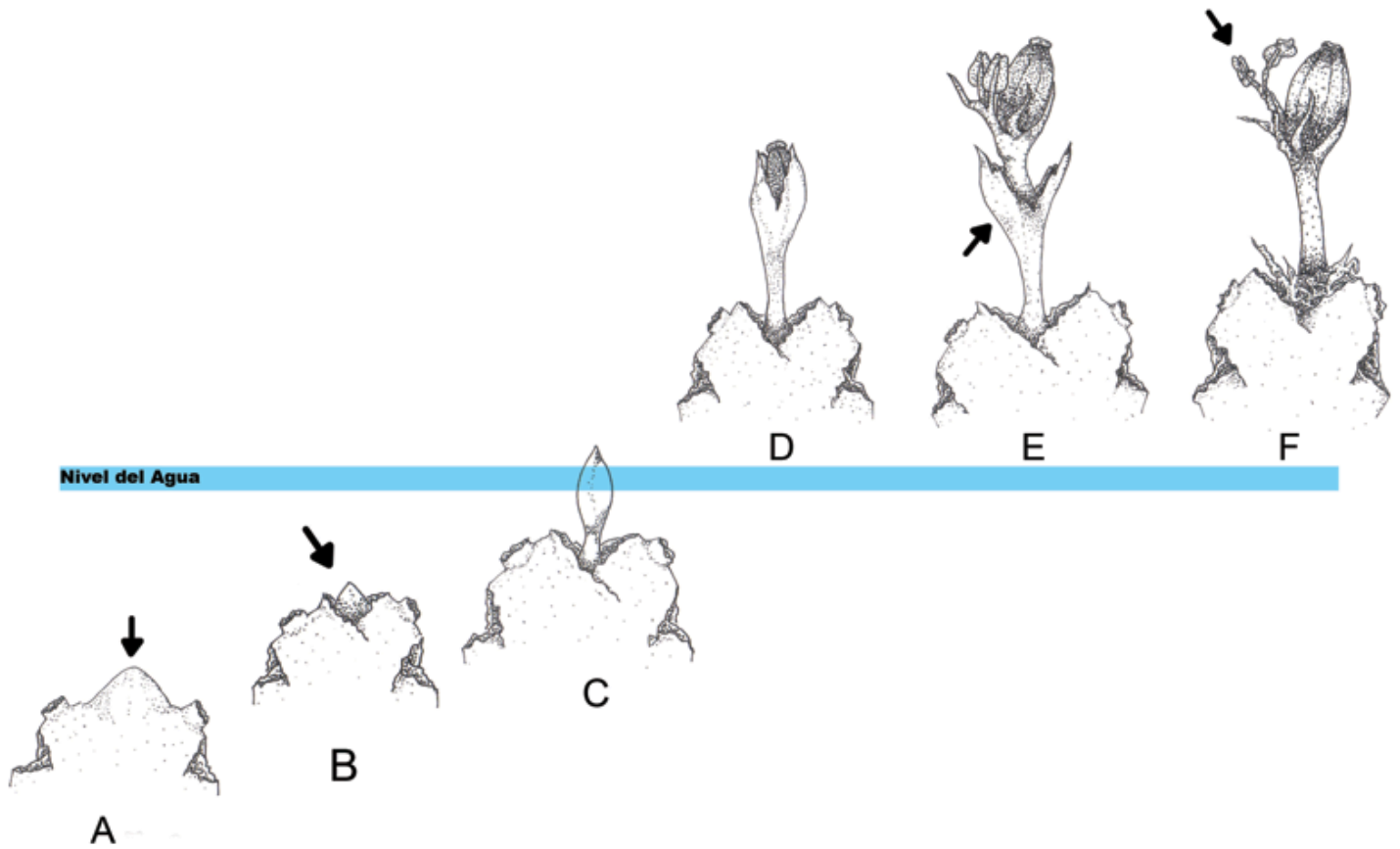


Figura 6. Botones florales de *Noveloa coulteriana* en diferentes etapas de desarrollo. A. La flecha señala el primordio floral, que se insinúa en el interior del tallo. B y C. Botón ya fuera del tallo envuelto por la espátula, la flecha señala el botón rompiendo el tallo. D. Flor emergiendo de la espátula. E. Flor en anthesis, la flecha señala restos de la espátula. F. Flor senescente (La línea azul indica el nivel del agua).

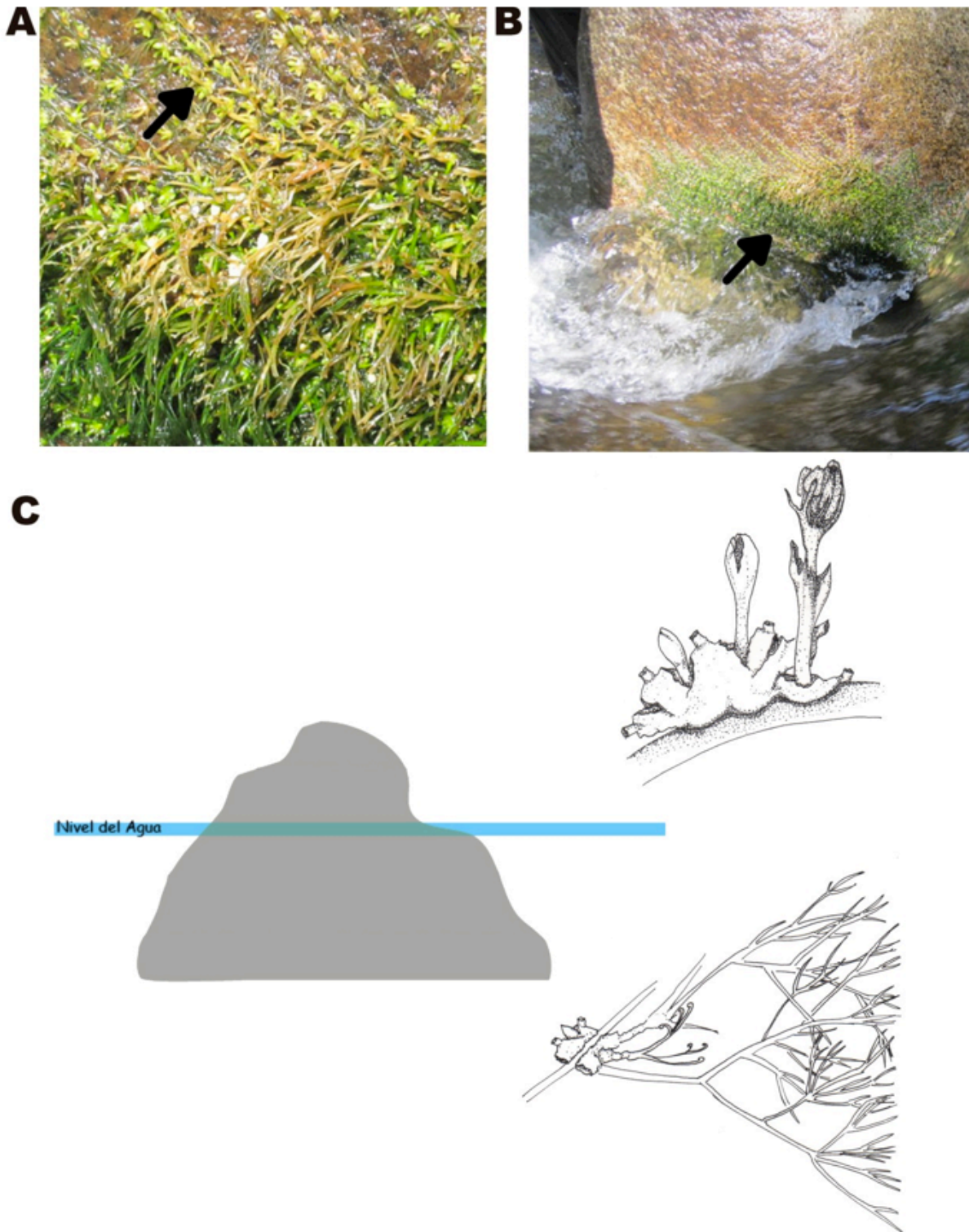


Figura 7. *Noveloa coulteriana* adherida a un sustrato rocoso. A y B. Muestra la parte vegetativa que está sumergida, las flores comienzan a ser expuestas al medio aéreo (flecha). C. Esquemas de la parte vegetativa (inferior) y de la parte reproductiva (superior).

La floración es dependiente del nivel del agua, en la temporada de lluvias se desarrolla el cuerpo vegetativo sumergido, y no es hasta la temporada de secas que en la superficie de las rocas, se observan botones florales pedicelados, flores en antesis y frutos, como se muestra en la figura 8, donde se ilustra la transición del medio acuático al aéreo.

En algunas localidades se observó que *Noveloa coulteriana* se asocia a otras especies de la misma familia como: *Vanroyenella plumosa*, *Marathrum rubrum* y *Tristicha trifaria*, creciendo en el mismo sustrato rocoso (figura 9), siendo *N. coulteriana*, por lo regular, la que se encontraba en la parte inferior de la roca, y no siendo expuesta sino hasta la antesis, como ya se ha explicado.

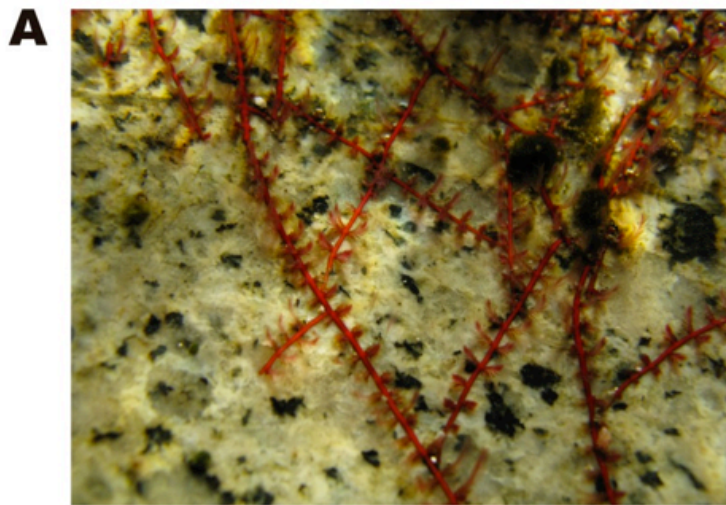


Figura 8. *Noveloa coulteriana*. Transición del medio acuático (A) al medio aéreo (B y C).

