7557

UNIVERSIDAD DE COSTA RICA
FACULTAD DE CIENCIAS
ESCUELA DE BIOLOGIA

ESTUDIO MORFOLOGICO DEL DESARROLLO EMBRIONARIO EN *Cucurbita ficifolia* (CHIVERRE)

Benjamín Mora Gutiérrez

Tesis presentada para optar al título de
Licenciado en Biología

NOVIEMBRE – 1983

UNIVERSIDAD DE COSTA RICA

FACULTAD DE CIENCIAS

ESCUELA DE BIOLOGIA

tesis
7557 lej
+1 fotografía

ESTUDIO MORFOLOGICO DEL DESARROLLO EMBRIONARIO EN *Cucurbita ficifolia* (CHIVERRE)

Benjamín Mora Gutiérrez

Tesis presentada para optar al título de

Licenciado en Biología

NOVIEMBRE - 1983

ESTUDIO MORFOLOGICO DEL DESARROLLO EMBRIONARIO

EN *Cucurbita ficifolia* BOUCHE (CHIVERRE)

Benjamín Mora Gutiérrez

Tesis

Presentada a la Escuela de Biología como requisito parcial para optar al título de Licenciado en Biología.

Eugenia M Flores

Dra. Eugenia Flores
Universidad de Costa Rica — Director de Tesis

Dr. Luis Fournier
Universidad de Costa Rica — Miembro del Tribunal

Dr. Eduardo Jiménez
Universidad de Costa Rica — Miembro del Tribunal

María Isabel Morales Z.

M.Sc. María Isabel Morales
Universidad de Costa Rica — Miembro del Tribunal

R.B.

Dr. Ramiro Barrantes
Universidad de Costa Rica — Director Escuela de Biología

Benjamín Mora Gutiérrez — Sustentante

DEDICATORIA

A mis Padres

Quienes con su perseverancia,
cariño y esfuerzo hicieron
posible mi formación.

AGRADECIMIENTO

A la Dra. Eugenia Flores

Directora de tesis quien en todo momento me brindo el apoyo, estímulo intelectual y moral en la realización de este trabajo.

A mi amigo Fermín Suberos

Gracias por su continua colaboración en las labores de microtomía y fotografía y por su estímulo constante.

A los miembros del Tribunal

Por las valiosas observaciones a la hora de revisión.

INDICE

CONTENIDOS PAGINA

I Introducción 1

II Revisión bibliográfica 4

A. Ubicación taxonómica 4

B. Descripción de la especie 4

C. Estructura de la semilla 6

III Material y métodos 8

IV Resultados 10

A. Estructura floral placentación 10

B. Descripción de la semilla 11

C. Germinación de la semilla 13

C-1. Cambios externos 13

C-2. Cambios internos 18

C-2.1 Cotiledones 18

C-2.2 Radícula 24

C-2.3 Hipocotilo 25

C-2.4 Meristema apical 28

V Discusión 32

VI Literatura citada 39

INDICE DE FIGURAS

FIGURA		PAGINA
Figura 1.	Flor con cáliz y corola fusionados proximálmente	12
Figura 2.	Vista longitudinal de la flor estaminada	12
Figura 3.	Corte transversal de ovario de *Cucurbita ficifolia*	12
Figura 4.	Semilla negra en la que se observa algunas de sus estructuras	12
Figura 5.	Vista general de la semilla negra	14
Figura 6.	Vista general de la semilla blanca	14
Figura 7.	Sección transversal testa en las que se observa sus diferentes capas	14
Figura 8.	Corte paradermal de la zona interna de la testa	14
Figura 9.	Cotiledón cubierto por dos capas de endosperma	15
Figura 10.	Planta de *Cucurbita ficifolia* al quinto día después de la germinación	15
Figura 11.	Vista transversal del cotiledón	15
Figura 12.	Corte paradermal del parénquima cotiledonar	15
Figura 13.	Sección paradermal del cotiledón de semilla negra	17
Figura 14.	Semillas de chiverre 48 horas después de germinar	17
Figura 15.	Semillas de chiverre 72 horas después de haber sido colocadas a germinar	17
Figura 16.	Dibujo de semilla al quinto día de germinación	19

