

ESTUDIOS EMBRIOLOGICOS
EN *CABOMBA AUSTRALIS* (NYMPHAEACEAE)
I. LA ESPOROGENESIS Y LAS GENERACIONES SEXUADAS

Por B. G. GALATI¹

SUMMARY

Sporogenesis and gametogenesis were studied in *Cabomba australis* Speg. (*Nymphaeaceae*).

The anther wall originates according to the basic type. The division of the microspores' mother cell is successive. The tetrads are isobilateral and decussate. Pollen grains are anacolpate and the exine shows superstriation.

Matures ovules are anatropous, bitegmic and crassinucellate. Megaspores show a lineal arrangement. The chalazal megaspore produces a 4-nucleate embryo sac which develops according a variant of the *Oenothera* type.

INTRODUCCION

Cabomba australis Speg. es una planta sumergida, arraigada, que presenta dimorfismo foliar. Las hojas sumergidas son varias veces palmatisectas, y las hojas flotantes peltadas, acompañan a las flores cuando emergen a la superficie. Estas constan de tres sépalos, tres pétalos, seis estambres y tres carpelos, cada uno de ellos con tres óvulos péndulos. Las anteras son extrorsas (Saunders, 1936; Cabrera, 1953).

Esta especie presenta una distribución que abarca desde el Sur de Brasil hasta Paraguay y Noroeste de Argentina (Fasset, 1953).

La familia *Nymphaeaceae* posee una serie de peculiaridades muy especiales que han despertado el interés de los botánicos. En efecto, la presencia de representantes con granos de polen monocolpados, flores trímeras, atactostela en el rizoma y hábito de la planta con aspecto de monocotiledónea son de por sí elocuentes, no obstante el carácter dicotiledóneo de su embrión. Sin embargo, la familia no ha sido explorada exhaustivamente desde el punto de vista de la embriología.

¹ Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. Universidad de Buenos Aires. Pabellón II. Ciudad Universitaria. Núñez. 1428 Buenos Aires. Argentina.

Se han realizado estudios del desarrollo de las células madres del polen en los géneros: *Nuphar* y *Nymphaea* (Lubimenko et Maige, 1907). En cuanto a las descripciones palinológicas, nada se cita sobre la especie argentina *Cabomba australis* (Roland, 1968; Walker, 1976; Sügireuskaja, 1955; Erdtman, 1943).

Se han hecho investigaciones sobre la formación del saco embrionario y embrión en varios géneros de la familia: *Castalia*, *Nymphaea*, *Brasenia*, *Nelumbo*, *Euryale* (Conard, 1902, 1905; Cook, 1902, 1906, 1909; Khanna, 1964, 1965; Valceva y Savich, 1965).

Para el género *Cabomba* se han estudiado las características muy generales del saco embrionario en dos especies: *C. piauhiensis* y *C. caroliniana*. En general, puede decirse que poco se sabe del género y que nada se conoce de *Cabomba australis* (Davis, 1966: 66).

Dado el evidente interés de la familia *Nymphaeaceae* en general, es importante conocer todos sus representantes desde el mayor número posible de ángulos antes de poder hacer generalizaciones sobre su discutida posición taxonómica. Por este motivo se ha encarado el estudio ontogénico de la esporogénesis y las generaciones sexuales así como las estructuras esporofíticas comprometidas en el proceso de fertilización.

MATERIAL Y METODO

El material de *Cabomba australis* fue coleccionado en la Prov. de Buenos Aires, Paraná de las Palmas y Canal 6 a 6 Km de Otamendi, cerca de la Estación Experimental INTA, el 6-I-81, por la autora. BAA N° 17031. Las plantas se fijaron en FAA. Las flores en distintos grados de desarrollo, se incluyeron en parafina, y se hicieron cortes seriados con micrótopo de tipo Minot. Las coloraciones usadas fueron: metacromática con violeta de cresilo y doble de safranina-“fastgreen”, y el medio de montaje: bálsamo de Canadá sintético.

Los granos de polen maduros fueron acetolizados según la técnica de Erdtman (1960). Para su observación con MEB se utilizó la técnica de punto crítico (O'Brien and Mc Cully, 1981). En la descripción del polen se siguió la terminología propuesta por Erdtman (1969).

Los dibujos fueron realizados con el tubo de dibujo Wild por la autora. Se hicieron además observaciones con MEB del grano de polen.

Los preparados histológicos se encuentran en la Histoteca del laboratorio de Anatomía Vegetal de la Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. UBA.

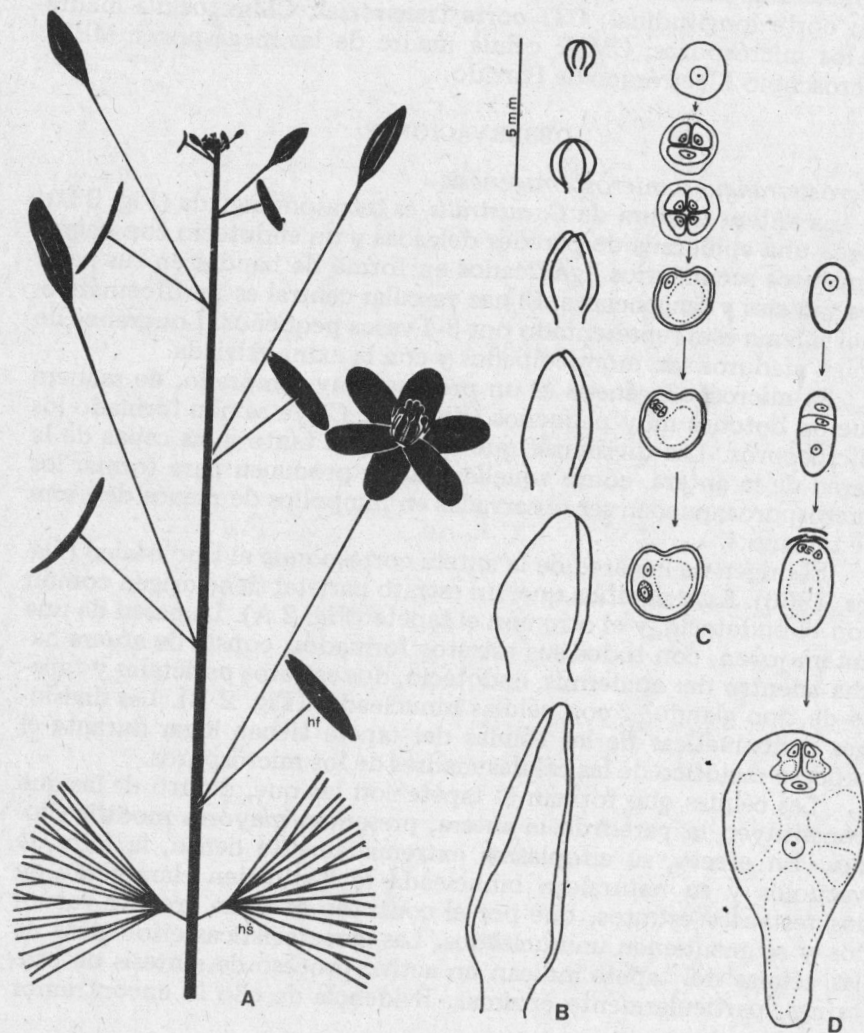


Fig. 1. — *Esquemas*. A: vástago florífero; hf: hoja flotante; hs: hoja sumergida; B: pimpollos en distintos estados de desarrollo; C-D: microsporogénesis y microgametogénesis.