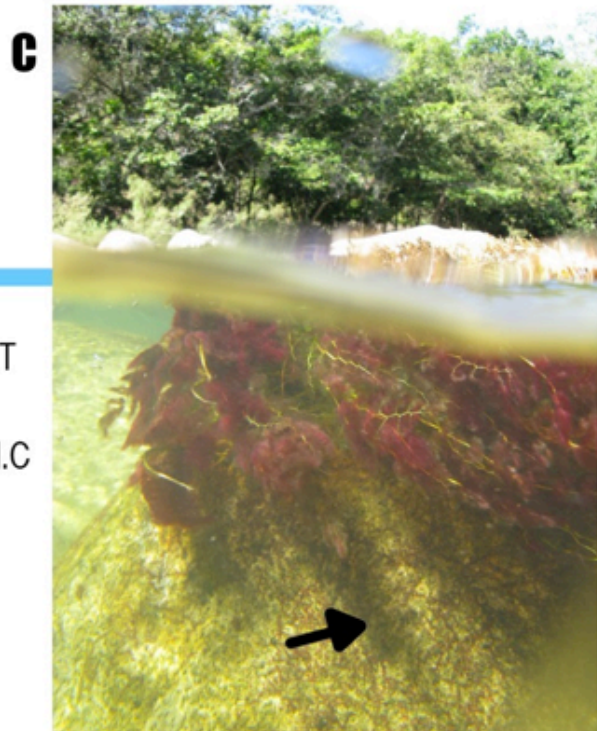
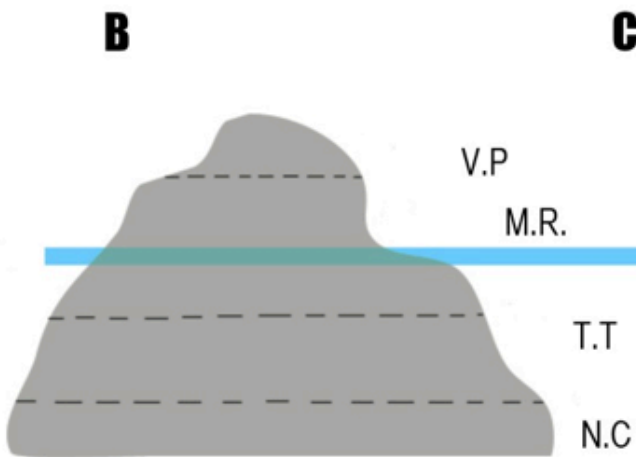


Figura 9. Posición que guardan las diferentes especies sobre una misma roca. A. Vista desde arriba de la roca B. Esquema que representa la posición de cada especie en la roca: *Vanroyenella plumosa* (V.P), *Marathrum rubrum* (M.R), *Tristicha trifaria* (T.T) y *Noveloa coulteriana* (N.C). C. Vista lateral de la roca (la flecha señala la posición de *N. coulteriana*).

Morfología y anatomía de la flor

Noveloa coulteriana presenta flores hermafroditas, el verticilo más externo consiste de dos tépalos laterales y un tépalo en la base del andropodio, el androceo está formado por un andropodio que sostiene de dos (en mayor proporción), a tres estambres. La antera es tetraesporangiada y bilobulada. El gineceo está constituido por ovario sincárpico, súpero; estigma bilobulado y carece de estilo (lámina 1).

Desarrollo de la pared de la antera

La etapa más temprana en el desarrollo de la pared de la antera comienza con la diferenciación de las células arquesporales, las cuales se encuentran rodeadas por la protodermis. Posteriormente ocurre una división periclinal, para formar una capa parietal primaria y el tejido esporógeno, la capa parietal primaria a través de otra división periclinal, da origen a dos capas celulares que constituirán la capa parietal secundaria externa e interna (lámina 2-A), la primera se convierte directamente en el endotecio, la interna dará origen a una capa media y al tapete. Posteriormente la capa media se divide periclinalmente dando origen a otra capa media. En total la pared de la antera joven se encuentra constituida por 5 capas: epidermis y endotecio, ambos monoestratificados, dos capas medias y el tapete (lámina 2-B). Dicho desarrollo se ilustra en la figura 10.

La epidermis es el tejido más externo de la antera, está formado por un solo estrato de células alargadas y uninucleadas y aunque se adelgaza durante la formación del grano de polen, ésta es persistente hasta el momento de liberación del mismo. El endotecio es monoestratificado y uninucleado, difiere muy poco de la epidermis o de las capas medias, y alcanza su diferenciación durante el periodo meiótico, que es cuando comienza a formar engrosamientos fibrosos en forma de bandas sobre su pared interna tangencial y sus paredes anticlinales (lámina 3-E).

Se observa la presencia de dos capas medias, que presentan células alargadas y delgadas (lámina 2-B). Un mayor desarrollo en la antera involucra una mayor diferenciación histológica, dando como resultado células y tejidos altamente especializados. Algunos de estos tipos celulares continúan diferenciándose, como el endotecio, mientras otras degeneran en etapas muy tempranas, como ocurre en las capas medias, que son efímeras, ya que colapsan y degeneran en una etapa temprana, éstas se obliteran y degeneran en etapa de células madres de las microsporas (lámina 2-B).

El tapete es la capa más interna, rodea al tejido esporógeno, forma un estrato bien definido, sus células son notablemente alargadas y es rico en un citoplasma activo, ya que éste se observa denso, presenta núcleos evidentes y las células se encuentran vacuoladas, dicha actividad termina en la degeneración misma del tapete en etapas posteriores (lámina 4-D), el tapete es del tipo secretor y está formado por una sola capa de células.

Presencia de almidón en la pared de la antera.

Se observó durante el desarrollo de la pared de la antera la presencia de almidón (lámina 3). En la etapa de células madres de las microsporas, la epidermis, el endotecio y las capas medias presentan abundante almidón, que aún es evidente en etapa de tétradas de microsporas (lámina 3-B). Este polisacárido es más abundante en el endotecio, cuando las capas medias ya han colapsado. Cuando los granos de polen aún son jóvenes, la cantidad de almidón claramente disminuye, pero sin desaparecer completamente (lámina 3-D), no es sino hasta que el grano de polen es maduro y bicelular, cuando está listo para la dispersión, que desaparece el almidón en las capas de la antera (lámina 3-E).

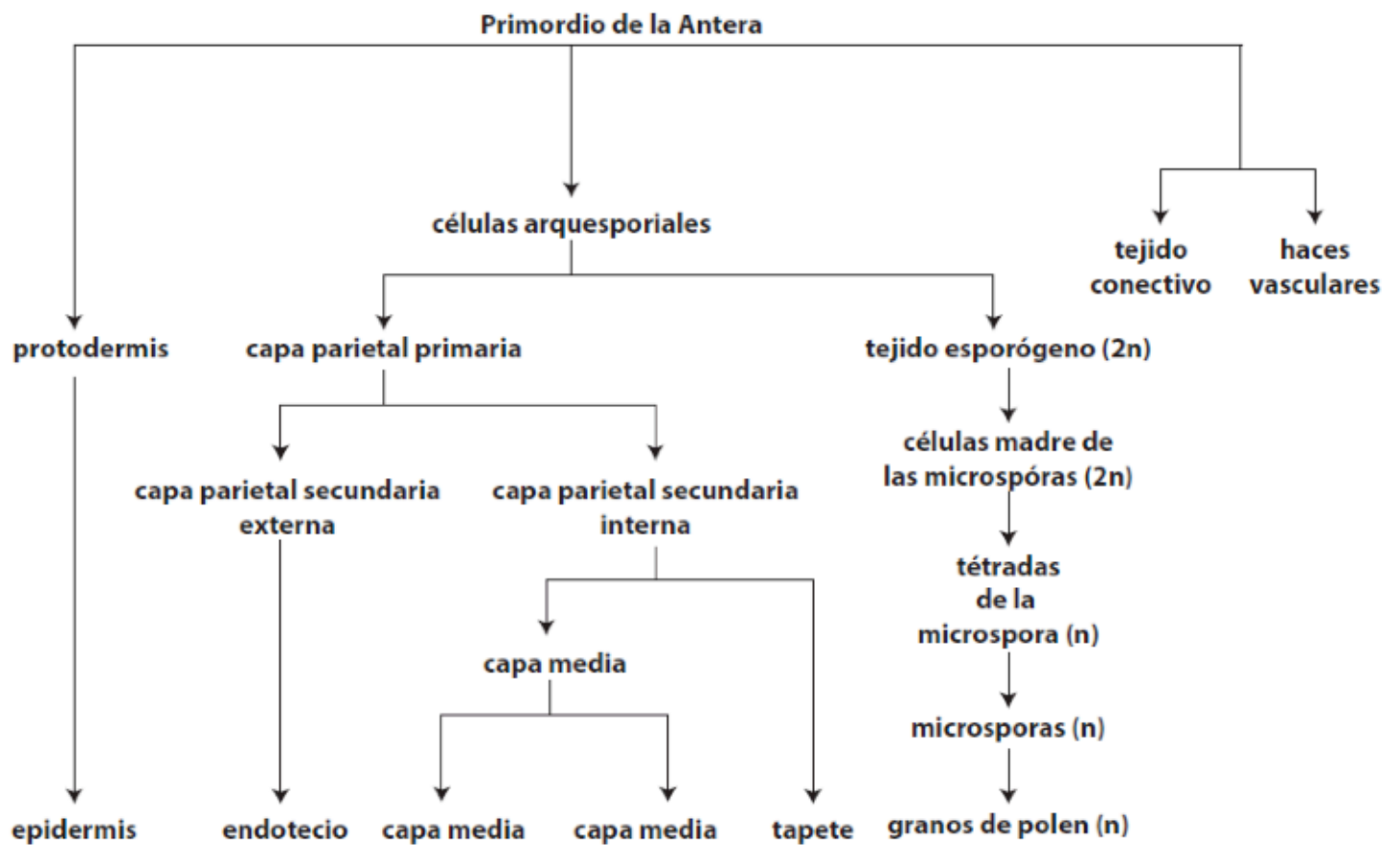


Figura 10. Esquema del origen de las diferentes capas de la pared de la antera en *Nove/oa coulteriana*.

