

ONTOGENIA DE LA DEHISCENCIA DE ANTERAS Y MICROSPOROGENESIS EN *OCOTEA ACUTIFOLIA* (LAURACEAE)

Por MARIA AGUEDA CASTRO¹

SUMMARY

The development of anthers, as well as the processes of dehiscence and microsporogenesis were studied in *Ocotea acutifolia* (Nees) Mez (Lauraceae). A clear physiological synchronization was observed between secondary thickening of the walls of the endothecium and desintegration of the tapetum. The tetrads are decussate and their cytokinesis is successive. SEM observations of anther dehiscence showed that the separation of valves is produced only by dissolution of the middle lamella all over the zone of dehiscence.

INTRODUCCION

Ocotea acutifolia (Nees) Mez, posee anteras con un tipo particular de dehiscencia, razón por la cual se estudia el desarrollo ontogénico de la antera con especial referencia a su apertura.

Esta especie habita en el sur del Brasil, Paraguay, Uruguay y noroeste de Argentina, en bosques higrófilos y llega hasta el delta del Paraná y la ribera platense.

Son árboles con hojas pecioladas, enteras y lanceoladas; las flores son polígamo-dioicas o hermafroditas (Cabrera, 1953), con nueve estambres dispuestos en tres ciclos alternos de tres piezas cada uno. Los estaminodios están presentes en todas las flores y cumplen posiblemente la función de nectarios. La dehiscencia de las anteras se ha descrito como tetraavalvar (Mez, 1889; Cabrera, 1953). La observación de botones florales en distintos estadios de maduración ha permitido observar el desarrollo de las anteras hasta la formación de todos los estratos celulares de su pared, la microsporigénesis, la microgametogénesis y los cambios de estructura en la pared de la antera durante el proceso de maduración del polen hasta el momento de la dehiscencia.

¹ Laboratorio de Anatomía Vegetal, Departamento de Biología, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales (Univ. Buenos Aires).

Hasta el presente no existen estudios anatómicos de la flor de esta especie. La embriología en *Lauraceae*, ha sido tratada por diversos autores: Bambacioni-Mezzetti (1935, 1941); Davis (1966); Clarke (1866); Sastri (1952, 1958, 1962, 1963). La dehiscencia de anteras en general, fue estudiada por: Chatin (1870); Leclerc du Sablon (1885); Van Tieghem (1895) y Schmid (1976).

MATERIALES Y METODOS

Se estudió material fresco y fijado en FAA, procedente del Jardín Botánico de la Facultad de Agronomía de Buenos Aires, N° 17411 y material del herbario de la Facultad de Ciencias Exactas y Naturales de Buenos Aires, sin número.

En los botones florales incluidos en parafina, se efectuaron cortes seriados transversales y longitudinales. Se usaron las siguientes coloraciones: la metaeromática con violeta de cresilo, la doble con safranina-verde rápido y hematoxilina.

La identificación de taninos se realizó según la técnica de Jensen (1962).

Los dibujos se hicieron con el tubo de dibujo y las fotomicrografías con el equipo de fotografía de Wild.

