



Estructura y desarrollo del ginostemio en *Dichromanthus michuacanus* (Orchidaceae, Spiranthinae)

Gynostemium structure and development in *Dichromanthus michuacanus* (Orchidaceae, Spiranthinae)

Coyolxauhqui Figueroa¹✉, Gerardo A. Salazar¹, Teresa Terrazas¹ y Patricia Dávila²

¹Departamento de Botánica, Instituto de Biología, Universidad Nacional Autónoma de México. Apartado postal 70-367, 04510 México, D. F., México.

²Unidad de Biología, Tecnología y Prototipos, Facultad de Estudios Superiores Iztacala, Universidad Nacional Autónoma de México. Av. de los Barrios s/n, Los Reyes Iztacala 54090 Tlalnepantla, Estado de México, México.

✉ cfigueroa@ibiologia.unam.mx

Resumen. Se describe e ilustra la morfología y el desarrollo floral de *Dichromanthus michuacanus*, con énfasis en el ginostemio. Se examinaron inflorescencias en diferentes estadios de desarrollo mediante microscopía electrónica de barrido y microscopía de luz. Los órganos florales se diferencian en dirección adaxial-abaxial en el orden siguiente: sépalos laterales, labelo, pétalos, antera y sépalo dorsal. Los ápices carpelares aparecen después, entre la antera y el labelo. Inicialmente hay alargamiento de antera y carpelo medio; el ápice de este último da origen al estigma, rostelo y viscidio y los ápices de los carpelos laterales no contribuyen a la superficie receptiva del estigma. El remanente rostelar es angostamente triangular y el viscidio lo envaina; en la antesis se aprecia una zona de ruptura entre ambas estructuras. Al final del desarrollo crece la parte columnar. La organogénesis temprana de *D. michuacanus* es similar a la de otros géneros de Spiranthinae y las diferencias estructurales entre las flores se generan en etapas tardías del desarrollo. La estructura del rostelo y viscidio muestra una correspondencia con la morfología del polinizador (*Bombus diligens*, Apidae); el angosto viscidio de *D. michuacanus* se adhiere a la superficie dorsal de la lengua del insecto.

Palabras clave: antera, carpelos, estigma, ginostemio, ontogenia, polinización, rostelo, viscidio.

Abstract. Floral morphology and development of *Dichromanthus michuacanus*, with an emphasis on the gynostemium, are described and illustrated. Inflorescences at different stages of development were examined by means of scanning electron microscopy and light microscopy. The floral organs differentiate in an adaxial-abaxial direction, in the following sequence: lateral sepals, labellum, petals, anther and dorsal sepal. The carpel apices appear last between the anther and the labellum. Initially there is elongation of the anther and the median carpel; the latter gives rise to the stigma, rostellum and viscidium, and the lateral carpels do not contribute to the stigmatic receptive surface. The rostellum remnant is narrowly triangular and the viscidium sheaths it almost entirely; at anthesis, a zone of rupture between both structures is evident. The columnar part arises at the end of development. Early organogenesis of *D. michuacanus* is similar to that of other genera of Spiranthinae studied previously and the structural differences observed originate at the later stages. The structure of the rostellum and viscidium shows a correspondence with the morphology of the pollinator (*Bombus diligens*, Apidae); the narrow viscidium of *D. michuacanus* adheres to the dorsal surface of the tongue of the insect.

Key words: anther, carpels, stigma, gynostemium, ontogeny, pollination, rostellum, viscidium.

Introducción

La subtribu Spiranthinae es un grupo de orquídeas predominantemente terrestres con distribución neotropical (excepto por el género *Spiranthes* s.s.) que incluye 40 géneros y ca. 400 especies (Salazar, 2003). Está ubicada en la tribu Cranichideae de la subfamilia Orchidoideae

(Chase et al., 2003; Salazar et al., 2003, 2009; Figueroa et al., 2008). La circunscripción genérica en la subtribu se ha basado casi exclusivamente en características del ginostemio, particularmente el rostelo (la porción no receptiva del lóbulo medio estigmático, una parte de la cual se diferencia en el viscidio; Richard, 1817; Dressler, 1993; Kurzweil, 1987a, 1987b, 1998). El énfasis que se ha hecho en el uso de unos cuantos caracteres florales, evaluados de manera intuitiva, para clasificar un grupo tan grande de especies, ha dado como resultado notables inconsistencias en la deli-

mitación de los géneros (Schlechter, 1920; Garay, 1982; Balogh, 1982; Szlachetko, 1995; Salazar, 2003; Salazar et al., 2003, 2011).

Por otra parte, pocos trabajos han investigado de manera comparativa la estructura del ginostemio de las *Spiranthinae*. El de Rasmussen (1982) fue el primer estudio comparativo de la morfología y desarrollo del ginostemio de las orquídeas “neottioides”, un grupo polifilético en el cual estaba incluida la subtribu *Spiranthinae*. Dicho estudio comprendió representantes de 6 géneros de la subtribu con descripción sucinta de la morfología del ginostemio en post-antesis. Por otra parte, Greenwood (1982) estudió el viscidio en numerosas *Spiranthinae* mexicanas y planteó la existencia de 2 tipos principales, que denominó “tipo cojín” y “tipo cuña”. Sin embargo, indicó que su estudio se basó en una fracción de los géneros y especies conocidos en la subtribu, siendo necesario estudiar más taxa para verificar la generalidad de sus observaciones. Kurzweil (1988), en un estudio comparativo del desarrollo de las orquídeas “neottioides”, observó algunas etapas de la ontogenia del ginostemio de una especie de *Cyclopogon* sp. (*Spiranthinae*). Más recientemente, Szlachetko y Rutkowski (2000) presentan descripciones generales de los 51 géneros que reconocen en *Spiranthinae*; sin embargo, las descripciones no son completamente comparables y sólo se refieren a los ginostemios en post-antesis.

No existen trabajos previos que investiguen en detalle el desarrollo y la morfología post-antesis del ginostemio de una especie de la subtribu *Spiranthinae*. En el presente estudio se describe la morfología post-antesis y la ontogenia floral de *Dichromanthus michuacanus* (Lex.) Salazar et Soto Arenas, con énfasis en el ginostemio, con el fin de sentar una base para posteriores estudios comparativos del desarrollo y la estructura floral de la subtribu *Spiranthinae*. También se examina la relación entre la estructura y la función de las partes del ginostemio con la polinización y se discute la homología de las estructuras reproductivas florales en el contexto de la familia Orchidaceae, un tópico históricamente debatido.