Microsporogénesis y microgametogénesis

En *Noveloa coulteriana* las células arquesporales, a través de divisiones periclinales, se diferencian en células esporógenas y éstas entran a mitosis, formando a los microsporocitos o células madres de las microsporas que llenan el lóculo de la antera (lámina 4-A). Presentan un citoplasma denso y núcleos conspicuos, los microsporocitos incrementan notablemente su tamaño. Antes de que se inicie la meiosis, una capa de calosa, se comienza a depositar alrededor de las células madres de la microspora, seguida por la disolución de la pared primaria. Al finalizar la meiosis se forman cuatro microsporas haploides dentro de la tétrada (lámina 4-B), éstas tienen un acomodo tetraédrico. La calosa se deposita alrededor y entre las microsporas, así cada una se encuentra rodeada individualmente de calosa. Posteriormente de la disolución de la calosa por la calasa (enzima que se sintetiza en el tapete), las microsporas son liberadas en el interior del lóculo de la antera (lámina 4-C). Poco después de la liberación de la tétrada, las microsporas contienen un núcleo central prominente y se comienzan a observar la presencia de abundantes cuerpos de Ubisch adheridos a la pared radial interna de las células del tapete (lámina 5-A).

Una vez libre la microspora en el interior del lóculo, incrementa su tamaño y el núcleo se hace aún más prominente. Una gran vacuola se forma dentro de la microspora seguida de la migración del núcleo hacia la periferia de la célula (lámina 5-B). Ya en esa posición, el núcleo se divide mitóticamente formando una placa entre los dos nuevos núcleos, esta división es desigual, ya que se forman dos células morfológicamente diferentes: la célula vegetativa y la célula generatriz, ambas células se encuentran separadas por sus respectivas membranas, y la célula generatriz, más pequeña, se encuentra inmersa en la célula vegetativa que es la más grande (lámina 5-C). Algo notable, aún sin explicación, es la presencia de un “septo” sumamente grueso que separa a la célula vegetativa de la generatriz, grosor no observado en las otras especies de podostemáceas estudiadas.

En un comienzo, la célula generatriz es de forma lenticular (lámina 5-B), la separación de la célula generatriz de la pared del grano de polen se inicia con la pérdida de dicha forma. Después de esta separación se mueve hacia el núcleo de la célula vegetativa, adoptando una forma elipsoidal (lámina 5-D). Mientras tanto la célula vegetativa, que es la de mayor volumen, presenta un núcleo muy conspicuo y un citoplasma denso. Para esta etapa el almidón ha desaparecido de la antera y se presenta dentro del grano de polen. La pared de la antera rodea a las microsporas y se observa la exina ornamentada.

Estructura del grano de polen

El polen es tricolpado, los colpos son transversalmente alargados con los ápices redondeados (lámina 5-C), las aberturas, aunque grandes, no alcanzan los polos (lámina 5-B), la ornamentación de la abertura es equinada, y el resto de la exina es microequinada (lámina 5-D). El polen se dispersa en mónadas (lámina 5-A). Los granos de polen presentan una polaridad del tipo isopolar, mientras que la simetría es radiosimétrica.

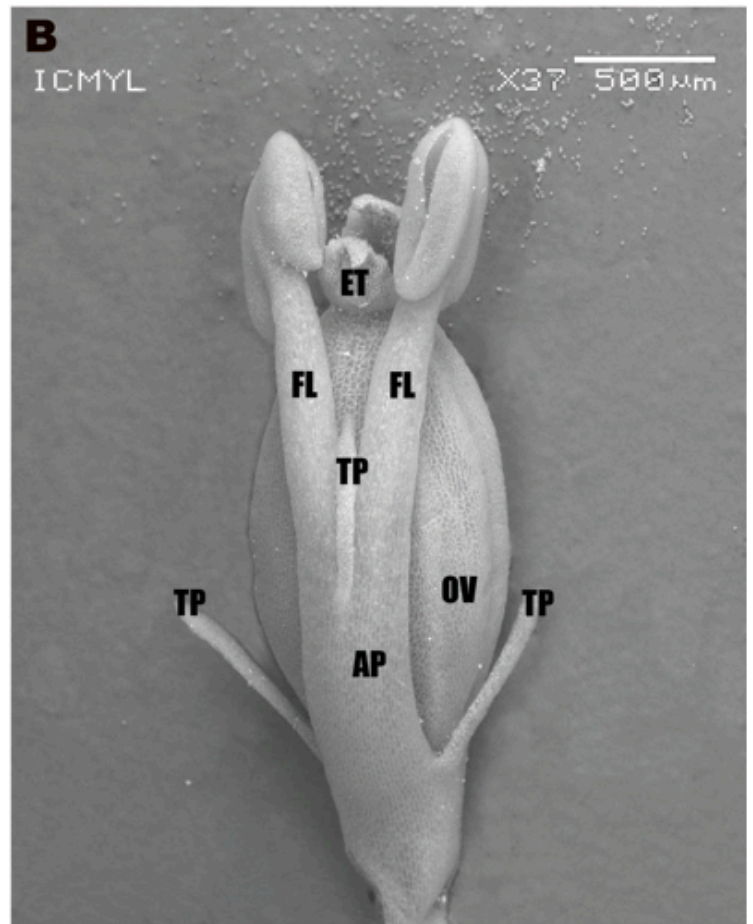
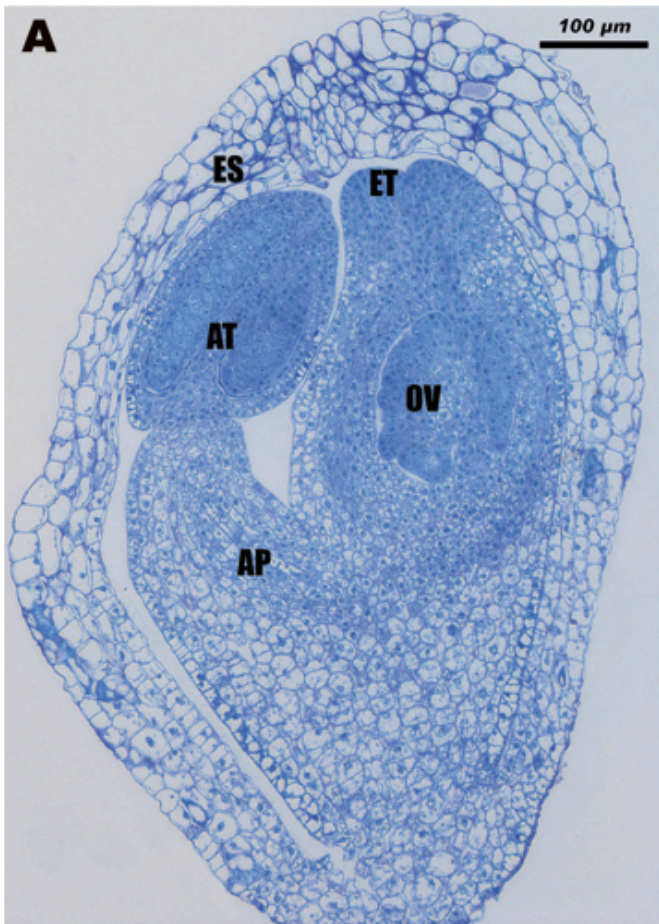


Lámina 1

Lámina 1. **Botón floral y flor de *Noveloa coulteriana*.** **A.** corte longitudinal de botón floral, se observa la espátela rodeando a los órganos reproductivos. El gineceo, compuesto por un ovario y estigma sésil. El androceo constituido por un andropodio, filamentos y antera. **B.** La micrografía presenta a una flor en anthesis constituida por tres tépalos, androceo y gineceo. **AP:** Andropodio, **AT:** Antera, **ES:** Espátela, **ET:** Estigma, **FL:** Filamento, **OV:** Ovario, **TP:** Tépalos.