Abreviaturas usadas:

CL: corte longitudinal; CT: corte transversal; CMm: célula madre de los micrósporos; CMM: célula madre de las megásporas; MEB: Microscopio Electrónico de Barrido.

OBSERVACIONES

Microsporangio y microsporogénesis

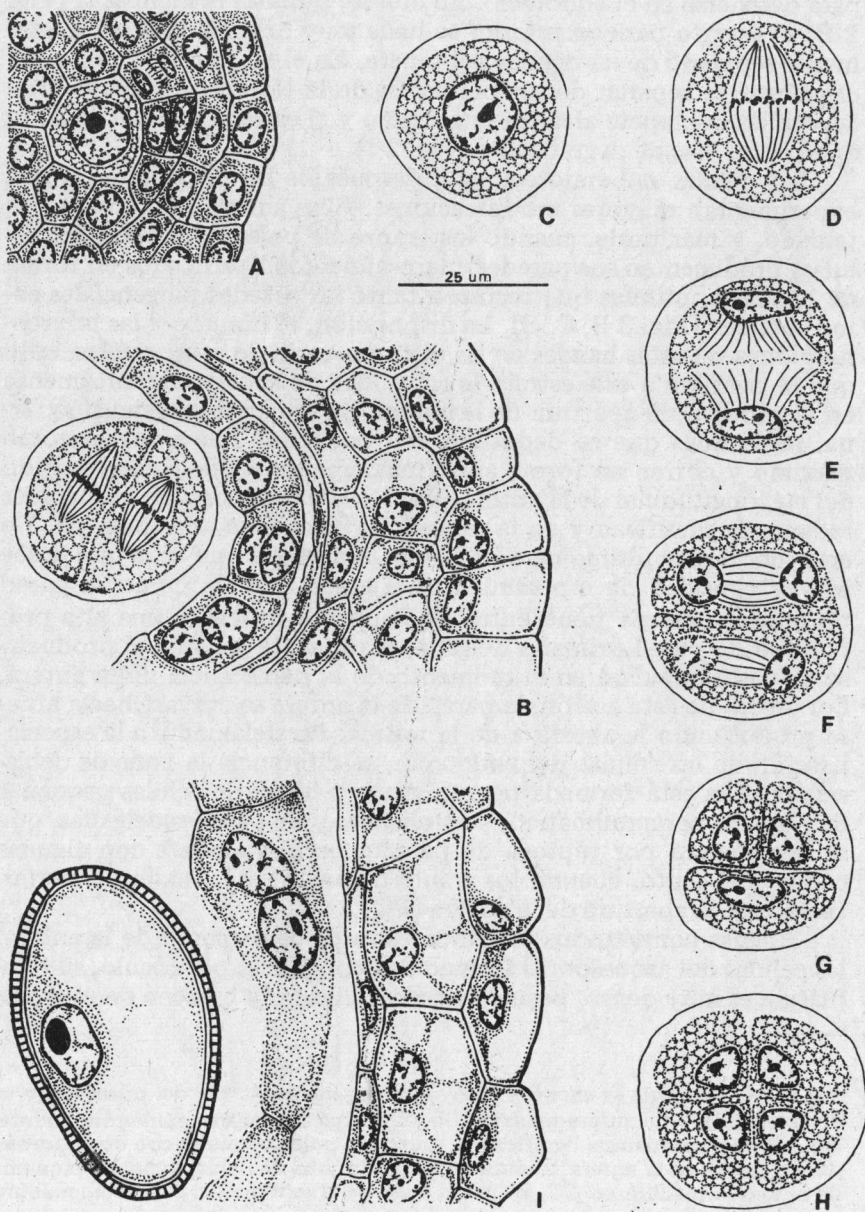
La antera madura de *C. australis* es tetrasporangiada (Fig. 3 D). Posee una epidermis de paredes delgadas y un endotecio con engrosamientos secundarios lignificados en forma de bandas en sus paredes radiales y tangenciales. El haz vascular central es perifloemático y el xilema está representado por 3-4 vasos pequeños. Los granos de polen maduros son monocolpados y con la exina estriada.

La microsporogénesis es un proceso muy temprano, de manera que en botones muy pequeños (Fig. 1 B, C) ya se han formado los micrósporos. Las divisiones que dan origen tanto a las capas de la pared de la antera, como aquellas que se producen para formar los micrósporos, pueden ser observadas en pimpollos de menos de 1 mm de tamaño.

El origen de la pared de la antera corresponde al tipo básico (Davis, 1966). Esto significa que, un estrato parietal tiene origen común con el endotecio, y el otro con el tapete (Fig. 2 A). La pared de una antera joven, con todos sus estratos formados, consta de afuera hacia adentro de: epidermis, endotecio, dos estratos parietales y tapete de tipo glandular con células binucleadas (Fig. 2 B). Las divisiones cariocinéticas de las células del tapete tienen lugar durante el proceso meiótico de las células madres de los micrósporos.

Las células que forman el tapete son las que, dentro de las que constituyen la pared de la antera, presentan mayores modificaciones. En efecto, su citoplasma extremadamente denso, la falta de vacúolos y su naturaleza binucleada lo distinguen claramente de los restantes estratos, que por el contrario exhiben grandes vacúolos y se mantienen uninucleados. Las características citológicas de las células del tapete indican un activo proceso de síntesis de proteínas, particularmente enzimas. Evidencia de ello lo encontramos

Fig. 2. — *Desarrollo de la pared de la antera y microsporogénesis*. A: CT de antera con sus estratos aún en formación y arquéspora; B: CT de antera con sus estratos formados. De afuera hacia adentro: epidermis, endotecio, dos estratos parietales, tapete glandular con células binucleadas y CMm en metafase II; C: CMm con pared de calosa; D: metafase I; E: telofase I; F: telofase II; G: tétrade decusada; H: tétrade isobilateral; I: CT de antera con estrato parietal interno consumido v micrósporo libre.