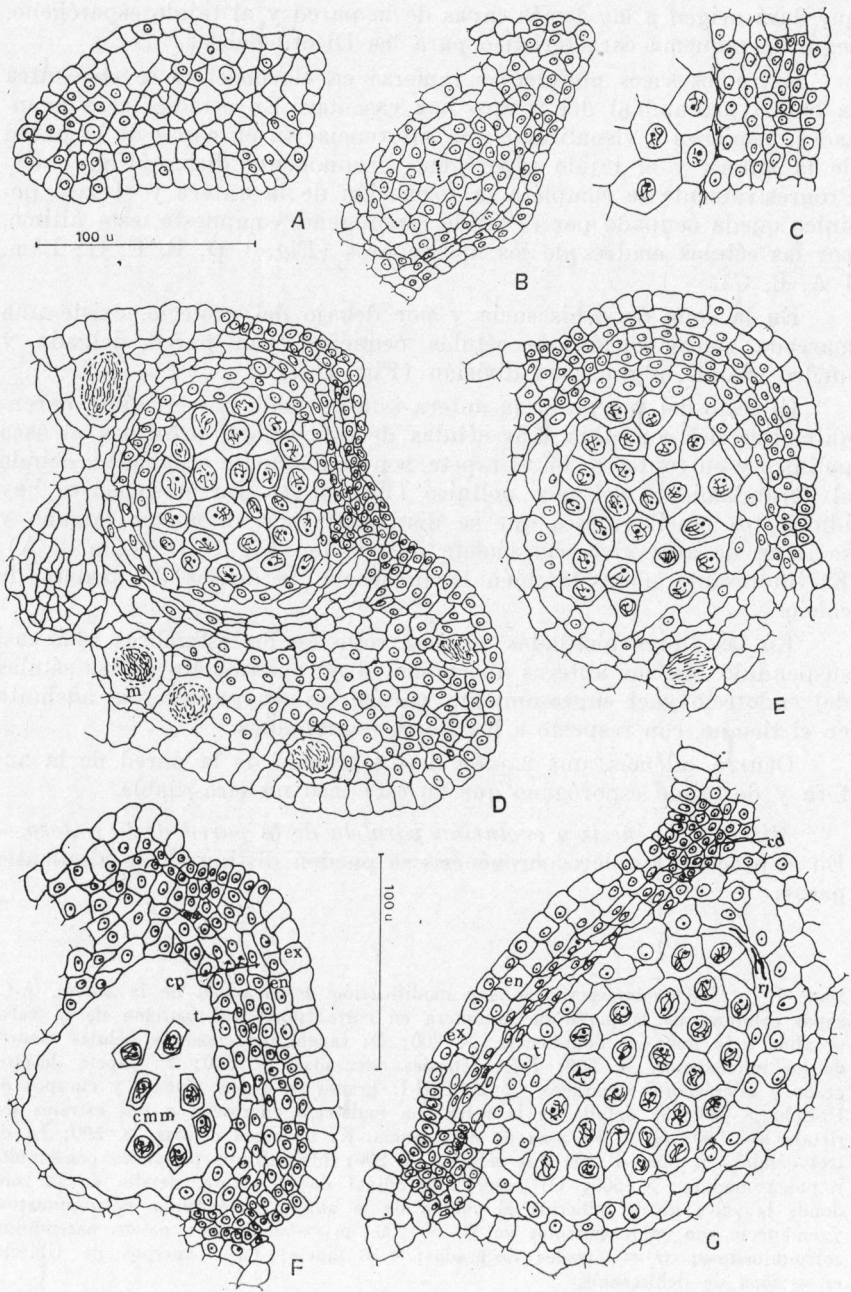
Las zonas de dehiscencia se observaron con el microscopio de barrido (MEB).

OBSERVACIONES

Cada uno de los estambres de *O. acutifolia* está formado por una antera con cuatro sacos polínicos superpuestos de a dos y un filamento corto, adaxialmente aplanado. La dehiscencia se produce por cuatro valvas oblongas de posición adaxial y algo lateral (Fig. 3, A; Lám. 2, E), que permanecen unidas al cuerpo de la antera por su porción superior.

Ontogenia de la pared de la antera. — En una antera muy joven, se distingue, una capa externa: protodermis, que dará origen al futuro exotecio y un tejido interno, compuesto por células de pared delgada, contenido citoplasmático denso y núcleo grande, cuya intensa división se revela por la presencia de tabiques periclinales (Fig. 1 A, B), y

FIG. 1. — A-G: antera en corte transversal de *O. acutifolia*; A-B: formación de la pared de la antera; A, antera joven en corte transversal; B: arquesporio y capas de la pared en división; C: tejido esporógeno y pared de cinco y seis capas de células; D-G: estructura de la valva entre dos zonas de dehiscencia. cd = células en la zona de dehiscencia; cmm = células madres de los microsporos; cp = capas parietales; en = endotecio; ex = exotecio; m = idioblasto mucilaginoso; t = tapete.



que dará origen a las demás capas de la pared y al tejido esporógeno, según el esquema característico para las Dicotiledóneas.

Entre los sacos polínicos e inmerso en el conectivo se encuentra la banda procambial del futuro haz vascular. En estadíos más avanzados, comienza a visualizarse una diferenciación en capas de la pared de la antera y el tejido esporógeno propiamente dicho (Fig. 1 C). Progresivamente se completa la formación de la antera y el saco polínico queda ocupado por el tejido esporógeno, compuesto, este último, por las células madres de los micrósporos (Fig. 1 D, E, F, G; Lám. 1 A, B, C).

En la zona de dehiscencia y por debajo del exotecio, existe una marcada concentración de células pequeñas, con pared delgada y núcleo grande, algunas en división (Fig. 1 G).