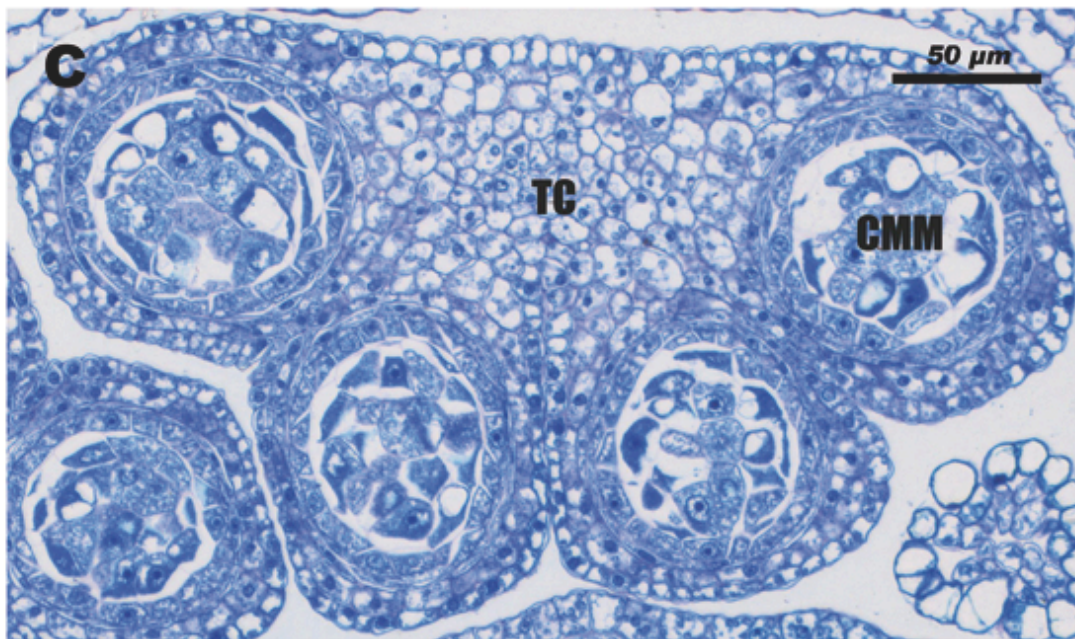
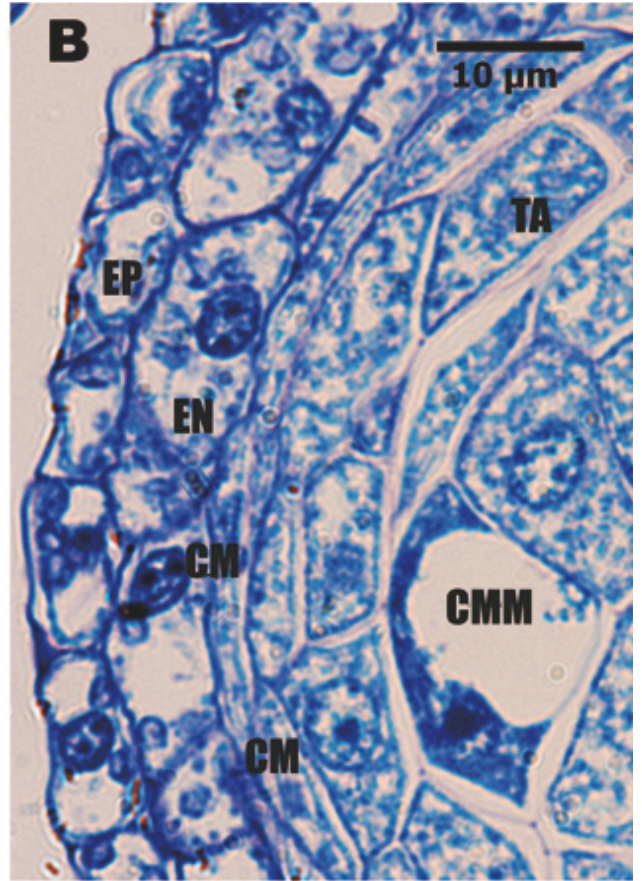
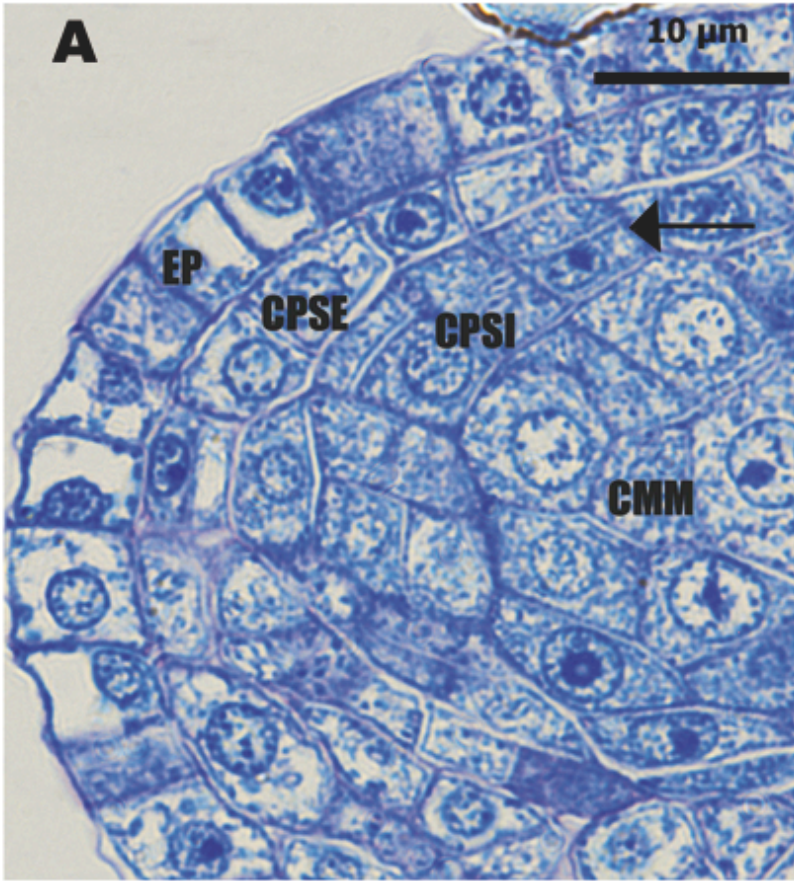


Lámina 2

Lámina 2. **Desarrollo de la pared de la antera.** **A.** Corte transversal de un microsporangio. Se observan las divisiones periclinales (flechas) de la pared de la antera. Hacia el centro del microsporangio, células madres de las microsporas. **B.** Capas de la pared de la antera joven: Epidermis, endotecio, dos capas medias y el tapete. **C.** Corte transversal de antera joven bilobulada y tetraesporangiada. **CM:** Capa media, **CMM:** Células madres de las microsporas, **CPSE:** Capa parietal secundaria externa, **CPSI:** Capa parietal secundaria interna, **EN:** Endotecio, **EP:** Epidermis, **TA:** Tapete, **TC:** Tejido conectivo.

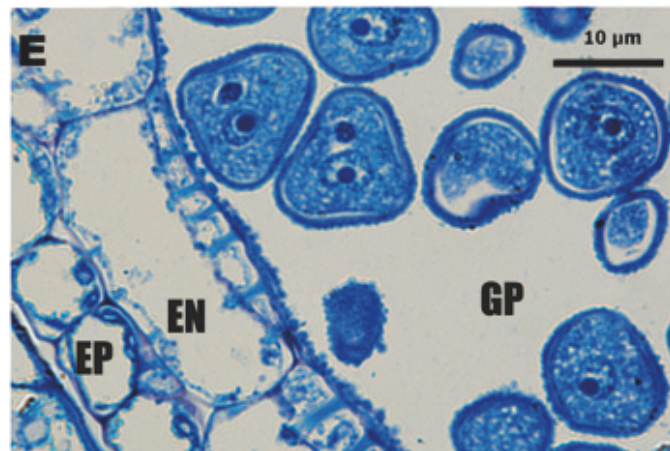
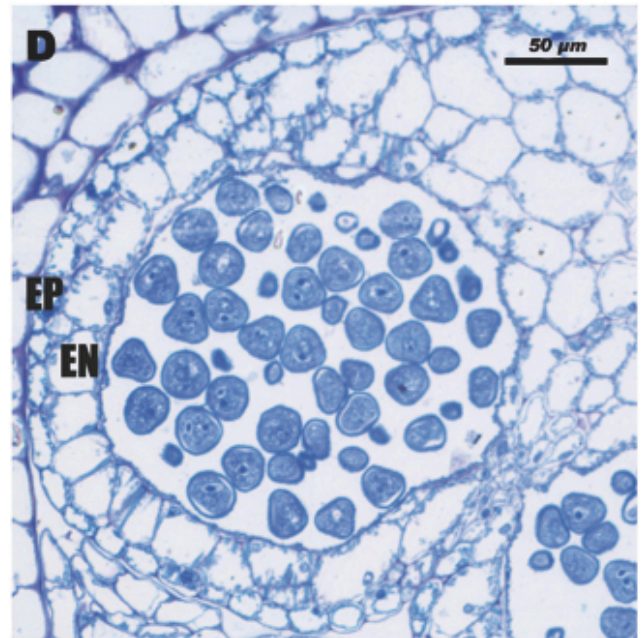
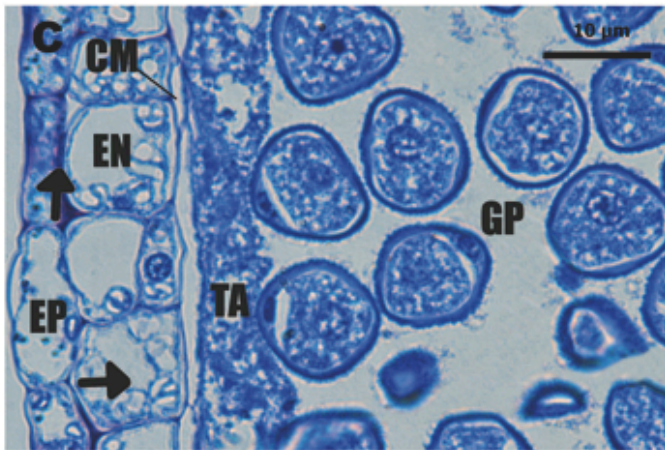
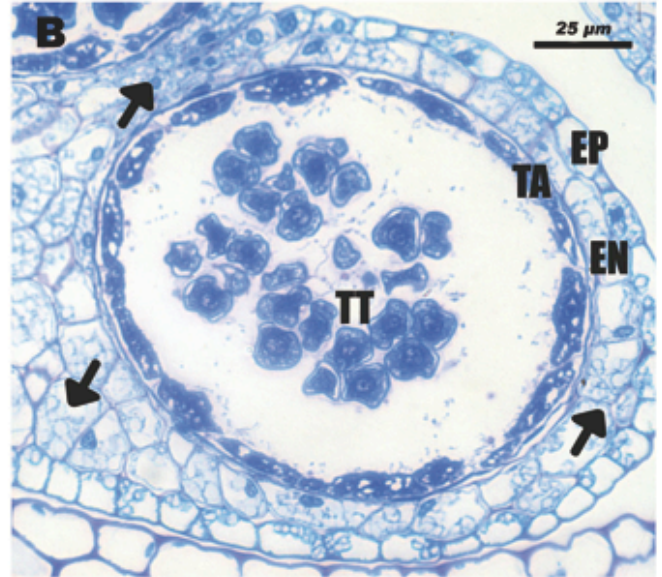
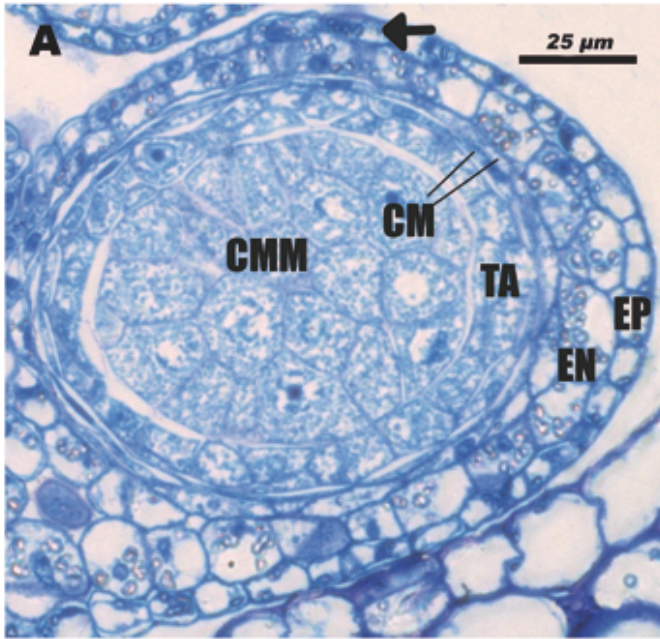


Lámina 3

Lámina 3. **Almidón como material de reserva en antera.** Cortes transversales

A. Presencia de almidón en epidermis, endotecio y las capas medias (flechas). **B.** Almidón abundante en epidermis y endotecio (flechas). Las capas medias han desaparecido. **C.** En la etapa de grano de polen joven el almidón se localiza en la epidermis y el endotecio. **D.** El almidón casi ha desaparecido en la pared de la antera en la etapa bicelular del grano de polen **E.** En la etapa de grano de polen maduro ya no se encuentra almidón en las capas de la antera, la flecha indica los engrosamientos del endotecio. **CM:** Capas medias, **CMM:** Células madres de mirosporas, **EN:** Endotecio, **EP:** Epidermis, **GP:** Grano de polen, **TA:** Tapete, **TT:** Tétradas.