Materiales y métodos

Recolección del material. Se obtuvieron inflorescencias de material fresco en diferentes estadios de desarrollo durante visitas a varias localidades del Estado de México, con los siguientes números de colecta: *Figuerola* 192, 260, 263; *Salazar* 6047 7250; *Soto* 10166 (ejemplares de respaldo en el herbario MEXU). Se enfatizó la obtención de inflorescencias que presentaron primordios florales para la observación desde la diferenciación inicial de los órganos de la flor hasta flores en post-antesis. Las inflorescencias se fijaron en FAA (5% formalina, 5% ácido acético, 50% etanol;

Sass, 1958), y permanecieron en el fijador al menos durante 24 h; posteriormente fueron lavadas con agua y almacenadas en etanol al 50% hasta su procesamiento.

Morfología del ginostemio en post-antesis. Las flores abiertas se disectaron bajo un estereomicroscopio (Stemi SV 6, Carl Zeiss) y fueron fotografiadas con una cámara digital (Coolpix 5200, Nikon).

Microscopía electrónica de barrido. Las muestras se deshidrataron en una serie de alcoholes graduales (etanol 50%, 70%, 80%, 90% y 3 cambios en 100%), permaneciendo durante 48 h en cada cambio. Posteriormente se secaron a punto crítico y se les recubrió con oro para su observación en un microscopio electrónico Hitachi S-2460 N, operado a 15 kv. Las micrografías se tomaron con una cámara Pentax Z10, usando película de 35 mm Kodak 100 TMAX. Los negativos se digitalizaron con un escáner Nikon Super Coolscan 5000.

Anatomía. A partir de las observaciones de la microscopía electrónica de barrido se eligieron 6 etapas del desarrollo floral para su estudio mediante cortes anatómicos: 1), organogénesis inicial; 2), surgimiento del ápice del carpelo medio y carpelos laterales; 3), inicio de diferenciación del viscidio; 4), viscidio diferenciado antes de la antesis; 5), ginostemio en antesis y 6), ginostemio en post-antesis. Las muestras se deshidrataron con alcohol isopropílico durante 12 h por cada concentración en un cambiador Fisher Tissue-maton y posteriormente se incluyeron en parafina. Con un micrótopo American Optical Company 820 se obtuvieron secciones transversales y longitudinales de 10 µm de grosor que se tiñeron con safranina verde-rápido y se montaron en resina sintética. Las preparaciones permanentes se observaron y fotografiaron en un microscopio óptico Olympus BX51 con cámara digital Evolution LC Color.

Resultados

Morfología floral de *Dichromanthus michuacanus*. La inflorescencia es un racimo terminal con las flores densamente arregladas en varias espirales (Fig. 1A). Las flores son tubulares con los ápices de los segmentos recurvados; su coloración varía de blanco a verde o amarillo intenso. Los segmentos florales tienen nervaduras longitudinales verde oscuro, con superficie exterior de pilosa a lanada (Figs. 1B, C). El margen interior de los pétalos está adherido al sépalo dorsal; el labelo envuelve parcialmente el ginostemio y sus márgenes laterales están adheridos a los lados del ginostemio al nivel del estigma. En la base del labelo se encuentra el nectario, que es acanalado (Fig. 1D). La adhesión del labelo a la columna resulta en un pasaje estrecho por el que se accede al nectario. El ginostemio es recto, de color verde y pubescente ventralmente; la antera es dorsal y erecta, mientras que el estigma es ventral. La

base de la antera se ubica en una cavidad con márgenes membranáceos, el clinandrio (Fig. 1F). La parte apical del ginostemio está formada por el rostelo, cuya superficie ventral constituye la porción adhesiva del viscidio. Este último es subulado y del tipo cojín (Greenwood, 1982; Figs. 1E-G). Los 2 polinios son alargados y sulcados longitudinalmente, con sus porciones apicales adheridas a la superficie dorsal del viscidio (Fig. 1J). Tras la remoción del viscidio con los polinios (= polinario), lo que queda del rostelo es una proyección rígida y angosta que constituye el remanente rostelar (Figs. 1H, I). El estigma es una superficie transversalmente elíptica, lustrosa y viscosa al tacto, algo convexa, con los lados ligeramente curvados hacia atrás (Figs. 1E, G, H). En material fijado, la superficie estigmática consiste en una superficie convexa con papilas digitiformes de 50-300 μm y perpendiculares a la capa de células prosenquimáticas subyacentes (Fig. 3J) que de acuerdo con Dannenbaum et al. (1989) corresponde a un estigma del tipo II A.

Desarrollo floral. El desarrollo se inicia cuando el primordio floral surge en la axila de la bráctea como una protuberancia transversalmente elíptica (Fig. 2A); en el nivel tisular se observan divisiones iniciales periclinales seguidas por otras anticlinales. A continuación aparece una depresión transversal en su parte central debido al crecimiento más rápido del tejido periférico, que forma un reborde (Fig. 2B). Del margen adaxial del reborde del primordio, primero se diferencian los sépalos laterales, seguidos por el labelo y los pétalos hacia el interior (Figs. 2B, C); posteriormente se diferencia la antera y subsecuentemente surge el sépalo dorsal (Figs. 2C, D). Los segmentos del perianto crecen a lo largo y ancho adquiriendo su estructura laminar (Fig. 3A) y la antera también incrementa su tamaño.

Una vez que la antera ha crecido, se observa la aparición del ápice del carpelo medio entre la antera y el labelo (Figs. 2E, 3B). Dicho ápice consiste primero en una protuberancia redondeada (Fig. 2E) que se alarga rápidamente hasta alcanzar aproximadamente la misma longitud que la antera (Figs. 2F-G, 3B-D). Al tiempo que se inicia el alargamiento del ápice del carpelo medio, aparecen frente a éste 2 pequeñas prominencias redondeadas y fusionadas de manera congénita que constituyen los ápices de los carpelos laterales (Figs. 2E, 3C). Posteriormente, estas 2 prominencias forman el reborde inferior del estigma y son indistinguibles en la antesis (Fig. 2H).

Cuando ocurre el alargamiento del carpelo medio, pero antes de que éste iguale a la antera en longitud, se inicia la diferenciación del viscidio. El viscidio se encuentra en la porción apical del rostelo, es decir, la porción del carpelo medio que no formará parte del tejido receptivo del estigma. La diferenciación es visible superficialmente

porque el ápice del rostelo se ensancha ligeramente y se observa una desorganización de las hileras de células epidérmicas (Fig. 2F). En esta etapa, las células que formarán el viscidio son parenquimatosas e isodiamétricas (Fig. 3F).

Durante la diferenciación del viscidio, las células de la superficie ventral del rostelo se alargan anticlinalmente y tienen protoplastos densos (Fig. 3G). En esta etapa también se inicia la diferenciación del estigma (Figs. 2G-H) y se observa el crecimiento de las papilas en la parte basal del ápice del carpelo medio. El reborde formado por los ápices de los carpelos laterales no desarrolla papilas.