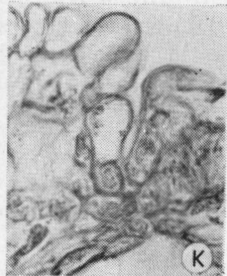
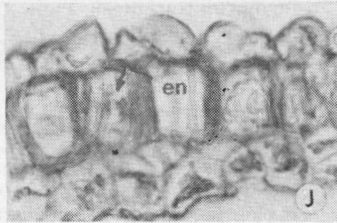
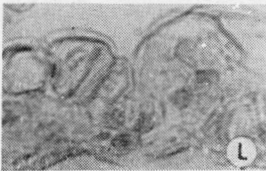
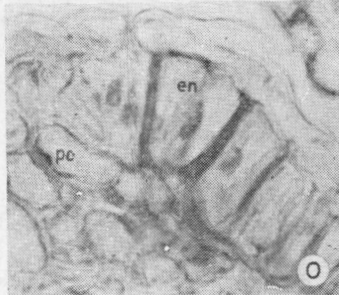
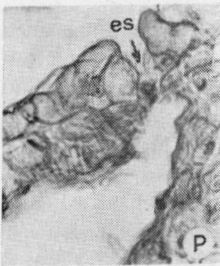
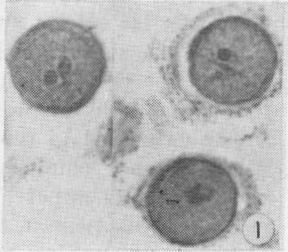
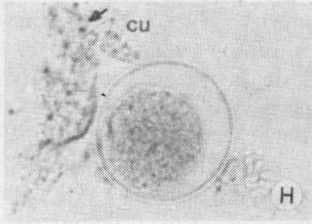
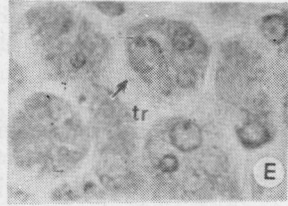
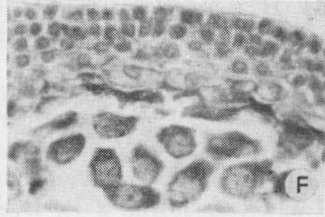
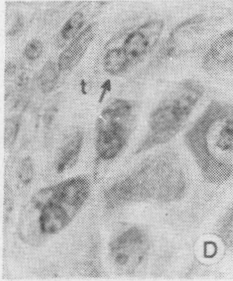
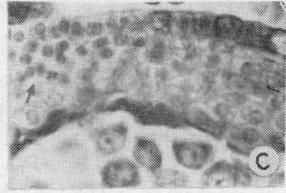
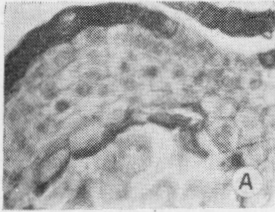
El resto del cuerpo de la antera está ocupado por el tejido parenquimático del conectivo. Las células de este tejido, próximas al saco polínico y en contacto con el tapete, son radialmente aplanadas, debido al agrandamiento del saco polínico (Fig. 1 D). En el conectivo hay idioblastos mucilaginosos que se distinguen por su mayor tamaño y se tiñen de azul vivo con violeta de cresilo (Fig. 1 D; Lám. 2 A). Es interesante notar también la presencia de drusas de oxalato de calcio.

En las flores pistiladas, el desarrollo de los estambres está casi suspendido. En sus anteras abortadas, el agrandamiento de las células del endotecio y el engrosamiento parcial de sus paredes, se adelanta en el tiempo, con respecto a las flores estaminadas.

Ocorre, además, una rápida desintegración de la pared de la antera y de tejido esporógeno que en este caso no será viable.

Microsporogénesis y evolución paralela de la pared de la antera.— En el proceso de microsporogénesis se pueden distinguir los siguientes pasos:

LÁM. 1. — A-K: microsporogénesis y modificación de la pared de la antera. A-C: capas celulares de la pared de la antera en corte transversal, porción de la valva próxima a la línea de dehiscencia, $\times 200$; D: tapete binucleado y células madres de los micrósporos, $\times 500$; E-G: tétrades decusadas, $\times 500$; F: tapete desintegrado y micrósporos separados, $\times 200$; H-I: granos de polen jóvenes y cuerpos de Ubisch, $\times 500$; J: detalle de la valva con endotecio engrosado y dos estratos parietales, $\times 500$; K, L, P: zona de dehiscencia. K: de cinco células, $\times 500$; L: de tres células, $\times 500$; P: de dos células, $\times 200$; M: estratos parietales consumidos y polen maduro, $\times 500$; O: corte longitudinal de la antera, detalle de la zona donde la valva queda adherida al cuerpo de la antera, parénquima colenquimatoso y endotecio con engrosamientos en U, $\times 500$, en = endotecio; pc = parénquima colenquimatoso; tr = tétrades decusadas; t = tapete; cu = cuerpos de Ubisch; es = zona de dehiscencia.