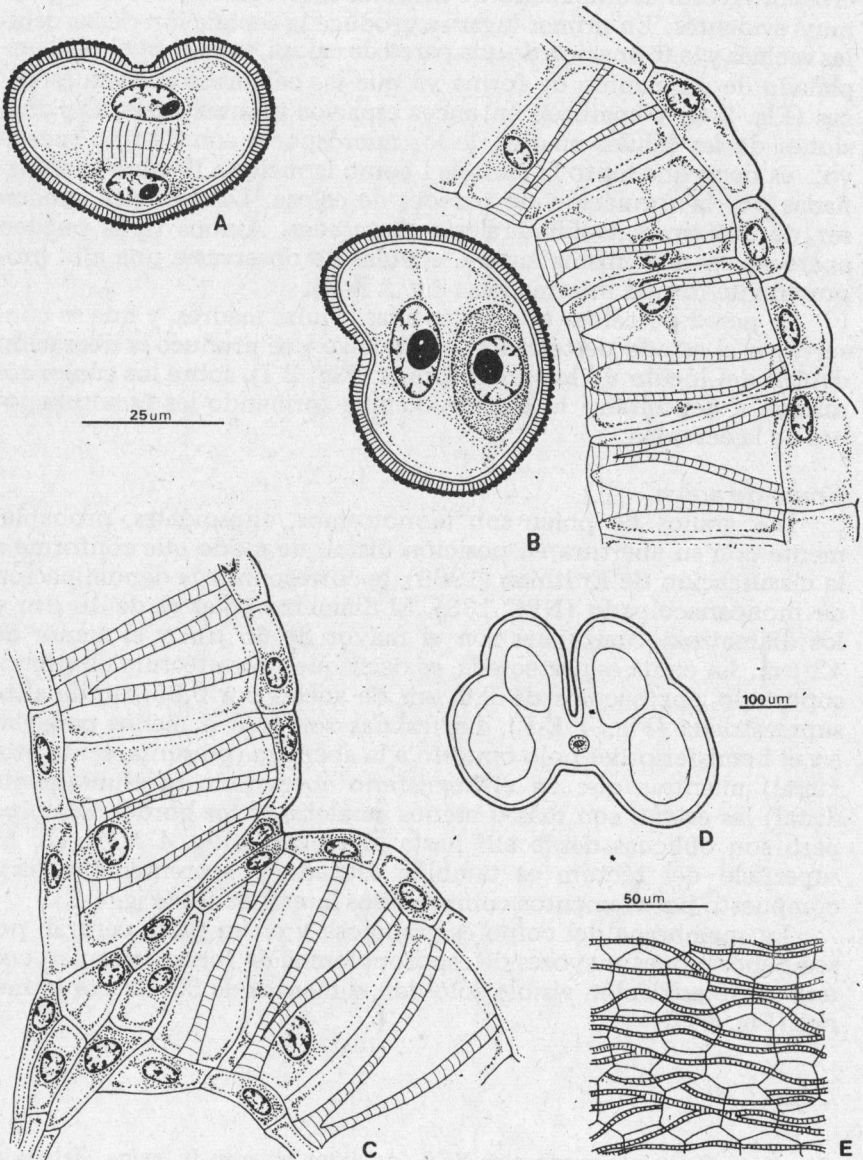


en el marcado proceso de digestión de las células parietales, que comienza con el estrato parietal interno y luego se extiende al externo para detenerse en el endotecio. En efecto, durante la meiosis II (Fig. 2 B) el estrato parietal interno se halla muy degradado y completamente separado de las células del tapete. En el estadio en que los micrósporos se separan de sus hermanos de la tétrade, el volumen de las células del tapete alcanza su máximo y el estrato parietal externo aparece en vías de degradación (Fig. 2 I).

Las células del endotecio son después de las del tapete las que experimentan mayores modificaciones. Ellas sufren un aumento de tamaño, y más tarde, cuando los granos de polen contienen dos células, producen en sus paredes engrosamientos lignificados en forma de bandas continuas que recorren tanto las paredes tangenciales como radiales (Fig. 3 B, C, E). La disposición, el número y las interconexiones de estas bandas en las distintas caras de estas células, es lo que le confiere a este estrato la capacidad de actuar mecánicamente en el proceso de apertura de la antera. En la pared tangencial externa, las bandas que se depositan son pocas, de dos a cuatro como máximo y corren en forma aproximadamente paralela en el sentido del eje longitudinal de la antera. Estas mismas bandas, en las paredes radiales se ramifican y en la tangencial interna se anastomosan. De este modo esta última cara es la más rígida, ya que es la que posee mayor cantidad de espesamientos. De esta forma, como la pared tangencial externa tiene entre las bandas lignificadas una alta proporción de pared primaria delgada, es capaz de plegarse al producirse la deshidratación en el momento de la dehiscencia de la antera. Por efecto de esta acción, la pared de la antera se curvará hacia afuera produciendo la abertura de la misma. Paralelamente a la especialización de las células del endotecio, se diferencia la zona de dehiscencia. Ella está formada por un grupo o hilera de células pequeñas de aspecto parenquimático, vacuolizadas y de paredes delgadas, que se desintegran por ruptura de paredes conjuntamente con algunas células del septo, cuando los granos de polen están maduros, permitiendo así la abertura de la antera (Fig. 3 C).

Apenas constituidos los cinco estratos de la pared de la antera, las células del arquesporio forman una sola hilera por lóculo, su citoplasma es muy denso, poseen paredes delgadas y carecen de espacios

Fig. 3. — *Pared de la antera y microgametogénesis*. A: CT del micrósporo en división; B: CT de antera madura. De afuera hacia adentro: epidermis, endotecio con engrosamientos lignificados, grano de polen bicelular con exina formada; C: pared de la antera madura en CT en la zona de dehiscencia; D: esquema de la antera madura en CT; E: pared tangencial externa del endotecio maduro en vista superficial.



intercelulares. El proceso de maduración que consiste en la preparación para la meiosis y la diferenciación en células madres de los microsporos, está acompañado de cambios citológicos y morfológicos muy evidentes. En primer lugar se produce la separación de las células vecinas y la formación de una pared de calosa, todo lo cual va acompañado de un cambio de forma ya que las células se vuelven esféricas (Fig. 2 C) y aparecen entonces espacios intercelulares. Las divisiones de las células madres de los microsporos son de tipo sucesivo, es decir que tanto la meiosis I como la meiosis II están acompañadas por la formación de paredes de calosa. Las tétrades pueden ser de dos tipos: isobilaterales o decusadas. Ambos tipos pueden aparecer en una misma antera, además de observarse una alta proporción de formas intermedias (Fig. 2 B-H).