Poco antes de la antesis, en el viscidio las células del parénquima se diferencian en 2 grupos; las de posición ventral, que tienen protoplastos densos y generalmente están alargadas anticlinalmente (transversalmente al eje de la columna) y las dorsales que son isodiamétricas de tamaño diverso (Fig. 3H). El haz vascular del carpelo medio, que llega hasta el rostelo, termina donde comienza el viscidio.

A partir de la diferenciación del estigma y el viscidio, cuando el rostelo ha alcanzado la longitud de la antera, se forma la parte "columnar" del ginostemio por crecimiento intercalar, lo que hace que el estigma y el rostelo se alejen de la base (Fig. 2I). En ninguna fase se observan estructuras que pudieran interpretarse como estaminodios. Los segmentos del perianto y el ginostemio adquieren su forma y tamaño definitivos justo antes de la antesis y se desarrolla entonces la pubescencia en la superficie ventral de la parte columnar del ginostemio (Fig. 2K).

Durante la antesis, las papilas digitiformes del estigma alcanzan su máxima longitud; la superficie estigmática presenta la película viscosa que secretan las papilas y le da su aspecto brillante, y permite la adhesión de fragmentos de polinios durante la polinización. El reborde inferior del estigma, formado por los ápices carpelares laterales fusionados, no tiene papilas pero está cubierto por la misma sustancia viscosa y brillante que cubre el resto del estigma (Fig. 3J).

La antera es uninervada, con el haz vascular anficribal rodeado por una vaina de parénquima. El haz termina en el conectivo ubicado entre las 2 tecas. El endotecio presenta engrosamientos secundarios de la pared a manera de barras anticlinales paralelas, correspondiendo al tipo IIIb propuesto por Freudenstein (1991). La parte columnar es relativamente corta.

En la antesis, la epidermis dorsal del viscidio, a la cual se adhieren los polinios, consta de células comparativamente grandes más o menos cuadradas, mientras que la epidermis ventral consta de células rectangulares papilosas, alargadas periclinalmente (Fig. 3H). En el interior del viscidio, la mayor parte del volumen hacia el lado ventral está compuesta de células alargadas tangencialmente con protoplastos densos y grandes vacuolas (Fig. 3H). Al

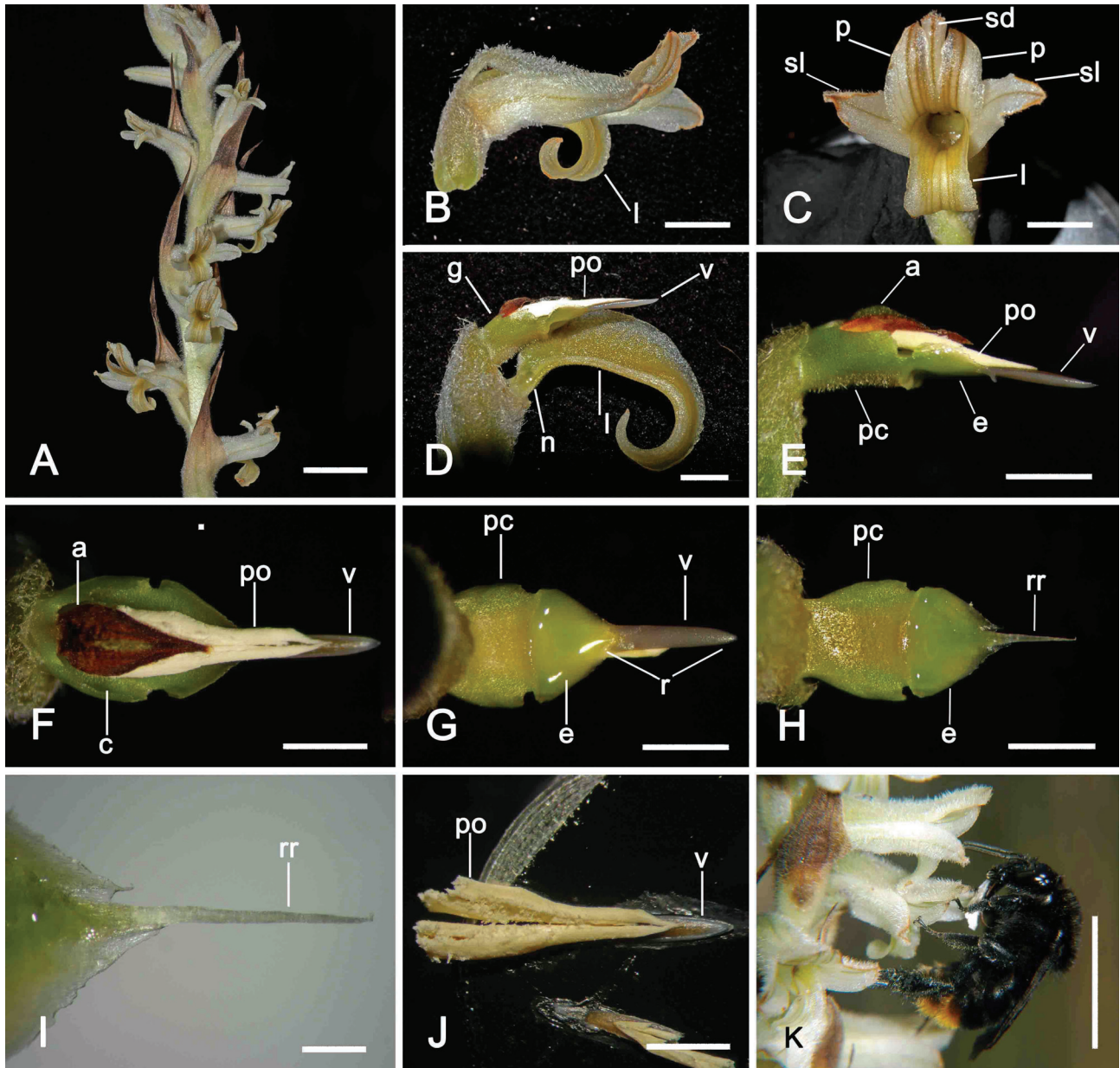


Figura 1. Morfología floral de *Dichromanthus michuacanus* (basada en Salazar 7250, MEXU.). A, Inflorescencia; B, flor en vista lateral; C, flor en vista frontal; D, labelo y ginostemio en vista lateral con el labelo cortado longitudinalmente; E, ginostemio en vista lateral; F, ginostemio en vista dorsal; G, ginostemio en vista ventral antes de la remoción del polinario; H, ginostemio en vista ventral tras la remoción del polinario, mostrando el remanente rostelar; I, acercamiento del remanente rostelar en vista ventral; J, polinario en vista dorsal; K, polinización de *D. michuacanus* por *Bombus diligens* en el Estado de México. Abreviaturas: a, antera; c, clinandrio; e, estigma; g, ginostemio; l, labelo; n, nectario; pc, parte columnar del ginostemio; p, pétalos; po, polinio; rr, remanente rostelar; sd, sépalo dorsal; sl, sépalos laterales; v, viscidio. Escalas: A, K= 1 cm; B, C= 0.5 cm; D-H, J= 2mm; I= 0.5 mm.