1º) Las células madres de los micrósporos inician las divisiones meióticas, que conducirán, por citoquinesis sucesiva, a la formación de tétrades decusadas rodeadas de calosa (Fig. 2 A, B, C, D, E, F; Lám. 1 B, D, E, G). 2º) Se produce la separación de las tétrades y posterior ruptura de las envolturas de calosa de cada uno de los micrósporos (Lám. 1 F). 3º) Formación de la exina esculturada de los micrósporos (Fig. 2 G, H; Lám. 1 H, I). 4º) Sacos polínicos completamente maduros con granos de polen desarrollados y binucleados (Fig. 2 I; Lám. 1 M).

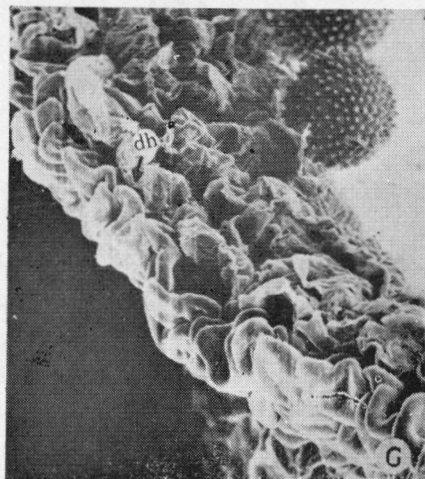
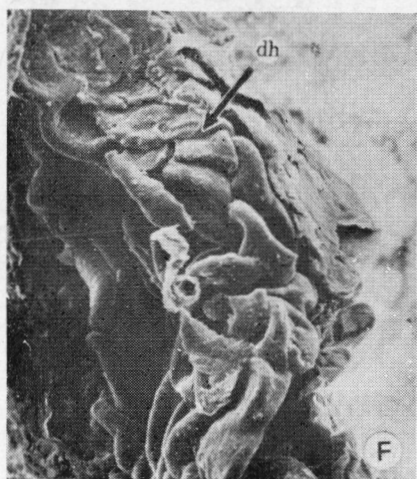
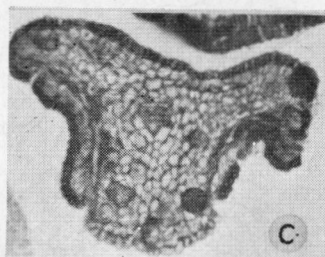
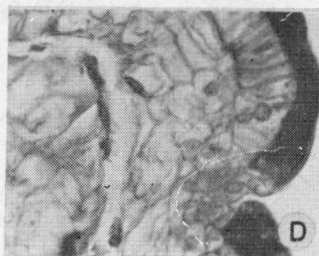
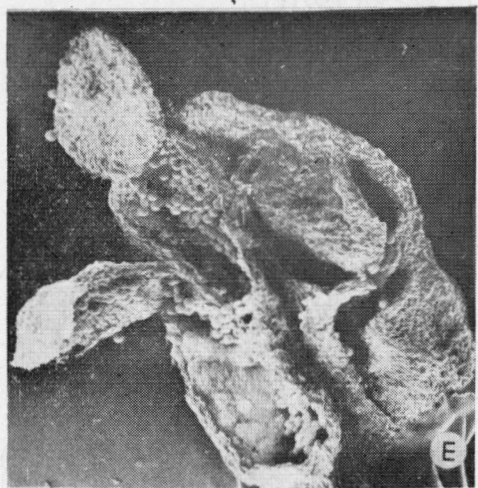
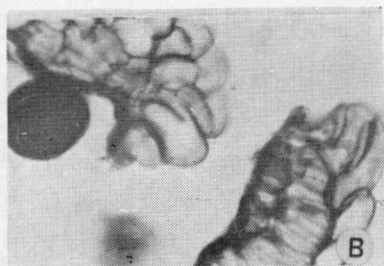
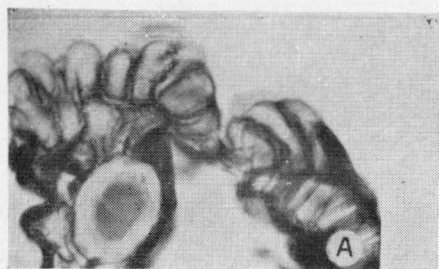
En correspondencia con los pasos de microsporogénesis recién descritos, se producen cambios en la estructura de la pared de la antera. Durante el primer paso, la pared de la antera se mantiene en general intacta, pudiéndose observar en ciertos casos un agrandamiento de las células del endotecio (Fig. 2 B, D, E, F). La presencia de tétrades rodeadas de calosa, indica que comenzará el proceso de maduración de los micrósporos (Fig. 2 E, F; Lám. 1 E, G). A partir del segundo paso, tendrán lugar, una serie de cambios progresivos en la estructura de la pared de la antera hasta el momento de la dehiscencia. Dichos cambios, consisten en lo siguiente: lo primero que se consume es el tapete, ahora binucleado (Fig. 2 E, F; Lám. 1 D), cuyas células poseen una superficie ligeramente granulada debido a la presencia de los cuerpos de Ubisch (Oksala & Therman, 1977; Heslop-Harrison, 1968; Roland, 1967; Gamérro, 1968).