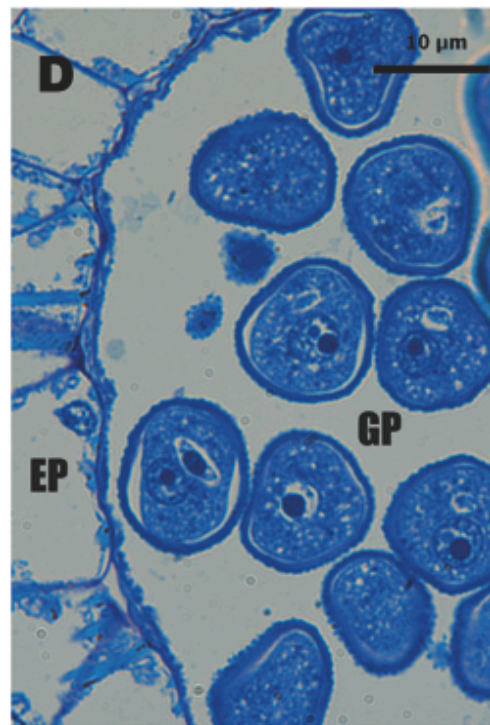
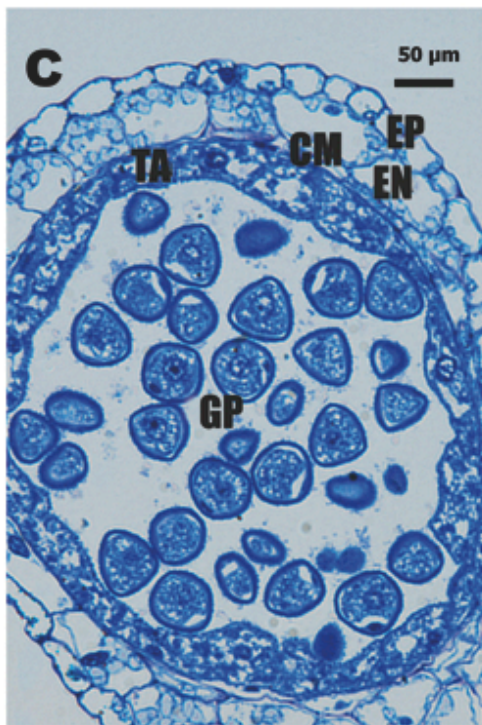
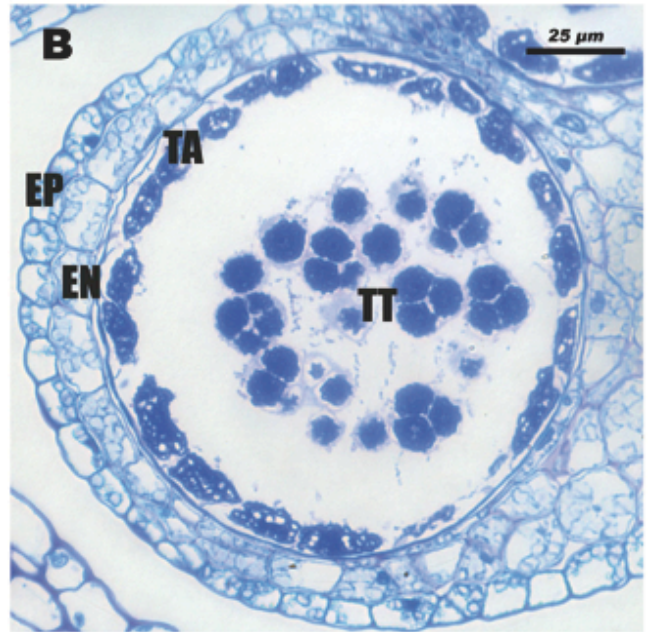
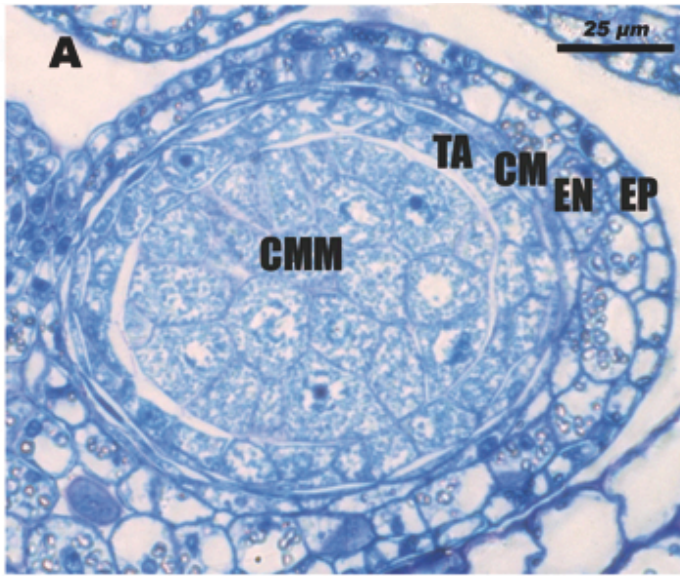


Lámina 4

Lámina 4. **Desarrollo del tapete.** Corte transversal de antera. **A.** Tapete en etapa de células madres de las microsporas. **B.** Tapete en etapa de tétradas **C.** Tapete en etapa de grano de polen joven uninucleado. **D.** El tapete ha desaparecido en la etapa de polen bicelular. **CM:** Capa media, **CMM:** Celulas madres de las microsporas. **EN:** Endotecio, **EP:** Epidermis, **GP:** Grano de polen, **TA:** Tapete, **TT:** Tétradas.

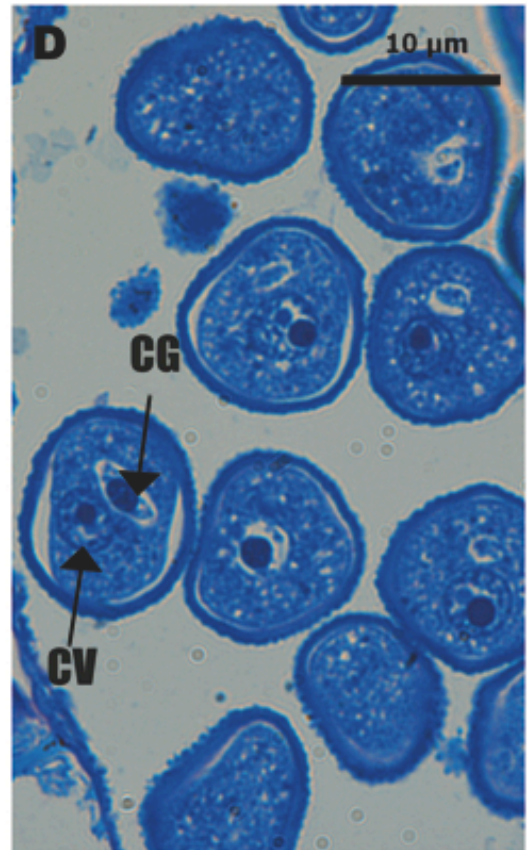
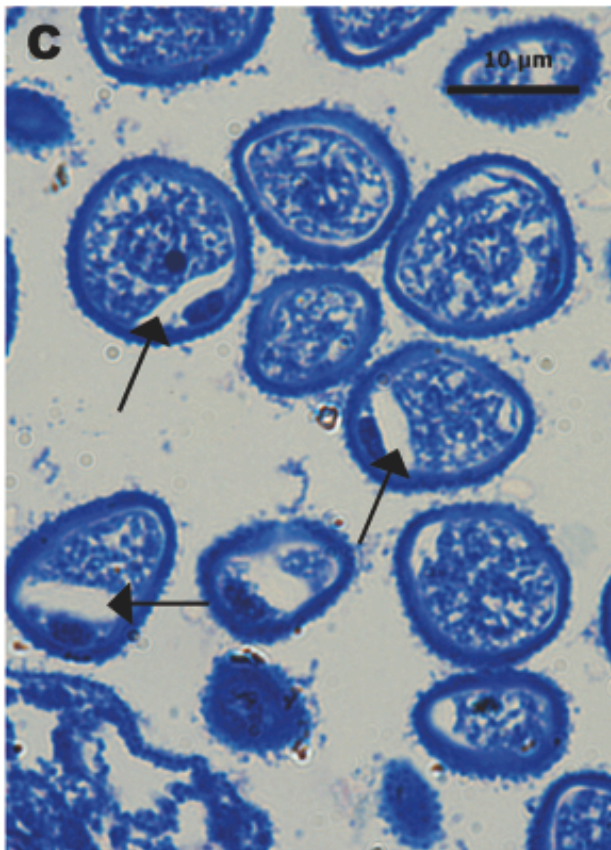
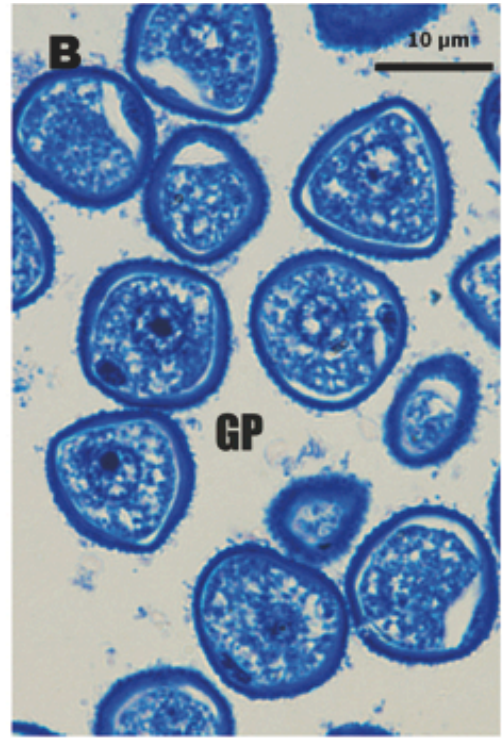
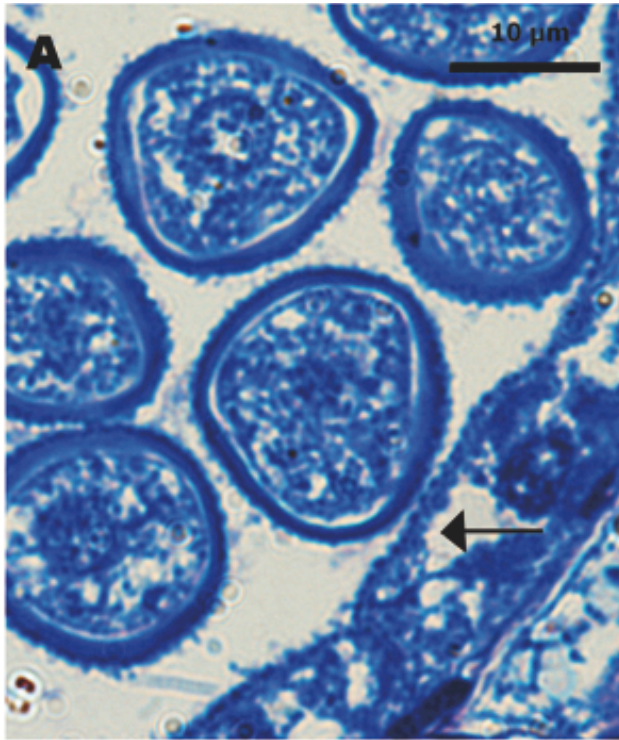


Lámina 5

Lámina 5. **Microgametogénesis.** **A.** Grano de polen uninucleado (La flecha señala los cuerpos de Ubisch). **B.** Primera división mitótica del grano de polen. **C.** Formación de un septo muy evidente entre las dos células del grano de polen (La flecha señala el septo). **D.** Grano de polen bicelular con la célula generatriz y la célula vegetativa. **CG:** célula generatriz, **CV:** Célula vegetativa, **GP:** Grano de polen.