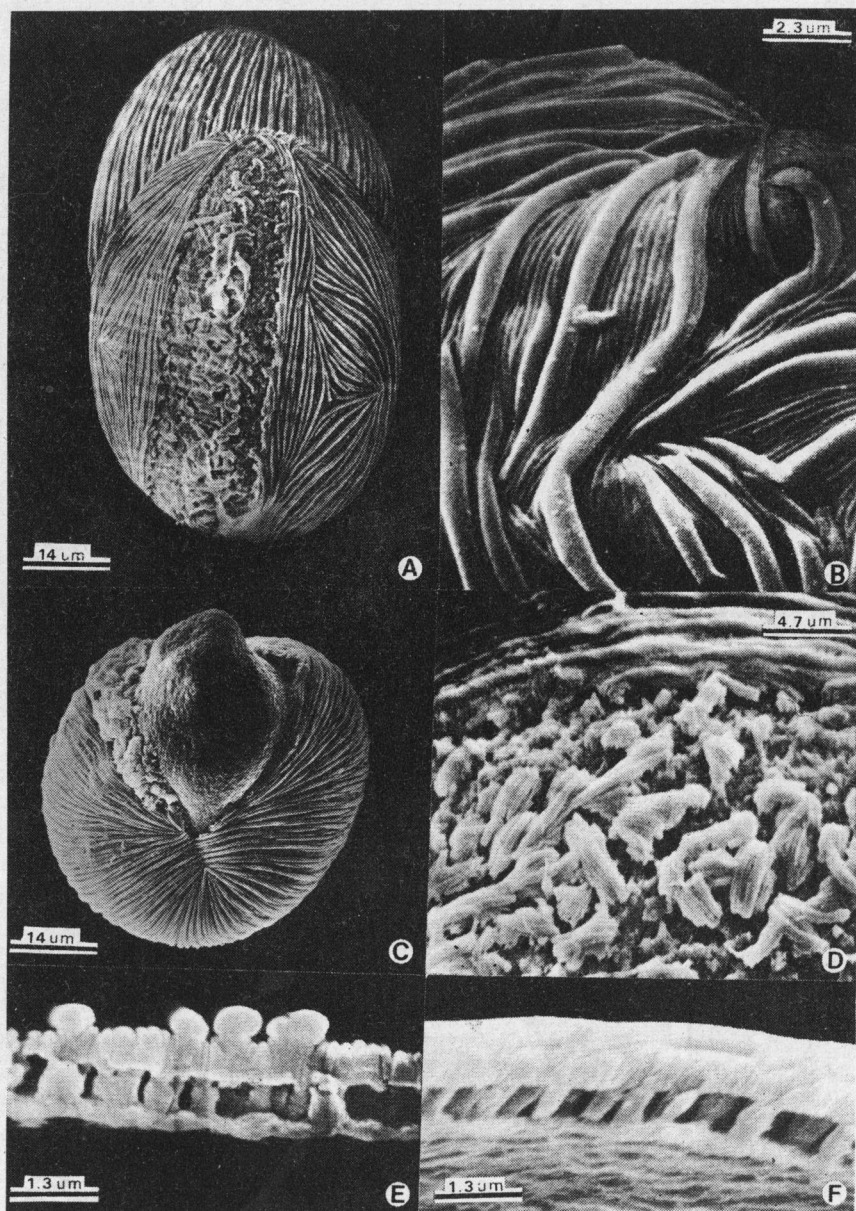
La pared de calosa que rodea a las células madres, y que se conserva en el estado de tétrades, se disuelve y se produce la liberación dentro del lóculo de los microsporos (Fig. 2 I), sobre los cuales comienza a depositarse la esporopolenina formando las esculturaciones de la ectexina.