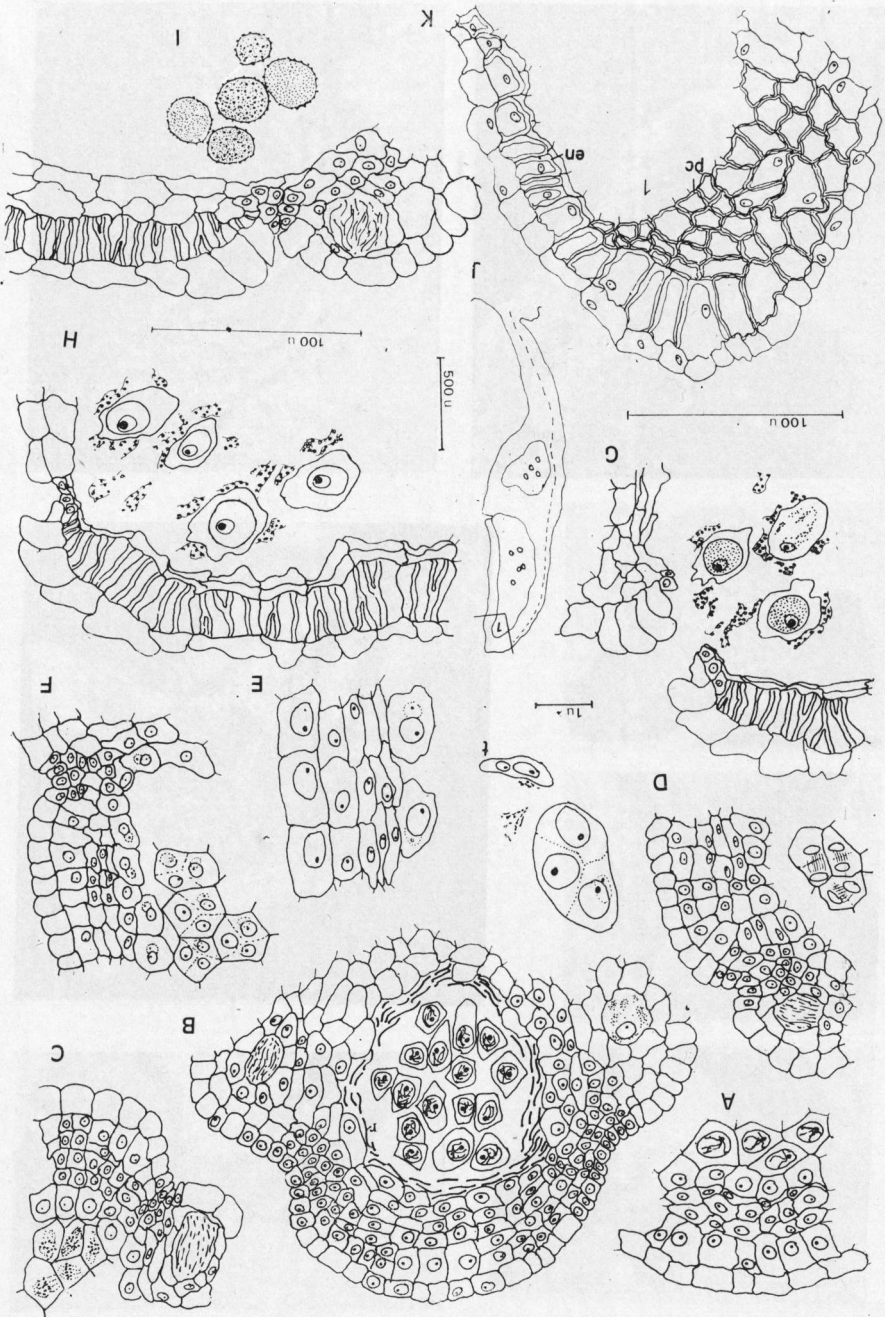
En la transición del segundo al tercer paso y durante el tercero se nota la presencia de membranas tapetales con cuerpos de Ubisch adheridos a las mismas (Fig. 2 G, H; Lám. 1 H, I); lo anterior pone en evidencia la desintegración de las células del tapete (Fosard, 1969).