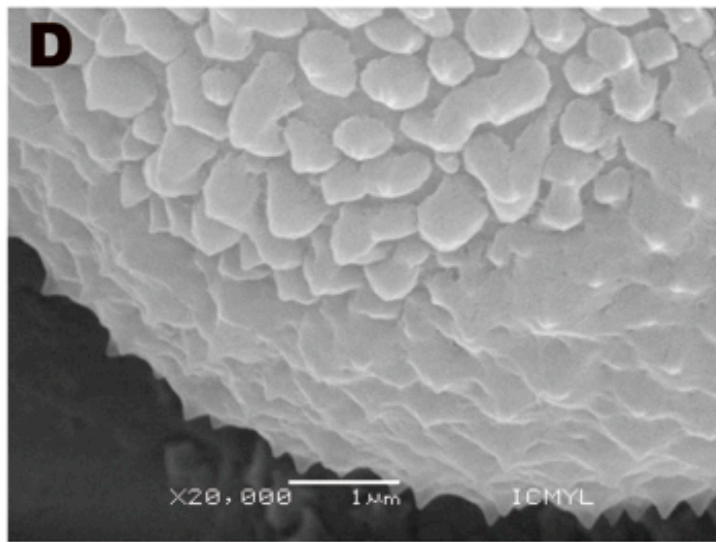
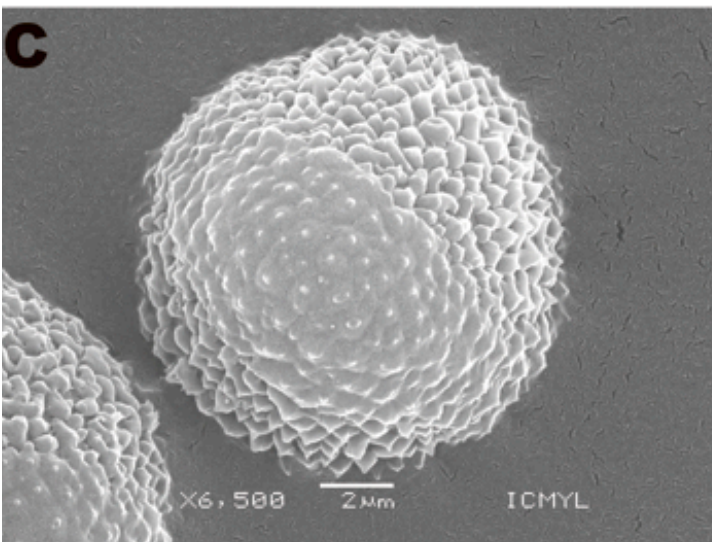
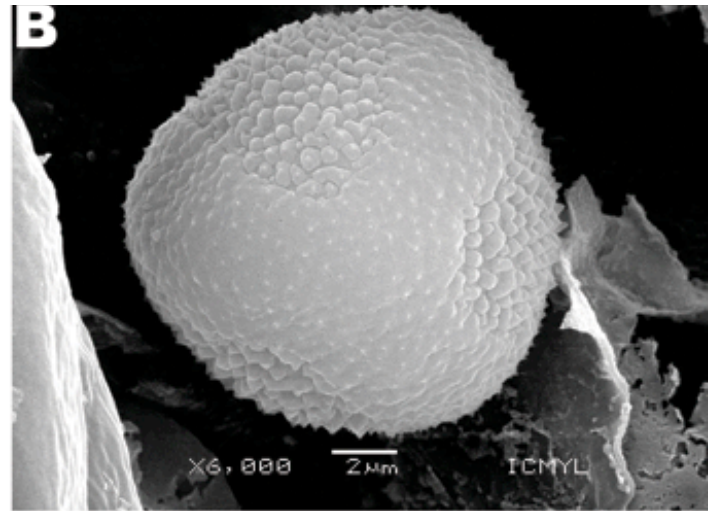
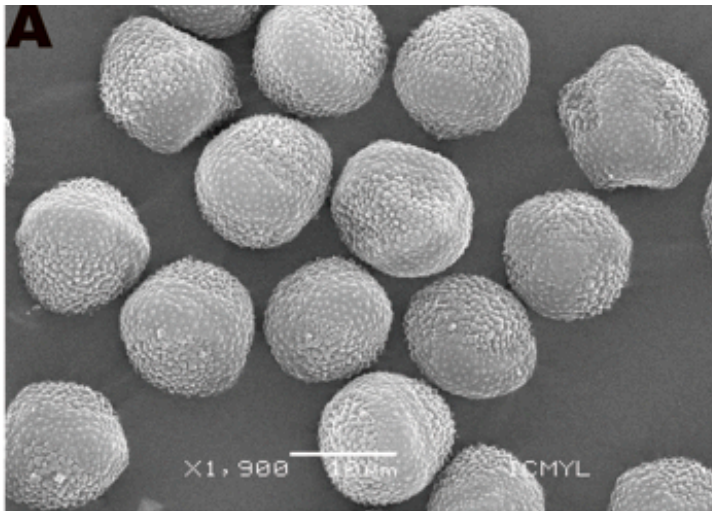


Lámina 6

Lámina 6. **Granos de polen observados al MEB.** **A.** Granos de polen tricolpados. **B.** Grano de polen en vista polar. **C.** Grano de polen en vista meridional. **D.** Ornamentaciones de la exina.

Discusión

Las fases gametofítica y esporofítica de *Noveloa coulteriana* se inician cuando la planta se encuentra completamente sumergida, ya que los primordios florales se forman dentro del tallo que se encuentra adherido a las rocas por debajo del nivel del agua (Jäger-Zürn y Grubert, 2000). Este tipo de desarrollo de las estructuras reproductoras es general en la familia Podostemaceae (Scnell, 1967). Es hasta que el botón floral se eleva y sale del agua, por el crecimiento del pedicelo, que se lleva a cabo la ruptura de la espatela, característica de la subfamilia Podostemoideae (Cook, 1990). Es en este momento que la flor se expande y expone el androceo y el gineceo al ambiente aéreo para realizar la polinización. Es posible que el incremento de la temperatura y la disponibilidad de nutrientes, además del decremento en los niveles del agua, sean los factores que disparan la diferenciación del meristemo vegetativo a meristemo floral como lo menciona Murguía-Sánchez (2003).

La embriología de *N. coulteriana* ya había sido investigada anteriormente (Murguía-Sánchez, 2003); sin embargo, sólo se mencionan algunos aspectos generales de los órganos reproductivos. En este trabajo se profundiza en el conocimiento del desarrollo de la pared de la antera, la microsporogénesis y microgametogénesis, así como en la estructura del grano de polen.

Es importante señalar que hay pocos estudios que aborden el estudio del gametofito masculino dentro de la familia, y los trabajos que existen son incompletos.

Los datos embriológicos son importantes en estudios filogenéticos (Simpson, 2006). Dentro de las Podostemaceae las principales características que la definen están dadas por el gametofito femenino tetracelular, un saco embrionario del tipo Apinagia, y un pseudosaco

embrionario o plasmodio nucelar (Mukkada, 1969; Battaglia 1971; Nagendran *et al.*, 1977, 1980; Jäger-Zürn, 1997); sin embargo los caracteres embriológicos masculinos pueden ser útiles (Sá-Haiad *et al.*, 2010).

Durante el periodo premeiótico en *Noveloa coulteriana* se observa la formación de la capa parietal primaria que se divide para formar la capa parietal secundaria externa e interna, la primera se diferencia directamente en el endotecio, mientras que la externa da origen a una capa media y al tapete, posteriormente la capa media se divide periclinalmente dando origen a otra capa media. Este desarrollo de la antera corresponde al tipo monocotiledóneo propuesto por Davis (1966) o tipo centrípeto propuesto por Batygina (2002). El tipo monocotiledóneo ya se ha descrito dentro de la familia (Khosla y Sehgal, 2009); sin embargo no es posible hacer generalizaciones, puesto que la información sobre el desarrollo de la pared de la antera en podostemáceas se conoce en menos del 4% de las especies.

El tapete de *Noveloa coulteriana* es del tipo secretor, como reportó Murguía-Sánchez (2003), alcanza su máxima actividad durante la meiosis y degenera en etapa de grano de polen joven. Se observó la presencia de cuerpos de Ubish que estaban adosados a los granos de polen, esta característica es propia del tapete del tipo secretor, el más común en las angiospermas (Furness y Rudall, 2001; Batygina, 2002). Estos cuerpos de esporopolenina o cuerpos de Ubish ya han sido reportados para algunas especies de la familia: *Apinagia latifolia*, *A. multibranchiata*, *A. goejei*, *Marathrum rubrum*, *M. schiedeanum*, y *Podostemum weddellianum*, entre otras (Jäger-Zürn *et al.*, 2006; Sá-Haiad *et al.*, 2010).

La presencia de almidón se ha reportado en otras especies dentro de la familia: *Terniola zeylanica*, *Vanroyenella plumosa* y *Marathrum schiedeanum* (Mukkada, 1969; Murguía *et al.*, 2001; Bravo, 2010). El almidón es el carbohidrato más abundante en las plantas (Esau, 2008).