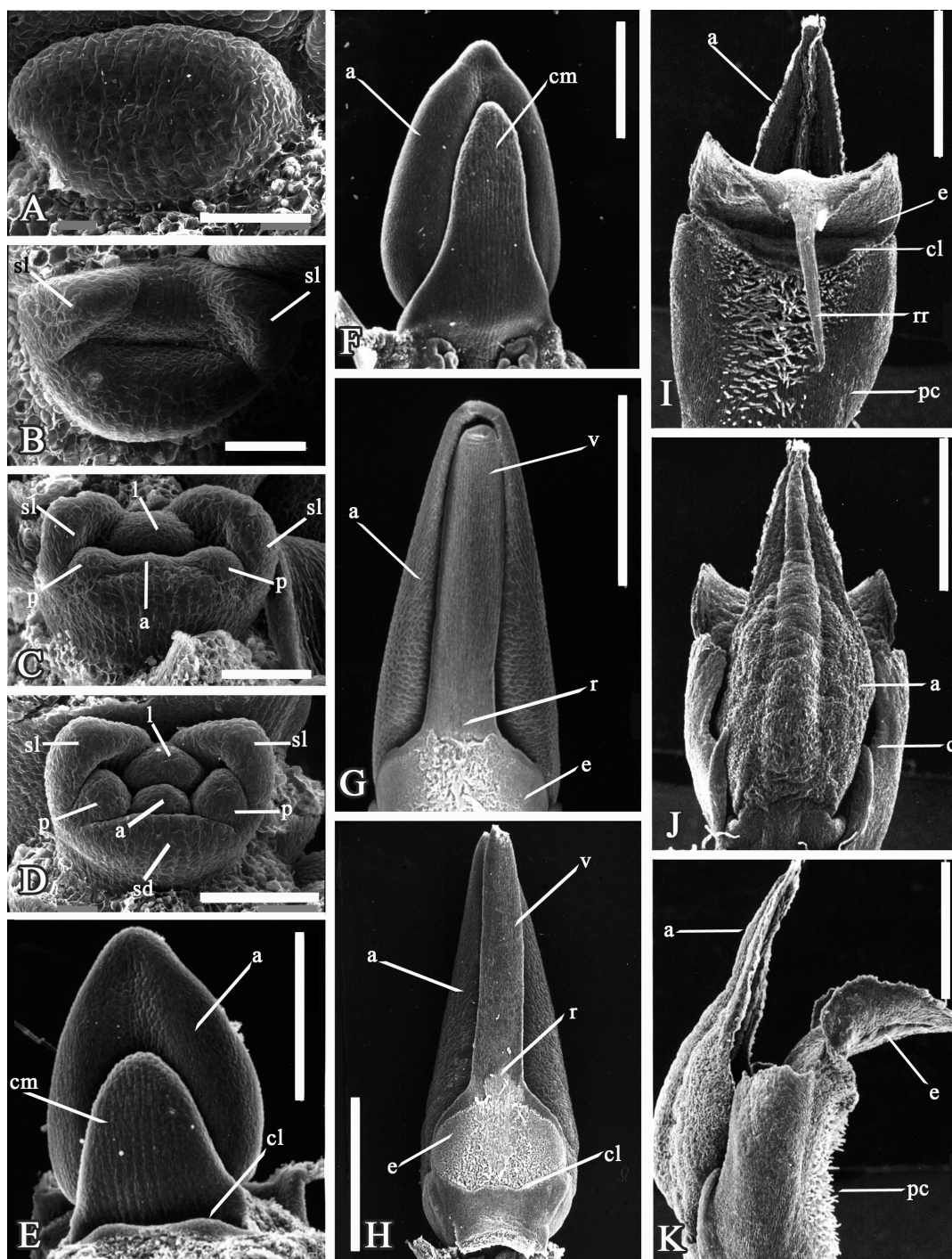


Figura 2. Desarrollo floral de *D. michuacanus*, microscopía electrónica de barrido. A, primordio floral elíptico; B, iniciación de los sépalos laterales; C, iniciación de los pétalos; D, flor completa; E, flor sin perianto mostrando el carpelo medio y los laterales; F, antera y carpelo medio en desarrollo; G, viscidio empezando a diferenciarse; H, zona receptiva del estigma y viscidio diferenciados y ápices fusionados de los carpelos laterales; I, vista ventral del ginostemio en antesis con la parte columnar formada y remanente rostellar expuesto; J, vista dorsal del ginostemio en antesis mostrando la antera; K, vista lateral del ginostemio. *Abreviaturas:* a, antera; c, clinandrio; cl, ápices de los carpelos laterales; cm, ápice del carpelo medio; e, estigma; l, labelo, p, pétalos; pc, parte columnar del ginostemio, r, rostellum; rr, remanente rostellar, sd, sépalo dorsal; sl, sépalos laterales, v, viscidio. A-D en posición no resupinada; E-K en posición resupinada. *Escala:* A, B= 100 μ m; C, D= 200 μ m; E= 400 μ m; F= 500 μ m; G-K= 2 mm.