A esto sigue una consumición paulatina de los estratos parietales y un simultáneo agrandamiento de las células del endotecio, que engrosan sus paredes formando bandas radiales anastomosadas, y en forma de U abierta hacia el exotecio. Se trata de espesamientos secundarios y lignificados (Fig. 2 G, H, I, J, K; Lám. 1 M, O, J).

En la transición 3º a 4º y durante el paso 4º, en la zona de la dehiscencia, la desaparición del grupo de células subvacentes al exotecio indica que la microgametogénesis está por culminar y que el momento de la dehiscencia se aproxima (Fig. 2 I; Fig. 3 C; Lám. 1 P, L, K; Lám. 2 A).

LÁM. 2. — A: zona de dehiscencia, $\times 200$; B: separación de la valva por disolución de la laminilla media, $\times 200$; C-D: antera abortada en corte transversal. D: detalle, $\times 200$; C: aspecto general, $\times 50$; E-G: fotomicrografías con MEB. E: antera con dehiscencia tetraavalvar, aspecto general, $\times 60$; F-G: zona de dehiscencia, $\times 700$; F: borde del saco polínico; G: borde de la valva. dh = zona de dehiscencia.





Dehiscencia. — Al completarse la maduración de los granos de polen (fin del paso 4^o), la pared de la antera consta solamente de exotecio y endotecio en la región de la valva limitada por la zona de dehiscencia; el resto es tejido parenquimático y algunos idioblastos mucilaginosos, que se tiñen de azul vivo con violeta de cresilo (Fig. 3 B, C; Lám. 2 A, B). Inmerso en el parénquima, se encuentra el haz vascular con el xilema en forma de V y el floema semirrodeándolo, en herradura. Se puede destacar que en este estadio las células del exotecio próximas a la zona de dehiscencia son papilosas. En cambio, en la porción central de cada una de las valvas, se observan radialmente aplanadas sobre el endotecio (Fig. 3 E; Lám. 2 A).

En el momento previo a la dehiscencia, en un corte transversal por la parte media de la valva, cada zona de dehiscencia está compuesta por 2 a 5 células pequeñas, con pared delgada y núcleo grande. Entre estas células se produce la disolución de la laminilla media (Fig. 3 C, D; Lám. 2 A), a lo largo de la línea de dehiscencia que abarca, la porción lateral e inferior de la valva (Fig. 3 E, F; Lám. 2 B, E, F, G); la que queda sujeta solamente por su parte superior (Fig. 2 J, K; Lám. 1 O; Lám. 2 E).

En esta porción no dehiscente se observa el aumento de tamaño de las células del endotecio y un grupo de células de parénquima colenquimatoso (Fig. 2 J, K). Los engrosamientos del endotecio en forma de U abierta hacia el exotecio, provocan la curvatura de las valvas hacia el exterior (Lám. 2 E). Luego de esto los granos de polen maduros son liberados.

DISCUSION

De lo observado en *O. acutifolia*, se puede decir que, como en el caso de la mayoría de las Angiospermas, la forma de apertura de las anteras está íntimamente relacionada con los cambios de estructura que sufre su pared. Asimismo, es interesante destacar el sincronismo fisiológico, que existe entre la desintegración del tapete y la aparición

FIG. 2. — A-K: cortes transversales de la antera mostrando estados progresivos de microsporogénesis y modificaciones sincrónicas de la pared de la antera. A-B: células madres de los microsporos en profase meiótica, agrandamiento de las células del endotecio y estado uninucleado del tapete; C-D: células madres de los microsporos en división: C, metafase; D, telofase II; E-F, tétrades decusadas; tapete binucleado, que comienza a desprenderse; G-H: endotecio con engrosamientos de paredes, estratos parietales parcialmente consumidos, microsporos inmaduros y restos de membranas tapetales con cuerpos de Ubisch; I: saco polínico con granos de polen maduros, zona de dehiscencia compuesta por varias células pequeñas; J-K. estambre en corte longitudinal: J, esquema; K, detalle de J en el área marcada con 1: zona donde la valva queda adherida al cuerpo de la antera. en = endotecio; pc = parénquima colenquimatoso; r = restos de células.

de engrosamientos secundarios lignificados y en forma de U, de las paredes de las células del endotecio (Fosard, 1969). Este último, juega un papel activo en la dehiscencia. Bajo la acción de la desecación, sus paredes celulósicas no lignificadas se contraen más que las lignificadas y esto provoca la separación de las valvas y el recurvamiento de las mismas hacia el exterior (Leclerc du Sablon, 1885). Las observaciones con MEB, han permitido comprobar que: La dehiscencia ocurre por disolución de la laminilla media en la zona de dehiscencia y no por rotura de sus células, debida a acción mecánica.