Durante el desarrollo de la antera dicho polisacárido puede ser metabolizado de inmediato y utilizado por la microspora como nutrimento y también como precursor de la intina; convertido en otras moléculas, o almacenado como material de reserva (Pacini, 1996). En *Noveloa coulteriana* la cantidad de almidón en las células de la pared de la antera está directamente relacionada con las diferentes etapas de desarrollo, y esto sugiere que durante la fase de crecimiento los productos de la hidrólisis del almidón pueden ser consumidos parcialmente por dichas capas (por ejemplo el tapete), pero sobre todo para sostener el desarrollo de las microsporas (Clément *et al.*, 1994). Se presume que las reservas de almidón o de lípidos proveen la mayoría de la energía requerida, no solo durante el desarrollo de la microspora, sino para la germinación del grano de polen y el crecimiento del tubo polínico (Miki-Hiroshige y Nakamura, 1981: En Clément *et al.*, 1994).

El resultado de la meiosis en la microsporogénesis es la producción de cuatro microsporas haploides arregladas en diferentes patrones (Furness *et al.*, 2002). En *Noveloa coulteriana* se forman tétradas tetraédricas, por lo que se supone que el tipo de citocinesis que ocurre es simultánea, ya que este tipo de tétradas es generalmente el resultado de este tipo de citocinesis. Por otro lado, la descripción de tétradas tetraédricas como resultado de una división sucesiva es muy inusual, aunque puede ocurrir (Furness *et al.*, 2002). El tipo de citocinesis es muy variable dentro de la familia Podostemaceae, anteriormente se creía que aunque no era constante a nivel de familia, si lo era a nivel subfamilia: citocinesis simultánea en Tristichoideae y sucesiva en Podostemoideae (Magnus y Werner 1913; Razi, 1949; Mukkada, 1969; Chopra y Mukkada 1966: En Jäger-Zürn *et al.*, 2006). Jäger-Zürn *et al.*, (2006) reportaron la presencia de ambos tipos de citocinesis dentro de la subfamilia Podostemoideae.

En *Noveloa coulteriana*, cuando la microspora es liberada de la tétrada al lóculo de la antera, lo hace de forma individual (mónada). La disolución de la pared de calosa es un requisito para la liberación de las microsporas, aunque su desaparición no siempre da lugar a la liberación del grano de polen de manera individual, como ocurre en muchas familias. En la familia Podostemaceae el polen se puede dispersar en mónadas, díadas o tétradas (Shivanna, 2003); la liberación en mónadas ocurre en 10 especies de la subfamilia Tristichoideae y en la subfamilia monotípica Weddellinoideae, mientras que en la subfamilia Podostemoideae (con 270 especies), el grano de polen se libera tanto en mónadas, díadas o tétradas, siendo en forma de díadas la forma predominante (Jäger-Zürn *et al.*, 2006).

El grano de polen en *Noveloa coulteriana* se libera en estado bicelular como se ha reportado en la subfamilia Podostemoideae, el polen en estado tricolular solo se ha reportado en una especie (*Indotristicha ramosissima*) de la subfamilia Tristichoideae (Chopra y Mukkada, 1966: En Jäger-Zürn *et al.*, 2006).

En la siguiente tabla se resumen los resultados de la microsporogénesis y la microgametogénesis que se reportan para la familia Podostemaceae.

Tabla 3. Caracteres embriológicos del gametofito masculino en la familia Podostemaceae
(Modificado de Bravo, 2011).

Especie	Número de capas de la pared de la antera	Tipo de desarrollo de la pared	Tipo de citocinesis	Forma de la tétrada	Polen liberado	Tipo de diseminación del polen	Material de reserva en las capas de la antera
<i>Apinagia latifolia</i> ¹	3		Sucesiva	Isobilaterales o decusadas	Bicelular	Mónadas	
<i>Diamantina lombardii</i> ²			Simultánea	Tetraédricas		Tétradas	
<i>Marathrum rubrum</i> ³	2,3,4		Simultánea	Tetraédrica	Bicelular	Mónadas	
<i>Marathrum schiedeanum</i> ⁴	4		Simultánea	Tetraédrica	Bicelular	Mónadas	Almidón
<i>Vanroyenella plumosa</i> ⁵	5-6	Básico	Simultánea	Tetraédrica	Bicelular	Mónadas	Almidón
<i>Noveloa coulteriana</i>⁶	5	Monocotiledóneo	Simultánea	Tetraédrica	Bicelular	Mónadas	Almidón
<i>Podostemum ricciiforme</i> ⁷			Sucesiva	Isobilaterales	Bicelular	Diadas	
<i>Podostemum subulatum</i> ⁸			Sucesiva		Bicelular	Diadas	
<i>Podostemum olivaceum</i> ⁹			Sucesiva		Bicelular	Diadas	
<i>Polylepium stylosum</i> ¹⁰	5	Básico	Sucesiva		Bicelular	Diadas	
<i>Thelethylax minutiflorus</i> ¹¹			Simultánea				
<i>Terniola zeylanica</i> ¹²	4		Simultánea		Bicelular	Diadas	Almidón
<i>Griffithella hookeriana</i> ¹³	4				Bicelular	Mónadas	
<i>Tristicha trifaria</i> ¹⁴	4	Dicotiledóneo			Bicelular	Mónadas	
<i>Indotristicha ramosissima</i> ¹⁵	4	Monocotiledóneo	Simultánea		Tricelular	Mónadas	
<i>Dalzellia ceylanica</i> ¹⁶			Simultánea			Mónadas	
<i>Weddellina squamulosa</i> ¹⁷	4-5				Bicelular	Mónadas	

Subfamilia Podostemoideae ■

Subfamilia Tristichoideae ■

Subfamilia Weddellinoideae ■

Jäger-Zürn *et al.*, (2005); 2. Philbrick *et al.*, (2004) en Jäger-Zürn *et al.*, 2005. 3. Jäger-Zürn *et al.*, (2005) y Murguía-Sánchez, (2003); 4. Bravo, (2001). 5. Murguía-Sánchez *et al.*, (2011) y Murguía-Sánchez, (2003); 6. Villanueva-Arciniega, (2013); 7. Murguía-Sánchez, (2003); 8. Magnus y Werner 1913 en Jäger-Zürn *et al.*, 2005 y Magnus, (1913) en Murguía-Sánchez, 2003; 9. Magnus y Werner 1913 en Jäger-Zürn *et al.*, 2005 y Magnus, (1913) en Murguía-Sánchez, 2003; 10. Magnus y Werner 1913 en Jäger-Zürn *et al.*, 2005; Khosla *et al.*, 2005; Khosla *et al.*, (2000) y Kapil (1970) en Murguía-Sánchez, 2003; 11. Jäger-Zürn, (1967) en Jäger-Zürn *et al.*, (2005); 12. Mukkada, (1969) en Murguía-Sánchez, 2003; 13. Razi, (1949) en Jäger-Zürn *et al.*, 2005; 14. Murguía-Sánchez, (2003); 15. Khosla y Sehgal, (2009), Chopra y Mekkada, (1966) en Jäger-Zürn *et al.*, 2005; 16. Mukkada, (1969) en Murguía-Sánchez, 2003; 17. Jäger-Zürn (1997).

El grano de polen en *Noveloa coulteriana* es esférico y tricolpado, esto coincide con lo reportado por O'Neill *et al.*, (1997). El polen de la familia Podostemaceae (clasificación *sensu* van Royen, 1951) es generalmente caracterizado por ser tricolpado en Podostemoideae, pentaporado en Tristichoideae, y en el caso de *Weddellina* tricolporado (O'Neill *et al.*, 1997; Rutishauser, 1997).

Algo muy evidente en el grano de polen de *N. coulteriana* es la presencia de una estructura a la cual se le nombra "septo", entre la célula vegetativa y la célula generatriz, que aparece un poco después de la mitosis que acontece en el núcleo del grano de polen joven, en un principio se creyó que dicha estructura estaba constituida de calosa, ya que es el único polisacárido que ha sido observado en la zona delimitante entre estas dos células (Górska-Brylass, 1970). Sin embargo, al hacer pruebas citoquímicas no dieron positivo. Para determinar la naturaleza de dicho "septo" se tendrán que hacer más estudios.

La microsporogénesis, la microgametogénesis y la estructura del grano de polen de *N. coulteriana* sigue los patrones reportados para la subfamilia Podostemoideae en particular, y la familia Podostemaceae en general. La única característica embriológica del androceo que unifica a la familia es el tapete del tipo secretor (Johri *et al.*, 1992), ya que otros caracteres como el tipo de desarrollo de la pared de la antera, la forma y el estado en que se dispersa el grano de polen, así como la ornamentación del mismo varía mucho a nivel de familia y subfamilia.n

Conclusiones

- *Noveloa coulteriana* presenta un tipo de pared monocotiledóneo.
- Cuando la antera es inmadura se encuentra compuesta por cinco estratos celulares: epidermis, endotecio, dos capas medias y el tapete.
- La forma de las tétradas es tetraédrica, muy común como resultado de una citocinesis simultánea.
- El polen se dispersa en etapa bicelular.
- El material de reserva es el almidón, abundante en la pared de la antera en etapa de célula madre de la microspora y ausente en la etapa de grano de polen maduro.
- El almidón se traslada durante el desarrollo de la pared de la antera al grano de polen.