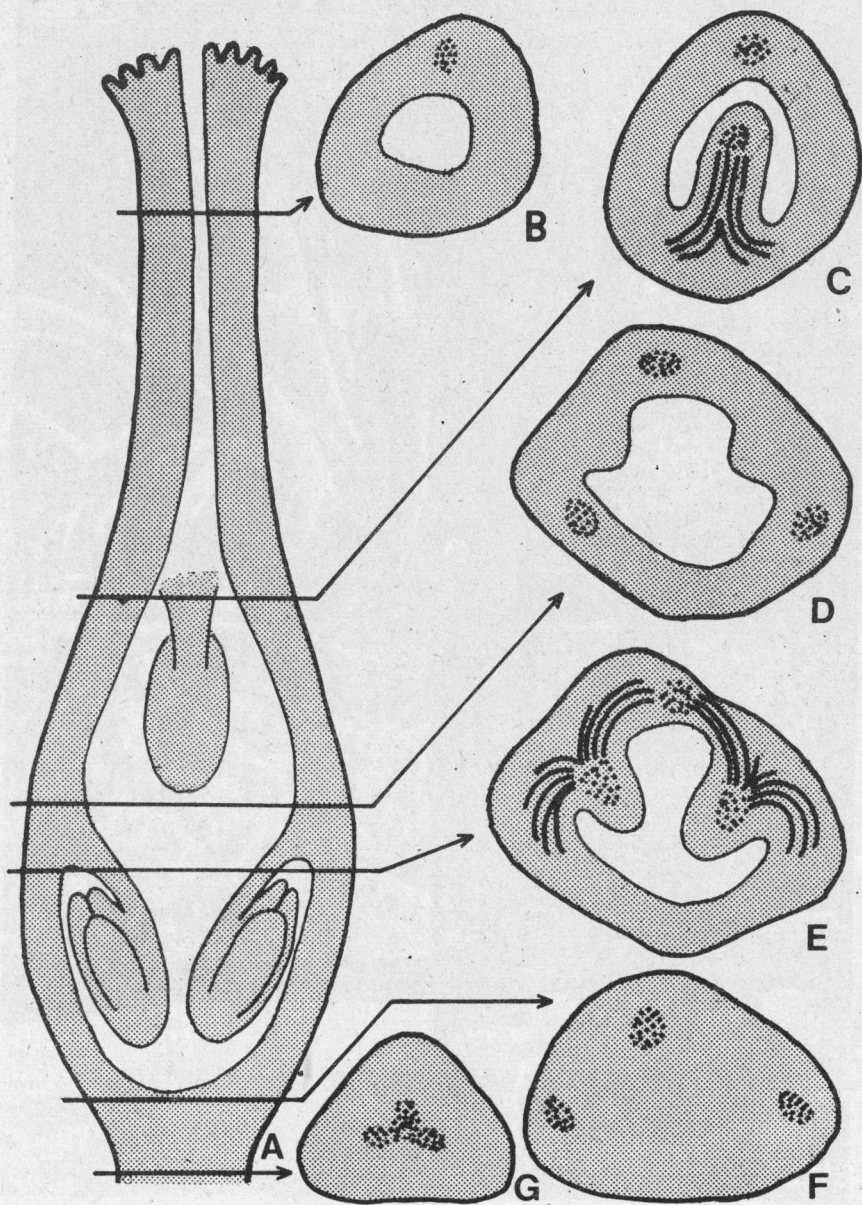
Grano de polen

Los granos de polen son monotremos, elipsoidales, probablemente con su abertura en posición distal, de modo que conforme a la clasificación de Erdtman (1969), le corresponde la denominación de monoanacolpado (NPC 133). El diámetro polar es de 40 μm y los diámetros ecuatoriales son el mayor de 65 μm y el menor de 42 μm . La exina es pertectada, es decir que posee tectum continuo, soportado por báculos de 0,6 μm de ancho por 0,65 μm de alto, supraestriada (Fig. 4 E-F). Las estriás son más o menos paralelas en el hemisferio del polo opuesto a la abertura (presuntamente proximal) mientras que en el hemisferio aperturado (presuntamente distal) las estriás son más o menos paralelas en los bordes del colpo pero son oblicuas desde allí hasta el ecuador (Fig. 4 A, B, C). La superficie del tectum es también estriada y aparentemente está compuesto por elementos comprimidos lateralmente (Fig. 4 E).

La membrana del colpo es granulosa y en su parte central, posee deposiciones mayores de esporopolenina de forma irregular, con una suave estriación visible sólo con aumentos de 5000x por lo menos (Fig. 4 D).

Fig. 4. — *Polen observado con MEB*. A: vistas polares; B: exina, detalle de estructura; C: grano de polen germinando en vista ecuatorial; D: colpo, detalle de estructura; E-F: pared del grano de polen; E: CT; F: CL.





Microgametófito

Los micrósporos recién formados, en el estado de tétrade, cuando todavía están cubiertos por la pared de calosa, son células con un vacuoma reducido (Fig. 2 G, H). Pero una vez que los granos se separan al disolverse la calosa, aumentan considerablemente de volumen debido a la incorporación de agua y al desarrollo de un gran vacúolo, al mismo tiempo que se completa la pared del espora (Fig. 2 I). En este estado ocurre la división mitótica que originará la célula gametogénica y la célula sifonogénica (Fig. 3 A). La célula gametogénica está desprovista de vacúolo, posee citoplasma denso y escaso. La célula sifonogénica hereda el gran vacúolo del espora y la mayor parte del citoplasma (Fig. 3 B). En este estado, es decir, con dos células, los granos de polen son liberados del esporangio para ser transportados al estigma donde completarán su desarrollo.

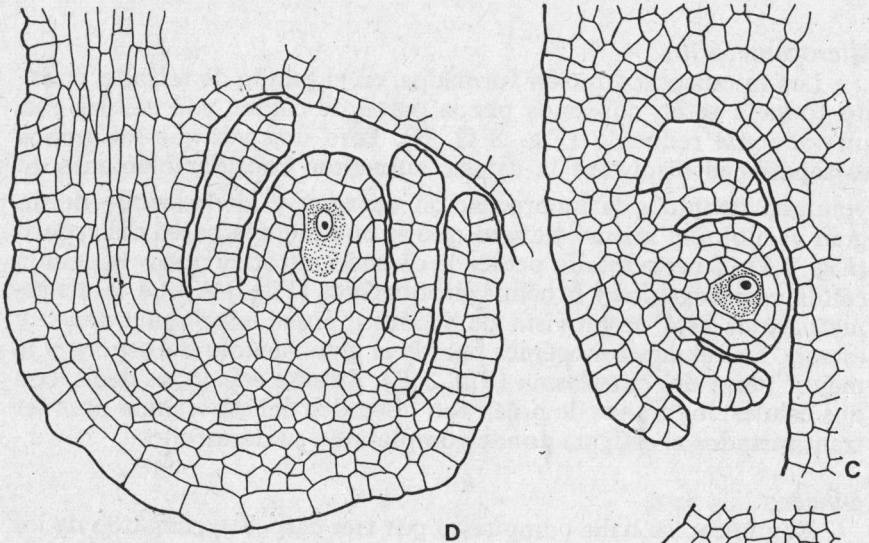
Gineceo

El gineceo se halla compuesto por tres carpelos, cada uno de los cuales forma un pistilo. Cada ovario contiene tres óvulos anátropos apótropos. Dos de los óvulos se hallan próximos a la base del ovario y surgen de la zona laminar adaxial del carpelo. La vascularización de estos óvulos conecta tanto con los hacecillos ventrales como con el dorsal. El tercer óvulo ocupa una posición superior e intermedia respecto de los anteriores, y está vascularizado por la terminación de ambos hacecillos ventrales que concurren para irrigarlo. El hacecillo dorsal se continúa sin ramificarse hasta el estilo y el estigma donde no llegan los hacecillos ventrales (Fig. 5A-G).

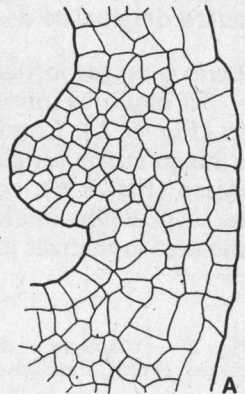
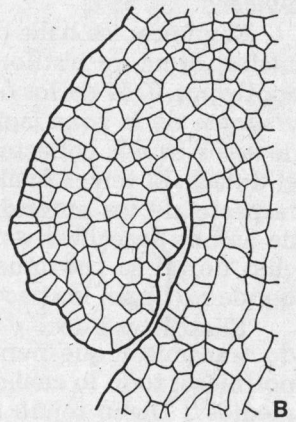
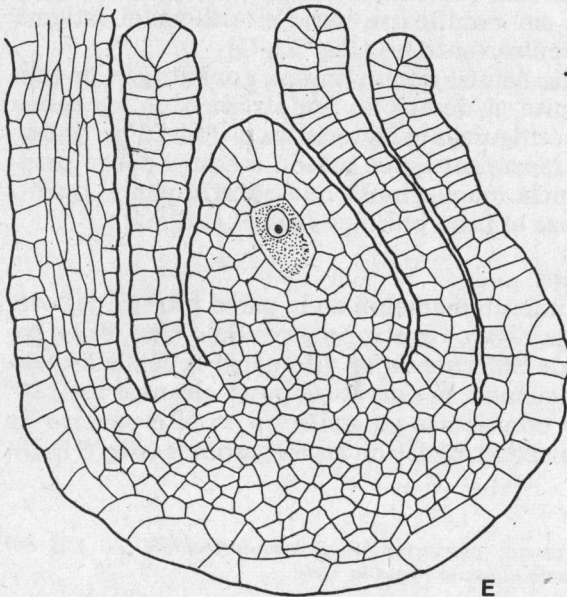
El estilo es hueco y las células que lo limitan constituyen un tejido transmisor que permite el desarrollo endotrópico de los tubos polínicos, todo lo cual configura la característica de los estilos "intermedios". Dicho tejido transmisor en su estado maduro posee paredes gruesas, de consistencia mucilagínosa que constituyen el medio dentro del cual se desplaza el tubo polínico (Fig. 7 C-E).