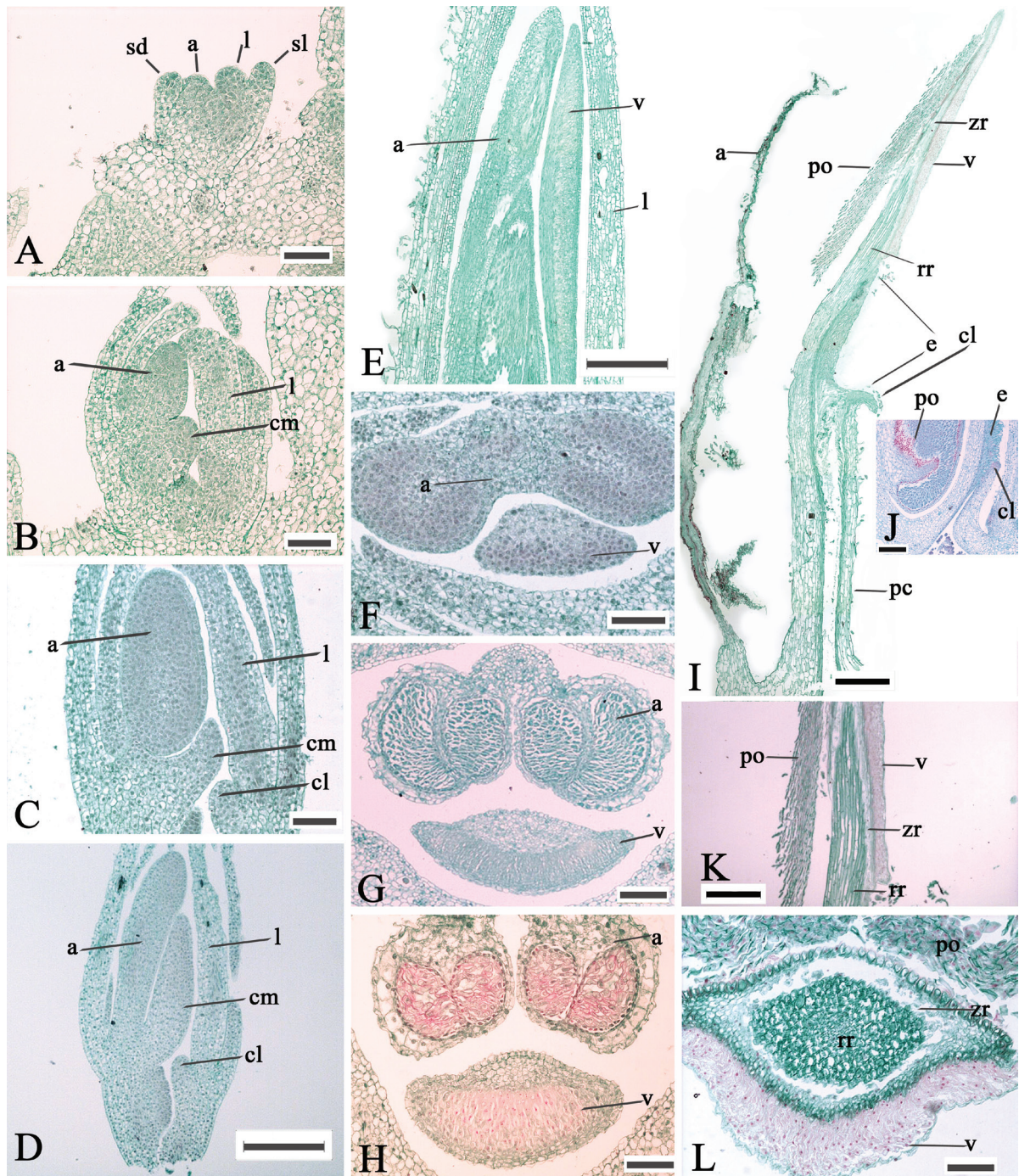


Figura 3. Diferentes etapas de desarrollo floral de *D. michuacanus*, de microscopía de luz. A, organogénesis temprana, indicando sépalos, antera y labelo; B, diferenciación del ápice del carpelo medio; C, diferenciación de los ápices de los carpelos laterales; D, carpelo medio alargado, casi de la misma longitud que la antera, viscidio iniciando su desarrollo; E, corte transversal del viscidio y antera en diferenciación; F, corte longitudinal del viscidio casi completamente diferenciado; G, corte transversal del viscidio justo antes de la antesis; H, viscidio al inicio de la antesis y antera con algunos engrosamientos del endotecio; I, corte longitudinal del ginostemio en post-antesis; J, corte longitudinal del ginostemio en post-antesis mostrando el estigma; K, corte longitudinal del viscidio en post-antesis, obsérvese la zona de ruptura; L, corte transversal del viscidio en post-antesis. *Abreviaturas:* a, antera; cl, ápices de los carpelos laterales; cm, ápice del carpelo medio; e, estigma; l, labelo; po, polinios; rr, remanente rostral; sl, sépalos laterales; v, viscidio; zr, zona de ruptura. *Escala:* A-C, G-H, L= 100 μ m; D-F, I-K= 300 μ m.

contacto de un objeto sólido, las paredes de las células adhesivas del viscidio se disuelven y sus contenidos se mezclan y forman una sola masa compacta. Hacia la parte dorsal existe una zona transversalmente elíptica donde las células del parénquima se diferencian en colenquimatosas y constituirán el remanente rostelar tras la remoción del polinario (Figs. 3I, K-L). Varios días después de la antesis, en ginostemios cuyo polinario no fue removido se observó degeneración del estrato de células parenquimáticas que rodean el remanente rostelar (Fig. 3L), causando la separación del viscidio y el remanente (aunque en esta etapa la superficie adhesiva del viscidio está seca y no es funcional; Figs. 3I, K-L).

Discusión

Organogénesis floral. La organogénesis inicial de *D. michuacanus* es similar a la descrita para otras orquídeas de las subfamilias Epidendroideae, Vandoideae y Orchidoideae (Kurzweil, 1987a, 1987b, 1998, 2000), incluyendo otros miembros de la subtribu Spiranthinae. En todas existe una direccionalidad en la secuencia de aparición de los órganos florales que va del lado adaxial del primordio floral hacia el abaxial, aunque existe variación en el orden de aparición de algunos órganos en particular (Endress, 1990; Rudall y Bateman, 2002; Pabón y González, 2008). La condición más común es que se diferencien, en ese orden, sépalos laterales, labelo, pétalos, sépalo dorsal y antera (Kurzweil, 1988). En *D. michuacanus* la secuencia sólo difiere de la anterior en que primero es evidente la antera y después el sépalo dorsal (Fig. 2C), como ocurre en *Dactylorhiza maculata* (L.) Soó (subtribu Orchidinae; Kurzweil, 1987b). Se han observado diferencias en la secuencia de aparición de los órganos florales aún entre especies cercanamente relacionadas. Pabón y González (2008) encontraron que la secuencia de iniciación de órganos es variable entre especies del género *Telipogon* Kunth. El labelo aparece ya sea antes o después de pétalos y la variación en el tiempo de iniciación de los órganos puede estar directamente relacionada con diferencias morfológicas de las flores en antesis. Por ejemplo, cuando los pétalos se desarrollan antes que el labelo, éste es similar en forma a los otros 2 pétalos, originando una corola polisimétrica, mientras que cuando es el labelo el que aparece antes, generalmente resulta una corola monosimétrica (Pabón y González, 2008). El desarrollo direccional (adaxial a abaxial) está relacionado con la adquisición y mantenimiento de la monosimetría (zigomorfía) de las flores (Endress, 1990, 1999), aunque Pabón y González (2008) observaron que en *Telipogon* las proporciones de los segmentos del perianto también pueden cambiar en etapas tardías de desarrollo, dando origen a una flor con perianto

polisimétrico (actinomórfico). En la mayoría de las orquídeas se define el color, la forma y el tamaño final de los órganos florales durante etapas tardías del desarrollo.