Referencias

- Ameka K. G., E. Pferfer y R. Rutishauser. 2002. Developmental morphology of *Saxicolella amicorum* y *S. submerse* (Podostemaceae: Podostemoideae) from Ghana. Botanical Journal of Linnean Society **139**: 255-273
- Arekal G. D. y C. R. Nagendran. 1975. Embryo sac of *Hydrobryopsis sessilis* (Podostemaceae) Origin, organization and significance. Botaniska Notiser **128**: 332-337.
- Battaglia E. 1971. The embryo sac of Podostemaceae an interpretation. Caryologia **24**: 403-420.
- Battaglia E. 1980. Embryological questions: 2. Is the endosperm of Angiosperms sporophytic or gametophytic? Annali di Botánica. (Roma), **39**: 9-30. En Murguía G. 2003. Embriología comparada de los géneros de la familia Podostemaceae en México. Tesis de doctorado (Biología), Posgrado en ciencias biológicas, Facultad de ciencias, Universidad Nacional Autónoma de México. México, D.F. 125 pp
- Batygina T. B. (Ed.). 2002. Embryology of flowering plants. Terminology and Concepts. Vol 1. Generative Organs of Flower. Science Publishers, Inc. Enfield (NH), USA
- Bravo C. 2011. Desarrollo del gametofito masculino y formación del tubo polínico en *Marathrum schiedeanum*, Podostemaceae. Tesis de Licenciatura (Biólogo), Facultad de Ciencias, Universidad Nacional Autónoma de México. México, D. F. 72 pp

- Cevallos S. 2013. Origen de las angiospermas. En: Márquez J. M. Collazo, M. Martínez, A. Orozco, S. Vazquez. (Eds). Biología de angiospermas. Las prensas de ciencias, Facultad de Ciencias, Universidad Nacional Autónoma de México. México. 602 pp
- Chopra R. N. y J. A. Mukkada. 1966. Gametogenesis and pseudo-embryo sac in *Indostricha ramosissima* (Wight) van Royen. Phytomorphology **16**: 182-188. En Jäger-Zürn I., A. Novelo y C. T. Philbrick. 2006. Microspore development in Podostemaceae-Podostemoideae, with implications on the characterization of the subfamilies. Plant Systematics and Evolution **256**: 209-216
- Clément C., L. Chavant, M. Burrus y J. Audran. 1994. Anther starch variations in *Lilium* during pollen development. Sexual Plant Reproduction **7**: 347-356
- Cook C. D. K. 1990. Aquatic Plant Book. SPB Academic Publishing, The Hague, The Netherlands. 228 pp
- Cook C.D. K y R. Rutishauser. 2007. Podostemaceae. En: Kubitzki K (Ed). The Families and Genera of Vascular Plants. Berlin: Springer. Vol. **9**: 304-344
- Davis G. 1966. Systematic embryology of the Angiosperms. John Wiley & Sons, Inc. New York.
- Engler A. 1930. Reihe Podostemales. In Die natürlchen Pflanzen-familien. 2nd ed. Vol.18a pp1-68. Pp. 483-484
- Esau K. 2008. Anatomía vegetal, meristemas, células y tejidos de las plantas: su estructura, función y desarrollo. 3°ed. Ediciones Omega. Barcelona.

- Furness C. A. y P. J. Rudall. 2001. The tapetum in basal angiosperms: early diversity. *International Journal of Plant Sciences* **162**: 375-392
- Furness C. A., P. J. Rudall y B. Sampson. 2002. Evolution of microsporogenesis in angiosperms. *International Journal of Plant Sciences* **163** (2): 235-260
- Górska-Brylarska Alicja. 1970. The “callose stage” of the generative cells in pollen grains. *Grana* **10**: 21-30
- Jäger-Zürn I. 1997. Embryological and floral studies in *Weddellina squamulosa* Tul. (Podostemaceae, Tristichoideae). *Aquatic Botany* **57**: 151-182
- Jäger-Zürn I. y M. Grubert. 2000. Podostemaceae depend on sticky biofilms with respect to attachment to rocks in waterfalls. *International Journal of Plant Sciences* **161**(4): 599-607
- Jäger-Zürn I., A. Novelo y C. T. Philbrick. 2006. Microspore development in Podostemaceae-Podostemoideae, with implications on the characterization of the subfamilies. *Plant Systematics and Evolution* **256**: 209-216
- Johri B., K. Ambegaokar y P. Srivastava. 1992. *Comparative Embryology of Angiosperms*. Springer-Verlag. New York. 1221 pp
- Kapil, R.N. 1970. Podostemaceae. *Bulletin of the Indian National Science Academy* **41**: 104-109
- Kita Y. y M. Kato. 2001. Intrafamilial phylogeny of the aquatic angiosperm Podostemaceae inferred from the nucleotide sequences of matK Gene. *Plant biology* **3**: 156-163

- Khosla Ch. y A. Sehgal. 2009. Pollination biology of *Indostricha ramosissima* (Podostemaceae: Tristichoideae). *Aquatic Botany*. **91**: 51-56
- López M., J. Márquez y G. Murguía. 2005. Técnicas para el estudio del desarrollo en angiospermas. 2ª ed. Las prensas de ciencias, Facultad de Ciencias, Universidad Nacional Autónoma de México. México. 178 pp
- Magnus W., E. Werner. 1913. Die atypische embryonalentwicklung der Podostemaceen. *Flora* **105**: 276- 336. En. Jäger-Zürn I., A. Novelo y C. T. Philbrick. 2006. Microspore development in Podostemaceae-Podostemoideae, with implications on the characterization of the subfamilies. *Plant Systematics and Evolution* **256**: 209-216
- Martínez M. 2013. El mundo de las angiospermas. En: Márquez J. M. Collazo, M. Martínez, A. Orozco, S. Vazquez. (Eds). *Biología de angiospermas*. Las prensas de ciencias, Facultad de Ciencias, Universidad Nacional Autónoma de México. México. 602 pp
- Miki-Hiroshige H. y S. Nakamura, 1981. The metabolic incorporation of label from myoinositol-2-3H by the growing Young anther of *Lilium longiflorum*. *Acta Societatis Botanicorum Poloniae* **50**: 70-82. En: Clément C., L. Chavant, M. Burrus y J. Audran. 1994. Anther starch variations in *Lilium* during pollen development. *Sexual Plant Reproduction* **7**: 347-356
- Mukkada A. 1969. Some aspects of the morphology, embryology and biology on *Terniola zeylanica* (Gardner) Tulasne. *New Phytologist* **68**: 1145-1158
- Murguía-Sánchez G., A. Novelo, C. Philbrick y J. Márquez –Guzmán. 2001. Desarrollo de los verticilos sexuales de *Vanroyenella plumosa* Novelo & Philbrick (Podostemaceae). *Acta Botánica Mexicana*. **57**: 37-50

- Murguía-Sánchez G. 2003. Embriología comparada de los géneros de la familia Podostemaceae en México. Tesis de doctorado (Biología), Posgrado en ciencias biológicas, Facultad de Ciencias, Universidad Nacional Autónoma de México. México, D.F. 125 pp
- Novelo R. A. y C. T. Philbrick. 1995. A New Species of *Oserya* (Podostemaceae) from Jalisco, México. *Novon* **5**: 54-56
- Novelo A. y Philbrick T. 1997. Taxonomy of Mexican Podostemaceae. *Aquatic Botany* **57**: 275-303
- Novelo R. A. y C.T. Philbrick. 2000. Familia Podostemaceae en: Flora del Bajío y de regiones adyacentes, fascículo 87. Instituto de Ecología A.C. Centro Regional del Bajío Pátzcuaro, Michoacán, México, en colaboración con CONACYT y CONABIO pp 8
- O' Neill. S. P., J. M. Osborn, C. T. Philbrick, A. Novelo. 1997. Comparative pollen morphology of New World genera of Podostemaceae. *Aquatic Botany* **57**: 133-150
- Pacini E. 1996. Types and meaning of pollen carbohydrate reserves. *Sexual Plant Reproduction* **9**: 362-366
- Philbrick C. T. y A. Novelo. 1995. New world Podostemaceae: Ecological and evolutionary enigmas. *Brittonia* **47**: 210-222
- Philbrick C. T. y D. H. Less. 1996. Evolution of Aquatic Angiosperm. Reproductive Systems. *BioScience* **46** (11): 813-826
- Quiroz F. A., A. Novelo y C. T. Philbrick. 1997. Water chemistry and the distribution of Mexican Podostemaceae: a preliminary evaluation. *Aquatic Botany* **57**: 201-212

- Raghavan V. 1997. Molecular embryology of flowering plants. Cambridge University press. P. 1-14

- Razi B. A. 1949. Embryological studies of two members of Podostemaceae. Botanical Gazette **111**: 211-218

- Van Royen P. 1951. The Podostemaceae of the New World. Part I. Mededeelingen van het Botanisch Museum en Herbarium van der Rijks Universiteit te Utrecht **107**: 1 -151. En Osborn J., O'Neill S. y G. El-Ghazaly. 2000. Pollen morphology and ultrastructure of *Marathrum schiedeanum* (Podostemaceae). Grana **39**: 221–225

- Van Royen P. 1954. The Podostemaceae of the New World. III . Acta Botanica Neerlandica **3**: 215–263. En Tippery N. P., C. T. Philbrick, C. P. Bove y D. H. Les. 2011. Systematics and
- Phylogeny of neotropical riverweeds (Podostemaceae: Podostemoideae). Systematic Botany **36**(1): 105-118

- Rutishauser R. 1997. Structural and developmental diversity in Podostemaceae (river- weeds). Aquatic Botany **57**: 29-70

- Sá-Haiad B., C. A.Torres, V. H. de Abreu, M. Goncalves, C. B. F. Mendonca, L. D.R de Santiago-Fernandes, C.P. Bove y V. Goncalves-Esteves. 2010. Floral structure and palynology of *Podostemun weddellianum* (Podostemaceae: Malpighiales). Plant Systematics and Evolution **290**: 141-149

- Scnell R. 1967. Etudes sur l'anatomie et la morphologie des Podostémacées. Candollea **22**: 157-225

- Sculthorpe C. D. 1985. *The Biology of Aquatic Vascular Plants*. Edward Arnold. Londres. 610 pp
- Shivanna. K. R. 2003. *Pollen Biology and Biotechnology*. Science Publisher, Inc. USA.
- Simpson M. G. 2006. *Plant Systematics*. Elsevier Press. Oxford. 301 pp
- Tippery N. P., C. T. Philbrick, C. P. Bove y D. H. Les. 2011. Systematics and Phylogeny of neotropical riverweeds (Podostemaceae: Podostemoideae). *Systematic Botany* **36**(1): 105-118
- Tulasne, L. R. 1849. *Podostemacearum synopsis monographica* . *Annales des Sciences Naturelles. Botanique*. Paris 11: 87 – 114. En Tippery N. P., C. T. Philbrick, C. P. Bove y D. H. Les. 2011. Systematics and Phylogeny of neotropical riverweeds (Podostemaceae: Podostemoideae). *Systematic Botany* **36**(1): 105-118
- Went, F. A. 1910. *Untersuchungen über Podostemacees*. *Verhandelingen der Koninklijke Nederlandsche Akademie van Wetenschappen; Afdeling Natuurkunde* . Tweede Sectie **16**: 1–88. En: Tippery N. P., C. T. Philbrick, C. P. Bove y D. H. Les. 2011. Systematics and Phylogeny of neotropical riverweeds (Podostemaceae: Podostemoideae). *Systematic Botany* **36**(1): 105-118
- Willis K. J. y J. C. Mc Elwain. 2002. *The evolution of plants*. Oxford University Press. P. 156-193