Ovulo y megasporogénesis

El óvulo se inicia como un mamelón en la pared interna del ovario (Fig. 6 A). Comienza siendo ortótropo y péndulo (Fig. 6 B), para luego sufrir un giro de 90° cuando se diferencia la célula arqueopórica (Fig. 6 C), continuando su curvatura hasta alcanzar los 180° de su posición inicial y convertirse en anátropo en el momento de iniciarse la meiosis en la célula madre de las megasporas (Fig. 6 D-E).



50 μ m



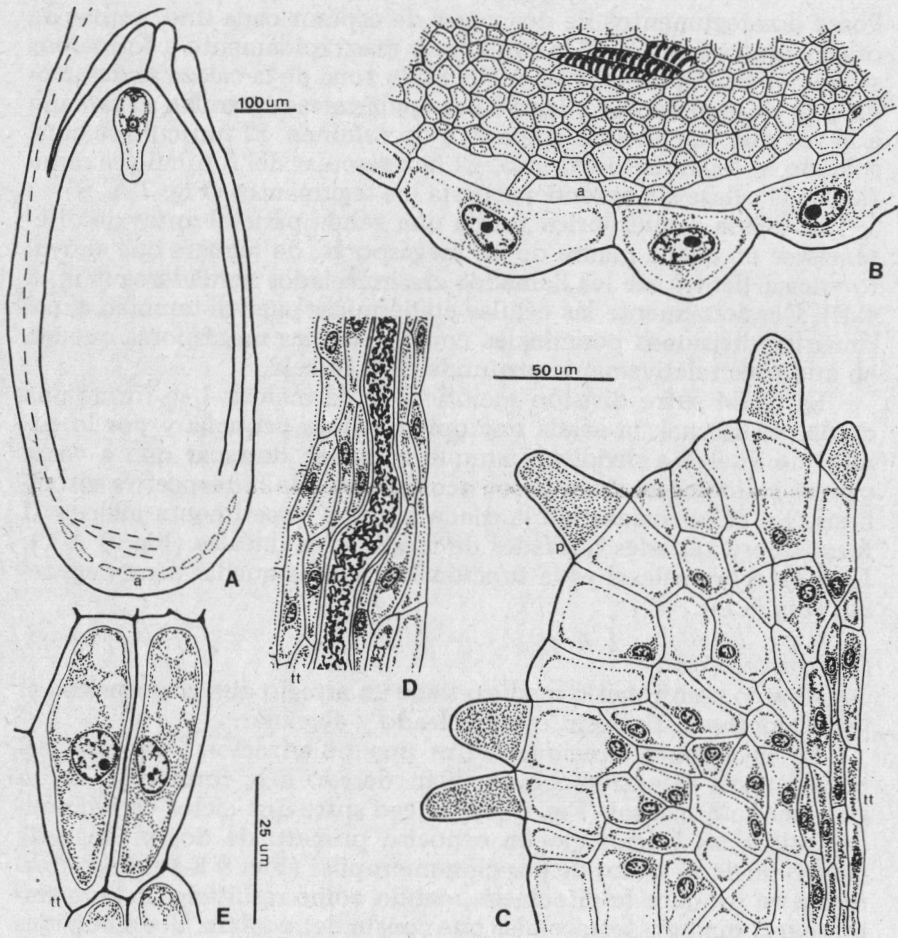


Fig. 7. — *Gineceo*. A: óvulo con saco embrionario formado; B: detalle de la zona calazal del óvulo; C: estigma; D: tubo polínico en el tejido de transmisión del estilo; E: detalle de las células del tejido transmisor. Símbolos: a: aerénquima; p: papilas; tt: tejido transmisor.

Fig. 6. — *Ontogenia del óvulo*. A-B: estadios iniciales; C: óvulo crasinucelado con torsión de 90° y tegumentos en formación; D: óvulo girado 180°; E: micrópilo en formación por mayor crecimiento del tegumento interno.

Posee dos tegumentos de dos capas de espesor cada uno, ambos de origen protodérmico. El interno crece más rápidamente y forma por sí solo el micrópilo (Fig. 6 A-E). En la zona de la calaza se desarrolla algo de aerénquima y las células epidérmicas agrandan su tamaño a la vez que sus núcleos aumentan de volumen. El funículo se halla soldado al tegumento externo. El haz vascular del funículo se ramifica en la calaza sin extenderse hasta los tegumentos (Fig. 7 A, B).

La célula arqueosporica forma una célula parietal antes de diferenciarse en célula madre de las megásporas, de manera que el óvulo encaja dentro de los llamados crasinucleados verdaderos (Fig. 6 C-E). Ocasionalmente las células epidérmicas pueden también experimentar divisiones periclinales con lo cual las megásporas quedan en una zona relativamente profunda de la nucela.