Ginostemio. El desarrollo del ginostemio en *D. michuacanus* es similar al que se registra para otros miembros de Cranichideae, incluso para *Prescottia plantaginea* Hook. (Cranichidinae) y *Cyclopogon* sp. (Spiranthinae; Kurzweil, 1988). En *P. plantaginea*, Kurzweil (1988) observó primordios de los 2 estambres laterales del verticilo interno, que luego constituyen los “dientes” laterales del clinandrio. Sin embargo, no existen indicios de estaminodios en *D. michuacanus* ni en *Cyclopogon* sp. En una revisión de la ontogenia floral de la familia Orchidaceae, Kurzweil (1998) enfatizó que en la tribu Cranichideae (como “subfamilia Spiranthoideae”, en parte), los estaminodios son muy reducidos o están ausentes. Otros autores (Szlachetko y Rutkowski, 2000; Rutkowski et al., 2008) suponen que los márgenes membranáceos del clinandrio de prácticamente todos los géneros de Spiranthinae representan estaminodios. Sin embargo, en este estudio, las observaciones en *D. michuacanus* no apoyan la naturaleza estaminodial del clinandrio, puesto que en ninguna fase del desarrollo se aprecian indicios de primordios de los estambres internos laterales similares a los que Kurzweil (1988) registró para *P. plantaginea*, así como por el hecho de que los márgenes membranáceos del clinandrio carecen de haces vasculares.

El estigma de *D. michuacanus* está formado solamente por la porción basal del ápice del carpelo medio, en contraste a lo reportado para *Spiranthes* sp. (Spiranthinae) por Rasmussen (1982) y para *Prescottia plantaginea* (Cranichidinae), *Cyclopogon* sp. *Sarcoglottis* sp. (Spiranthinae) y *Goodyera* sp. (Goodyerinae) por Kurzweil (1988, 1998); así como para otras orquídeas de las subfamilias Apostasioideae, Cyrtipedioidae, Epidendroideae y Orchidoideae, donde la superficie receptiva del estigma está constituida por parte de los ápices de los 3 carpelos, aunque el carpelo medio ocupa la mayor porción de la superficie receptiva (Kurzweil, 1998).

Szlachetko y Rutkowski (2000) malinterpretaron la estructura del estigma y del rostelo de las Orchidaceae. Para ellos, la zona receptiva de polen la constituyen los ápices de los carpelos laterales (*lateral stigma lobes*) mientras que la del carpelo medio (*median stigma lobe*) no es receptiva y corresponde enteramente al rostelo. Esta confusión se deriva probablemente de que esos autores adoptan la definición dada por Rasmussen (1982) para rostelo, quien lo redescubre como “el lóbulo medio del estigma”, en contraste con el significado original del término que sólo se refiere a la porción no receptiva derivada del carpelo medio (Richard, 1817; Kurzweil, 1987a, 1987b, 1998; Dressler, 1993). En sus estudios ontogenéticos, Kurzweil (1988,

1998) demuestra que en las orquídeas de las subtribus Cranichidinae y Spiranthinae que él analizó, la superficie receptiva (estigma) está constituida principalmente por la parte basal del ápice del carpelo medio. Las observaciones del presente estudio confirman que lo anterior también es el caso en *D. michuacanus*, donde los ápices de los carpelos laterales, fusionados congénitamente, solamente constituyen el reborde inferior del estigma, no presentando en la antesis las papilas que caracterizan la superficie receptiva propiamente dicha (Fig. 3J).

El remanente rostelar, que es angostamente triangular y tiene una longitud de aproximadamente la tercera parte del largo total del ginostemio, está casi completamente envainado por el viscidio (Figs. 1G, 2H). Las características morfológicas del viscidio de *D. michuacanus* corresponden con las del “tipo cojín” propuesto por Greenwood (1982): es envainante y con la superficie ventral adhesiva. Con respecto al mecanismo de desprendimiento del viscidio, Greenwood (1982) postuló la posible existencia de una línea de abscisión que permitiría la separación del viscidio y el remanente rostelar. Esta sugerencia la corroboran las observaciones de este estudio, que indican la existencia de una zona de células alrededor del remanente rostelar que en flores abiertas se observa degradada, aparentemente facilitando la separación (Fig. 3L).

Rasmussen (1982) observó que el viscidio en post-antesis de *Spiranthes spiralis* (Spiranthinae), en corte transversal, consta de 3 capas de células: una ubicada ventralmente que consiste en una sustancia viscosa derivada de células desintegradas; otra central, de células esclerenquimáticas, y otra más, dorsal, consistente en una epidermis formada por células muy grandes con paredes delgadas. La estructura del viscidio de *D. michuacanus* es similar en las células que se desintegran para producir la sustancia adhesiva ventral y en la epidermis dorsal, pero difiere en la posesión de una zona central de células colenquimáticas que corresponderían al remanente rostelar y en que no muestra células esclerosadas (Fig. 3H). En *Spiranthes* el viscidio no es envainante y por lo tanto no queda un remanente rostelar tras su remoción; en su lugar, todo el viscidio es removido, dejando una hendidura angosta en el ápice del rostelo (e.g. Szlachetko y Rutkowski, 2000: Fig. 309).

En las etapas iniciales de su diferenciación, las células que darán origen al adhesivo del viscidio en *D. michuacanus* están densamente agrupadas y posteriormente se van separando gradualmente al secretar sustancias hacia los espacios intercelulares (Figs. 3F-G). En la antesis las paredes de estas células han degenerado completamente y la sustancia emerge como una masa pegajosa (Fig. 3H). Las características histológicas y el desarrollo del viscidio

de *D. michuacanus* son similares a lo reportado por Yeung (1987) para *Epidendrum ibaguense* Kunth (subfamilia Epidendroideae).

Polinización. La adaptación morfológica de las flores a los polinizadores se considera un factor importante para explicar la diversidad y evolución floral (Darwin, 1862; van der Pijl y Dodson, 1966; Catling, 1983; Proctor et al., 1996; Benítez-Vieyra et al., 2006; Salazar et al., 2011). Las flores se adaptan a un polinizador mediante atributos que las hacen atractivas para el tipo particular de animal que las poliniza, incluyendo aspectos como coloración, morfología, producción de recompensas tróficas, aromas, etc. (Singer et al., 2006). En el caso de las orquídeas, existe en general una marcada sinorganización del perianto y los órganos sexuales, principalmente del labelo y el ginostemio, que resulta en mecanismos precisos para la transferencia de polen (Dressler, 1981, 1993; Endress, 1994; Proctor et al., 1996; Rudall y Bateman, 2002; Singer et al., 2006).