Finalmente, la revisión bibliográfica, permitió ver que los autores se ocuparon principalmente de la embriología de algunos géneros de *Lauraceae*, pero en ningún caso se analizó, para esta familia, la sincronización entre la microsporogénesis, la microgametogénesis y los cambios de estructura que sufre la pared de la antera.

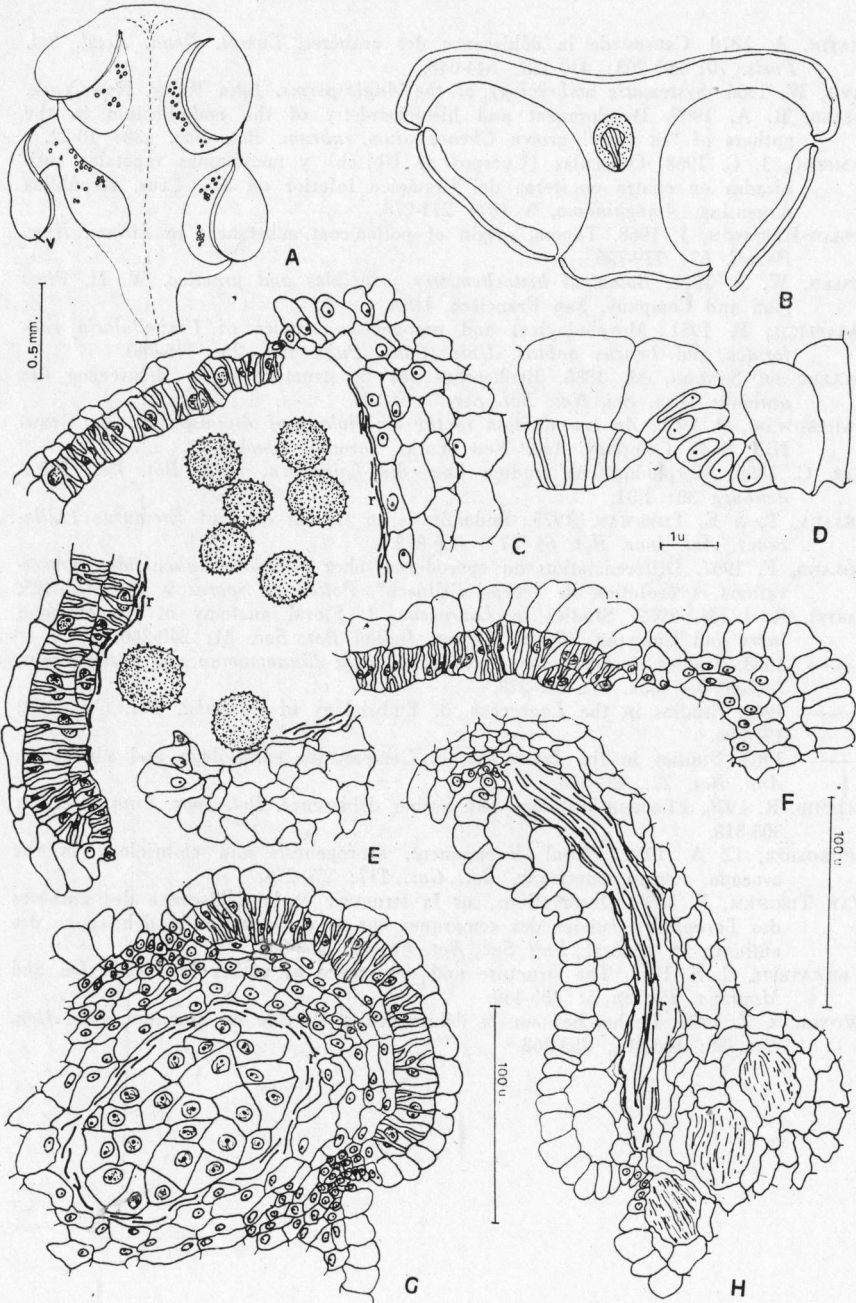
AGRADECIMIENTOS

La autora expresa su agradecimiento a la Dra. Elena Ancibor por su valiosa dirección, a la Dra. Emil Di Fulvio por las sugerencias bibliográficas, muy especialmente al Dr. A. E. Cocucci por sus oportunos consejos, al Dr. J. H. Hunziker por la revisión del texto, al Dr. J. Wright el préstamo del fotomicroscopio y al Consejo de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET) los servicios del microscopio electrónico de barrido.