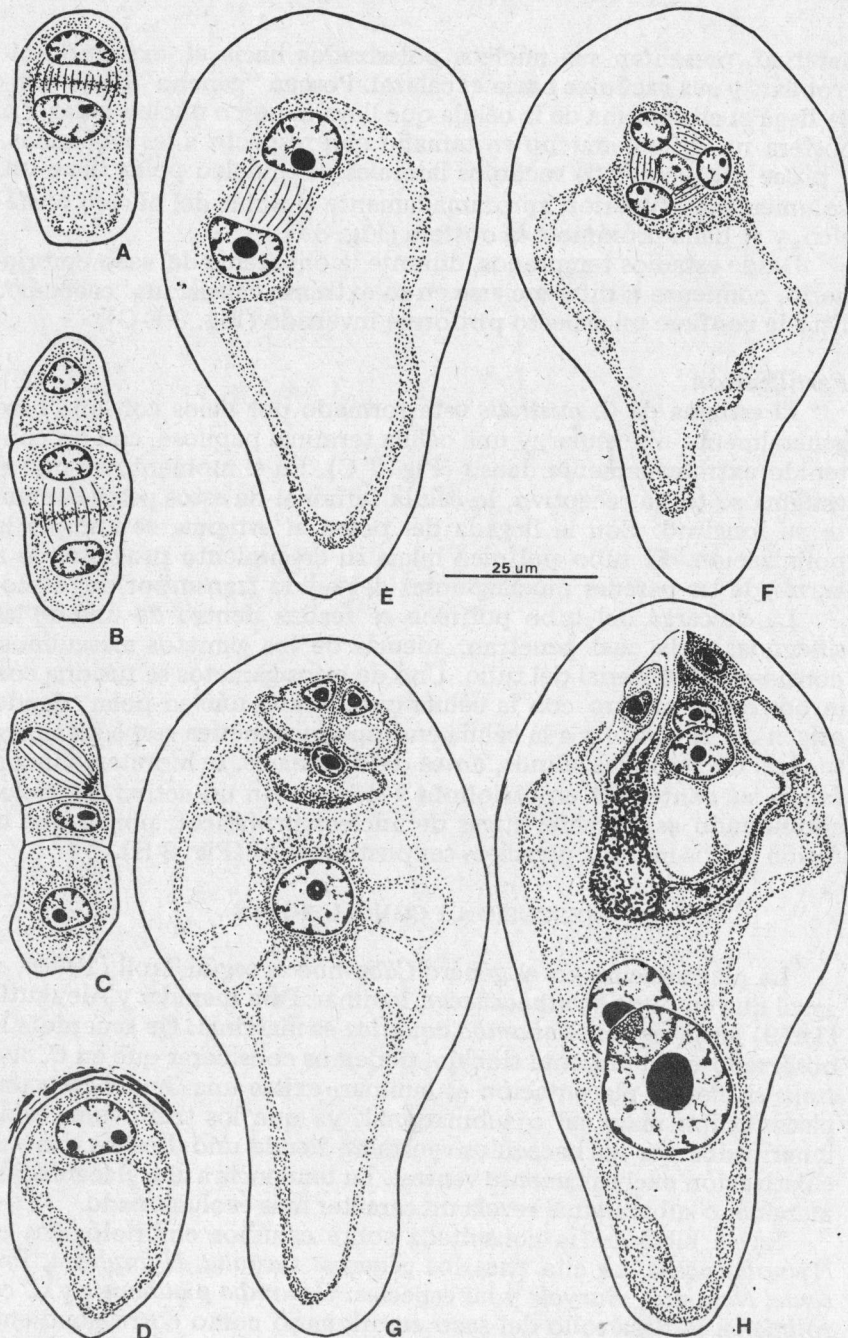
La CMM sufre división meiótica. En la meiosis I se forma una díade, en la cual, la célula micropilar es más pequeña y por lo común no vuelve a dividirse, aunque conviene destacar que a veces ocurre cariocinesis sin que sea acompañada de la respectiva citocinesis. La célula calazal de la díade siempre experimenta meiosis II formándose tétrades o tríades de megásporas lineales (Fig. 8 A-C). La megáspora calazal es la funcional, mientras que las otras degeneran (Fig. 8 D).

Megagametófito

El saco embrionario maduro tiene un arreglo que corresponde al tipo *Oenothera*. Es decir, es 4-nucleado y 4-celular.

La megáspora funcional sufre una polarización temprana del núcleo hacia el extremo micropilar, debido a la formación de un gran vacúolo calazal (Fig. 8 D). Luego sufre dos ciclos cariocinéticos mitóticos originando un cenocito primero de dos y luego de cuatro núcleos, todos de posición micropilar (Fig. 8 E-F). Posteriormente se produce la citocinesis, dando como resultado un saco embrionario maduro tetracelular que consta de: oosfera, dos sinérgidas y una célula con un sólo núcleo polar. Las sinérgidas, como es lo

Fig. 8. — *Megasporogénesis, megagametogénesis y fertilización*. A-D: megasporogénesis; A: primera división meiótica de la CMM; B: díade de megásporas. Megáspora calazal en Meiosis II; C: tríade de megásporas lineal, la micropilar está en anafase; D: megáspora calazal funcional y micropilares degeneradas; E-F: primer y segundo ciclos cariocinéticos mitóticos de la megáspora; G: megagametófito 4-nucleado y 4-celular; H: fertilización: parte superior izquierda, sinérgida penetrada semidestruida; a la derecha, sinérgida intacta; en el centro de la oosfera fusionándose con el gameto masculino y en la parte inferior el núcleo polar fusionándose con el otro gameto masculino.



habitual, presentan sus núcleos polarizados hacia el extremo micropilar, y sus vacúolos hacia el calazal. Poseen "gancho" hasta donde llega el citoplasma de la célula que lleva el único núcleo polar. La oosfera no difiere mucho en tamaño con respecto a las sinérgidas, y posee dos pequeños vacúolos laterales. El núcleo polar tiene un volumen muy superior, aproximadamente el doble del núcleo oosférico, y se halla próximo a la oosfera (Fig. 8 G).

Desde estadios tempranos, durante la ontogenia del saco embrionario, comienza a diferenciarse en su extremo calazal un "caecum". Esto le confiere un aspecto piriforme invertido (Fig. 8 E-G).

Fertilización

El estigma de *C. australis* está formado por pelos con una base generalmente unicelular, y una célula terminal papilosa, con un contenido extremadamente denso (Fig. 7 C). En el momento en que el estigma se torna receptivo, la célula terminal de estos pelos aumenta su longitud. Con la llegada del polen al estigma, se cumple la polinización. El tubo polínico inicia su crecimiento progresando a través de las paredes mucilaginosas del tejido transmisor del estilo.

La descarga del tubo polínico se realiza dentro de una de las sinérgidas, a la cual penetran, además de los gametos masculinos, considerable material del tubo. Uno de estos gametos se fusiona con la oosfera y el otro con la célula que lleva el núcleo polar, dando origen así al cigoto y a la célula endospermogénica respectivamente. Los núcleos masculinos, antes de fusionarse, se hidratan aumentando su contenido en cariolinfa y desarrollan un activo nucléolo, adquiriendo así características de núcleos profásicos, por lo que la fusión de los mismos pareciera ser postmitótica (Fig. 8 H).

DISCUSION Y CONCLUSIONES

La placentación en el género *Cabomba* es según Troll (1934), al igual que en otras *Nymphaeaceae*, laminar. Para Inamdar y Aleykutti (1979) en la especie *Cabomba aquatica* es marginal. De acuerdo a lo observado en el presente trabajo, podemos considerar que en *C. australis* si bien la placentación es laminar, existe una tendencia a una placentación marginal o submarginal, ya que los tres óvulos están innervados por los hacecillos ventrales, siendo uno de ellos con vascularización exclusivamente ventral. La tendencia a una placentación marginal o submarginal revela un carácter más evolucionado.

En la bibliografía consultada sobre estudios embriológicos en *Nymphaeaceae*, se cita para los géneros: *Castalia*, *Nymphaea*, *Brasenia*, *Nelumbo*, *Euryale* y las especies: *Cabomba piauhenis* y *C. caroliniana*, el desarrollo del saco embrionario como correspondiente

al tipo 8-nucleado de *Polygonum* (Cook, 1902, 1906; Conard, 1905; Earle, 1938; Raciborski, 1894; Ramji & Padmanabhan, 1965). Ninguna de las figuras que ilustran los trabajos antes mencionados resultan claras sobre la naturaleza 8-nucleada, por lo que es probable que la interpretación dada quizás no sea la correcta. Por esta razón, es muy conveniente reinvestigar estas especies, para demostrar claramente si los megagametófitos son 4 u 8-nucleados.