Diversos autores han considerado que en las Orchidaceae la variación de la estructura del rostelo es muy importante porque existe una relación directa entre la forma y posición del viscidio y el sitio del polinizador donde éste se adhiere (Johnson, 1997; Singer, 2002; Benítez-Vieyra et al., 2006). En la subtribu Spiranthinae, las flores son tubulares, ofrecen néctar como recompensa para los polinizadores y tanto su forma como la estructura del rostelo y el polinario (que incluye el viscidio) resultan en especificidad del mecanismo de polinización.

Como se mencionó antes, las flores de *D. michuacanus* son tubulares, su coloración va del blanco al amarillo verdoso, el perianto presenta nervaduras contrastantes y las flores producen un intenso perfume durante el día. A partir de estas características, Salazar (2003) sugirió que esta especie podría ser polinizada por abejorros (*Bombus* spp.) u otras abejas que recolectan néctar. La polinización natural de *D. michuacanus* por el abejorro *Bombus diligens* fue observada recientemente en el Estado de México (M. A. López Rosas, com. pers. 2008; Fig. 1K). El abejorro fue visto probando varias flores en la inflorescencia, introduciendo sus partes bucales en el tubo floral para alcanzar el néctar. Un polinario se adhirió a la superficie dorsal de la lengua, a semejanza de lo que se ha observado en algunas especies de *Spiranthes* polinizadas por *Bombus* spp. (e.g. *Spiranthes romanzoffiana* y *S. lacera*; Catling, 1983). La adhesión del polinario a la lengua del polinizador es favorecida por la forma alargada y angosta del viscidio (Fig. 1K). Algo similar parece suceder en *Dichromanthus aurantiacus* (Lex.) Salazar et Soto Arenas y *D. cinnabarinus* (Lex.) Garay. Aunque estas 2 especies son polinizadas por colibríes (Sarmiento y Romero, 2000; Hågsater et al., 2005; Salazar et al., 2011), el angosto viscidio tipo cojín

al parecer se adhiere a la superficie dorsal del pico del polinizador, a semejanza de lo que se observa en *Sacoila lanceolata* (Aubl.) Garay y *Stenorrhynchos speciosum* (Jacq.) Rich., también polinizadas por colibríes (Catling, 1987; Singer y Sazima, 2000; Siegel, 2011; Salazar et al., 2011). Es evidente que existe una cercana correspondencia entre la morfología de las partes florales y su papel funcional durante la polinización.

Los estudios ontogenéticos son una herramienta valiosa para entender la morfología (Rasmussen, 1986; Kurzweil, 1998, 2000; Kocyan y Endress, 2001; Box et al., 2008). En este trabajo, el estudio del desarrollo del ginostemio de *D. michuacanus* contribuyó a entender mejor como se originan sus diferentes componentes estructurales y constituye una base para futuros estudios comparativos de la morfología floral de la subtribu Spiranthinae. Dichos estudios se beneficiarían también de información sobre la polinización natural de las especies, lo cual ayudará a dilucidar el papel funcional de las estructuras florales.

Agradecimientos

A Marco A. López Rosas, por proporcionarnos información, material botánico y fotografías inéditas de la polinización de *Dichromanthus michuacanus*; a Berenit Mendoza Garfias, por su ayuda con la microscopía electrónica de barrido; a Miguel Vega, por las técnicas anatómicas y a Paula Rudall y un revisor anónimo, por las atinadas sugerencias al manuscrito. Coyolxauhqui Figueroa agradece al Posgrado en Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional Autónoma de México y al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología el apoyo financiero para estudios de doctorado (beca Núm. 164890).

Literatura citada

- Balogh, P. 1982. Generic redefinition in subtribe Spiranthinae (Orchidaceae). *American Journal of Botany* 69:1119-1132.
- Benítez-Vieyra, S., A. M. Medina, E. Glinos y A. A. Cocucci. 2006. Pollinator mediated selection on floral traits and size of floral display in *Cyclopogon elatus*, a sweat bee-pollinated orchid. *Functional Ecology* 20:948-957.
- Box, M. S., R. M. Bateman, B. J. Glover y P. J. Rudall. 2008. Floral ontogenetic evidence of repeated speciation via paedomorphosis in subtribe Orchidinae (Orchidaceae). *Botanical Journal of the Linnean Society* 157:429-454.
- Catling, P. M. 1983. Pollination of northeastern North American *Spiranthes* (Orchidaceae). *Canadian Journal of Botany* 61:1080-1093.
- Catling, P. M. 1987. Notes on the breeding Systems of *Sacoila lanceolata* (Aublet) Garay (Orchidaceae). *Annals of Missouri Botanical Garden* 74:58-68.
- Chase, M. W., K. M. Cameron, R. L. Barrett y J. V. Freudenstein. 2003. DNA data and Orchidaceae systematics: a new phylogenetic classification. In *Orchid Conservation*, K. W. Dixo, S. P. Kell, R. L. Barrett y P. J. Cribb (eds.). Natural History Publications (Borneo), Kota Kinabalu, Sabah. p. 69-89.
- Dannenbaum, C., M. Wolter y R. Schill. 1989. Stigma morphology of the orchids. *Botanische Jahrbücher für Systematik* 110:441-460.
- Darwin, C. 1862. On the various contrivances by which British and foreign orchids are fertilized. Murray, London. 365 p.
- Dressler, R. L. 1981. The orchids: Natural history and classification. Harvard University Press, Cambridge, Massachusetts. 332 p.
- Dressler, R. L. 1993. Phylogeny and classification of the orchid family. Dioscorides, Portland, Oregon. 314 p.
- Endress, P. K. 1990. Patterns of floral construction in ontogeny and phylogeny. *Biological Journal of the Linnean Society* 39:153-175.
- Endress, P. K. 1994. Diversity and evolutionary biology of tropical flowers. Cambridge University Press. 511 p.
- Endress, P. K. 1999. Symmetry in flowers: diversity and evolution. *International Journal of Plant Science* 160:S3-S23.
- Figueroa, C., G. A. Salazar, A. Zavaleta y M. Engleman. 2008. Root character evolution and systematics in Cranichidinae, Prescottiinae and Spiranthinae (Orchidaceae, Cranichideae). *Annals of Botany* 101:509-520.
- Freudenstein, J. V. 1991. A systematic study of endothelial thickenings in the Orchidaceae. *American Journal of Botany* 78:766-781.
- Hágsater, E., M. A. Soto, G. A. Salazar, R. M. Jiménez, M. R. López y R. L. Dressler. 2005. Las orquídeas de México. Instituto Chinoín. México, D.F. 304 p.
- Garay, L. A. 1982. A generic revision of the Spiranthinae. *Botanical Museum Leaflets Harvard University* 28:277-425.
- Greenwood, E. W. 1982. Tipos de viscidio en Spiranthinae. *Orquídea* 8:283-290.
- Johnson, S. D. 1997. Insect pollination and floral mechanisms in South African species of *Satyrium* (Orchidaceae). *Plant Systematics and Evolution* 204:195-206.
- Kocyan, A. y P. K. Endress. 2001. Floral structure and development of *Apostasia* and *Neuwiedia* (Apostasioideae) and their relationships to other orchids. *International Journal of Plant Science* 162:847-867.
- Kurzweil, H. 1987a. Developmental studies in orchid flowers I: epidendroid and vandoid species. *Nordic Journal of Botany* 7:427-442.
- Kurzweil, H. 1987b. Developmental studies in orchid flowers. II. Orchidoid species. *Nordic Journal of Botany* 7:443-451.
- Kurzweil, H. 1988. Developmental studies in orchid flowers.