BIBLIOGRAFIA

- BAMBACIONI-MEZZETTI, V. 1935. Ricerche morfologiche sulle *Lauraceae*. Lo sviluppo dell'ovulo e dei sacchi pollinici nel *Laurus nobilis*. *Ann. di Bot.* 21: 1-19, Roma.
- 1941. Ricerche morfologiche sulle *Lauraceae*. Embriologia della *Umbellularia californica* e del *Laurus canariensis*. *Ibid.* 22: 99-116.
- CABRERA, A. L. 1953. *Manual de la Flora de los alrededores de Buenos Aires*. Acme S.A.
- CLARKE, B. 1866. On the floral envelope of *Lauraceae*. *Intern. Hort. Exhibit. Bot. Congr.* 118-189. London.

FIG. 3. — A-H: proceso de la dehiscencia. A: vista externa de la cara adaxial de un estambre con dehiscencia tetraavalvar, esquema; B: corte transversal de antera a la altura de dos sacos polínicos, esquema; C: corte transversal de antera en la zona de dehiscencia, granos de polen maduros; D: zona de dehiscencia, detalle; E-F: separación de la valva por disolución de la laminilla media; G-H: antera abortada. G: desintegración de las capas externas del tejido esporógeno, detalle; H: saco polínico con tejidos modificados y desintegrados. r = restos de células.



- CHATIN, A. 1870. Causes de la déhiscence des anthères. *Compt. Rend. Acad. Sci. Paris*. 70: 201-203; 410-413; 644-648.
- DAVIS, W. 1966. *Systematic embryology of the Angiosperms*. John Wiley, New York.
- FOSARD, R. A. 1969. Development and histochemistry of the endothecium in the anthers of "in vitro" grown *Chenopodium rubrum*. *Bot. Gaz.* 130: 10-22.
- GAMERRO, J. C. 1968. Orbículas (Cuerpos de Ubiisch) y membranas tapetales cutinizadas en cuatro coníferas del Cretácico inferior de Sta. Cruz, República Argentina. *Ameghiniana*, 5 (8): 271-278.
- HESLOP-HARRISON, J. 1968. Tapetal origin of pollen-coat substances in *Lilium*. *New Phytol.* 67: 779-786.
- JENSEN, W. A. 1962. *Botanical histochemistry principles and practice*. W. H. Freeman and Company, San Francisco, USA.
- KASAPLIGIL, B. 1951. Morphological and ontogenetic studies of *Umbellularia californica* and *Laurus nobilis*. *Univ. Calif. Publ. Bot.* 25: 115-240.
- LECLERC DU SABLON, M. 1885. Recherches sur la structure et la déhiscence des anthères. *Ann. Sci. Nat. Bot. Ser.* 7: 7-130.
- MAHESHWARI, P. 1950. *An introduction to the embryology of Angiosperms*. Mc Graw-Hill Book Company, Inc. New York. Toronto. London.
- MEZ, C. 1889. Morphologische studien über die *Lauraceen*. *Verh. Bot. Ver. Brandenburg* 30: 1-31.
- OKSALA, T. & E. THERMAN. 1977. Endomitosis in tapetal cells of *Eremurus* (*Liliaceae*). *Am. Jour. Bot.* 64 (7): 866-872.
- ROLAND, F. 1967. Différenciation du sporoderme chez *Ficaria ranunculoides*. Observations et évolution de "corps d'Ubiisch". *Pollen et Spores* 9 (3): 415-425.
- SASTRI, R. L. N. 1952. Studies in *Lauraceae*. 1. Floral anatomy of *Cinnamomum iners* and *Cassytha filiformis*. *Jour. Indian Bot. Soc.* 31: 240-246.
- 1958. Studies in *Lauraceae*. 2. Embriology of *Cinnamomum* and *Litsea*. *Jour. Indian Bot. Soc.* 37: 226-278.
- 1962. Studies in the *Lauraceae*. 3. Embriology of *Cassytha*. *Bot. Gaz.* 123: 197-206.
- 1963. Studies in the *Lauraceae*. 4. Comparative embriology and phylogeny. *Ann. Bot.* 27: 425-433.
- SCHMID, R. 1976. Filament histology and anther dehiscence. *Bot. Jour. Linn. Soc.* 73: 303-315.
- SCHROEDER, C. A. 1952. Floral development, sporogenesis and embriology in the avocado, *Persea americana*. *Bot. Gaz.* 113: 270-278.
- VAN TIEGHEM, P. 1895. Observations sur la structure et la déhiscence des anthères des *Loranthées*, suivies des remarques sur la structure et la déhiscence des anthères en général. *Bull. Soc. Bot. Fr.* 42: 363-368.
- VENKATESH, C. S. 1955. The structure and dehiscence of anther in *Memecylon* and *Mouriria*. *Phyton* 5: 435-440.
- WOYCICKI, Z. 1924. Recherches sur la déhiscence et le rôle du stomium. *Rev. Gen. Bot.* 36: 196-212; 253-268.