En razón de que esta especie no ha sido estudiada con anterioridad, todas las características embriológicas referidas en el capítulo de observaciones constituyen una novedad para la ciencia. Merece destacarse que se cita por primera vez la ocurrencia de un megagametófito 4-nucleado y 4-celular para la familia *Nymphaeaceae*. Este gametófito se puede considerar como una variante del tipo *Oenothera* clásico, ya que en este caso la megáspora calazal es la funcional mientras que en *Oenothera* es la micropilar (Johansen, 1930; 1931, 1932, 1934; Maheshwari, 1937, 1947, 1948, 1950; O'Neal, 1923).

AGRADECIMIENTOS

Quiero expresar mi profundo y sincero agradecimiento al Prof. Dr. A. E. Cocucci por su valiosa dirección y por el tiempo dedicado a este trabajo, como así también a la Prof. Dra. E. Ancibor por su constante apoyo en la discusión de diversos problemas y por la revisión del texto.

Deseo también hacer llegar mi gratitud al Dr. J. Gamero por su colaboración en la interpretación de la estructura del grano de polen y al servicio de Microscopía Electrónica de Barrido del CONICET.

BIBLIOGRAFIA

- CABRERA, A. L. 1953. *Manual de la Flora de los alrededores de Buenos Aires*. 589 pp. Ed. Acme. S.A. Buenos Aires.
- CONARD, H. S. 1902. Note on the embryo of *Nymphaea*. *Sciences* 15: 316.
- 1905. The Waterlilies: a monograph of the genus *Nymphaea*. *Publ. Carnegie Inst. Wash.* 4.
- COOK, M. T. 1902. Development of the sacs and embryos of *Castalia odorata* and *Nymphaea advena*. *Bull. Torrey Bot. Club* 29: 211-220.
- 1906. The embryogeny of some Cuban *Nymphaeaceae*. *Bot. Gaz.* 42: 376-392.
- 1909. Notes on the embryology of the *Nymphaeaceae*. *Bot. Gaz.* 48: 56-60.
- DAVIS, G. L. 1966. *Systematic Embryology of the Angiosperms*. Wiley. N. Y.
- EARLE, T. T. 1938. Embryology of certain Ranales. *Bot. Gaz.* 100: 257-275.
- ERDTMAN, G. 1943. *An Introduction to pollen analysis*. 239 pp. Waltham, MASS., USA.
- 1960. The acetolysis method. *Svensk. Bot. Tidskr.* 54(4): 561-564.
- 1969. *Handbook of Palynology*. 486 pp. f. 1-50, plates 1-125. Munksgaard.
- FASSET, N. C. 1953. A monograph of *Cabomba*. *Castanea* 18: 116-128.
- INAMDAR, J. A. and K. M. ALEYKUTTY. 1979. Studies on *Cabomba aquatica* (*Cabombaceae*). *Pl. Syst. Evol.* 132: 161-166.
- JOHANSEN, D. A. 1930. Studies on the morphology of the *Onagraceae*. IV. *Stenosiphon linifolium*. *Bull. Torrey Bot. Club* 57: 315-326.
- 1931. Studies on the morphology of the *Onagraceae*. VI. *Anogra pallida*. *Amer. J. Bot.* 18: 854-863.
- 1932. Studies on the morphology of the *Onagraceae*. VII. *Gayophytum ramosissimum*. *Bull. Torrey Bot. Club* 60: 1-8.
- 1934. Studies on the morphology of the *Onagraceae*. VIII. *Circaea pacifica*. *Amer. J. Bot.* 21: 508-510.
- KHANNA, P. 1964. Morphological and embryological studies in *Nymphaeaceae*. I. *Euryale ferox*. *Proc. Indian Acad. Sci.* B. 59: 237-243.
- 1965. Morphological and embryological studies in *Nymphaeaceae*. II. *Brasenia Schreberi* and *Nelumbo nucifera Gaertn.* *Austral. J. Bot.* 13(3): 379-387.
- LUBIMENKO, W. and A. MAIGE. 1907. Recherches cytologiques sur le développement des cellules-mères du pollen chez les Nymphéacées. *Rev. Gén. Bot.* 19: 474-505. Pl. 1-5, text. figs. 1, 2.
- MAHESHWARI, P. 1937. A critical review of the types of embryo sacs in Angiosperms. *New Phytol.* 36: 359-417.
- 1947. Tetranucleate embryo sacs in Angiosperms. *Lloydia* 10: 1-18.
- 1948. The angiosperm embryo sac. *Bot. Rev.* 14: 1-56.
- 1950. *An Introduction to the Embryology of Angiosperms*. 453 pp. McGraw-Hill Book Company. New York. Toronto. London.
- O'BRIEN, T. P. and M. E. Mc CULLY. 1981. *The study of plant structure. Principles and selected methods*. Termarcaphi PTY. LTD., Melbourne Australia.
- O'NEAL, E. E. 1923. A study of the embryo sac development and accompanying phenomena in *Oenothera rubrinervis*. *Bull. Torrey Bot. Club* 50: 133-146.
- RACIBORSKI, M. 1894. Die Morphologie der Cabombeen und *Nymphaeaceae*. *Flora* 78: 241-251.
- RAMJI, M. V. and D. PADMANABHAN. 1965. Development studies on *Ca-*

- bomba caroliniana* Gray. I. Ovule and carpel. *Proc. Indian Acad. Sci. Ser. B* 62: 215-223.
- ROLAND, F. 1968. Etude de l'ultrastructure des ouvertures II. Pollens à sillons. *Pollen & Spores* 10: 479-519.
- SAUNDERS, E. R. 1936. Some morphological problems presented by the flower in *Nymphaeaceae*. *J. Bot.* 74 (884): 217-221.
- SUGIREUSKAJA, H. S. 1955. Morfología del polen en las *Nymphaeales*. *Bot. Zurn.* 40: 108-115 (en ruso).
- TROLL, W. 1934. Beitrage zur Morphologie des Gynaeceums. IV. Uber das Gynaeceum. IV. Uber das Gynaeceum der Nymphaeaceen. *Planta* 21: 447-450. ..
- VALCEVA, O. et E. I. SAVICH, 1965. Le développement embryonnaire de *Nymphaea candida* et *N. tetragona*. *Bot. Zurn.* 50: 1323-1326. (en ruso).
- WALKER, J. W. 1976. Evolutionary significance of the exine in the pollen of primitive Angiosperms. *Linn. Soc. Symp. Ser. 1*: 251-308.