- III. Neottiid species. *Nordic Journal of Botany* 4:1-5.
- Kurzweil, H. 1998. Floral ontogeny of orchids: a review. *Beiträge zur Biologie der Pflanzen* 71:45-100.
- Kurzweil, H. 2000. The value of early floral ontogeny on the systematics of Orchidaceae. *In* Monocots: systematics and evolution, K. L. Wilson y D. A. Morrison (eds.). CSIRO: Melbourne. p. 436-439.
- Pabón, N. y F. González. 2008. Floral ontogeny of *Telipogon* spp. (Orchidaceae) and insights on the perianth symmetry in the family. *International Journal of Plant Sciences* 169:1159-1173.
- Proctor, M., P. Yeo y A. Lack. 1996. The natural history of pollination. Timber Press, Portland, Oregon. 479 p.
- Rasmussen, F. N. 1982. The gynostemium of the neottiid orchids. *Opera Botanica* 65:1-96.
- Rasmussen, F. N. 1986. Ontogeny and phylogeny in orchidaceae. *Lindleyana* 1: 114-124.
- Richard, L. 1817. De orchideis Europaeis Annotationes. *Mémoires du Museum d'Histoire Naturelle Paris* 4:1-37.
- Rudall, P. J. y R. M. Bateman. 2002. Roles of synorganisation, zygomorphy and heterotopy in floral evolution: the gynostemium and labellum of orchids and other lilioid monocots. *Biological Reviews* 77:403-441.
- Rutkowski, P., D. L. Szlachetko y M. Górniak. 2008. Phylogeny and taxonomy of the subtribes Spiranthinae, Stenorrhynchidinae and Cyclopogoninae (Spirantheae, Orchidaceae) in Central and South America. *Wydawnictwo Uniwersytetu Gdańskiego, Gdansk*. 348 p.
- Salazar, G. A. 2003. Spiranthinae. *In* Pridgeon, A. M., P. J. Cribb, M. W. Chase y F. N. Rasmussen (eds.). *Genera Orchidacearum vol.3 Orchidoideae part 2, Vanilloideae*. Oxford University Press, New York. p. 164-278.
- Salazar, G. A., M. W. Chase, M. A. Soto y M. Ingrouille. 2003. Phylogenetics of Cranichideae with emphasis on Spiranthinae (Orchidaceae, Orchidoideae): evidence from plastid and nuclear DNA sequences. *American Journal of Botany* 90:777-795.
- Salazar, G. A., L. I. Cabrera, S. Madriñán y M. W. Chase. 2009. Phylogenetic relationships of Cranichidinae and Prescottiinae (Orchidaceae, Cranichideae) inferred from plastid and nuclear DNA sequences. *Annals of Botany* 104:403-416.
- Salazar, G. A., L. I. Cabrera y C. Figueroa. 2011. Molecular phylogenetics, floral convergence and systematics of *Dichromanthus* and *Stenorrhynchos* (Orchidaceae, Spiranthinae). *Botanical Journal of the Linnean Society*. 167:1-18.
- Sarmiento, M. y C. Romero. 2000. Orquídeas mexicanas. Banco Nacional de Obras y Servicios Públicos/ Miguel Ángel Porrúa, México, D.F.
- Sass, J. E. 1958. Botanical microtechnique, tercera edición. Iowa State College Press, Ames, Iowa. 228 p.
- Siegel, C. 2011. Orchids and hummingbirds: sex in the fast lane. *The Orchid Digest* 75:8-17.
- Singer, R. B. 2002. The pollination biology of *Sauroglossum elatum* Lindl. (Orchidaceae: Spiranthinae): moth-pollination and protandry in neotropical spiranthinae. *Botanical Journal of the Linnean Society* 138:9-16.
- Singer, R. B. y M. Sazima. 2000. The pollination of *Stenorrhynchos lanceolatus* (Aublet) L. C. Rich. (Orchidaceae: Spiranthinae) by hummingbirds in southeastern Brazil. *Plant Systematics and Evolution* 223:221-227.
- Singer, R. B., A. J. Marsaioli, A. Flach y M. G. Reis. 2006. The ecology and chemistry of pollination in Brazilian orchids: recent advances. *In* Floriculture, ornamental and plant biotechnology, vol. IV, J. da Silva (ed.). Global Science, Isleworth. Middlessex. p. 570-583.
- Schlechter, R. 1920. Versuch einer systematischen Neuordnung der Spiranthinae. *Beihefte zum Botanischen Centralblatt* 37:317-454.
- Szlachetko, D. L. 1995. *Systema orchidalium*. *Fragmenta Floristica et Geobotanica (Supplement)* 3:1-152.
- Szlachetko, D. L. y P. Rutkowski. 2000. Gynostemia orchidalium. I. Apostasiaceae, Cyrtipediaceae, Orchidaceae (Thelymitroideae, Orchidoideae, Tropidioideae, Spiranthoideae, Neottioideae, Vanilloideae). *Acta Botanica Fennica* 169:1-379.
- Van der Pijl, L. y C. H. Dodson. 1966. Orchid flowers: their pollination and evolution. University of Miami Press, Coral Gables, Florida. 404 p.
- Yeung, E. C. 1987. The development and structure of the viscidium in *Epidendrum ibaguense* H. B. K. (Orchidaceae). *Botanical Gazette* 148:149-155.