FIGURA PAGINA

Figura 17. Semilla al quinto día de germinación 19

Figura 18. Corte paradermal de cotiledón 19

Figura 19. Esquema de las trazas cotiledonares 20

Figura 20. Vista transversal del cotiledón 22

Figura 21. Corte transversal del cotiledón 22

Figura 22. Sección transversal del cotiledón 22

Figura 23. Corte paradermal del cotiledón 22

Figura 24. Vista transversal del cotiledón 26

Figura 25. Sección transversal del cotiledón 26

Figura 26. Vista transversal del cotiledón, en la que se observa tricomas diferenciados 26

Figura 27. Corte longitudinal de radícula 26

Figura 28. Corte transversal de la radícula 27

Figura 29. Sección transversal de la radícula 27

Figura 30. Sección transversal de la raíz 27

Figura 31. Vista longitudinal de la raíz 27

Figura 32. Corte longitudinal de la raíz 29

Figura 33. Vista transversal del hipocotilo 29

Figura 34. Corte longitudinal de radícula 29

Figura 35. Sección longitudinal del hipocotilo en la que se observa el pie en desarrollo 29

Figura 36. Sección transversal de cotiledones y del epicotilo 31

Figura 37. Vista longitudinal del epicotilo 31

RESUMEN

Cucurbita ficifolia, conocido como chiverre, es una de las cinco especies del género Cucurbita perteneciente a la familia Cucurbitaceae.

Al igual que la mayoría de los cultivos tropicales se conoce muy poco sobre su ciclo de vida. El presente trabajo tiene como objetivo principal el estudio de los cambios morfológicos que sufren las semillas negras y blancas durante la germinación hasta la aparición de la primera megáfila.

Para su realización se colecto semillas blancas y negras durante la época de cosecha. Las semillas se pusieron a germinar, tomando muestras cada 24 horas, éstas se fijaron en F.A.A. El material fijado se utilizó en el estudio de microscopía de luz y micoscopio de barrido.

Cucurbita ficifolia es una especie de una germinación rápida ya que a los siete días se han producido los cambios morfológicos necesarios para que la plántula pueda autoabastecerse.

Con las observaciones hechas se logra determinar que la especie presenta un gineceo tricarpelar y que su ovario muestra una placentación axilar. También se determinó que las semillas negras en su borde presentan ornamentaciones prominentes, aspecto que no se presenta en el borde de las blancas.

Las plántulas de las semillas negras se pueden diferenciar de las de semillas blancas, en que estas últimas muestran un patrón constante de emergencia de raíces laterales mientras que en las blancas las raíces salen en forma irregular. Estas características morfológicas se pueden utilizar en su identificación.

I INTRODUCCION

Costa Rica, país eminentemente agrícola, ha estado orientado hacia pocos cultivos intensivos, a pesar de que tiene una flora tropical muy diversa y ofrece excelentes condiciones para aumentar y diversificar el número de plantas cultivadas, como se ha podido observar en pequeña escala.

Con base en los nuevos lineamientos de planificación nacional, orientados a la mejor y mayor utilización de los recursos, se intensifica la búsqueda de nuevos cultivos y se realizan investigaciones que pretenden dilucidar las fases del ciclo de vida de aquellas especies de uso agrícola.

La familia Cucurbitaceae comprende una amplia gama de especies cultivables. *Citrillus vulgaris* (sandía), *Cucurbita ficifolia* (chiverre), *Cucurbita pepo* (ayote), *Cucurbita maxima* (zapallo), *Cucumis melo* (melón), *Cucumis sativus* (pepino), *Sechium edule* (chayote), *Polakowskia tacaco* (tacaco), son especies tradicionales en la dieta del costarricense, como fruta fresca o verdura.

El cultivo de *Cucurbita ficifolia* es, hasta hoy, una actividad agrícola secundaria aunque con posibilidades de expansión. En Centro América se le conoce con el nombre de chiverre o chilacayote; en América del Sur se le denomina lacayote y en lugares como la India, en donde es una especie introducida, se le atribuye el nombre de calabaza de malabar (León, 1968; Arora y Sing, 1971).

Cucurbita ficifolia crece bien en zonas altas y frías. En nuestro país la mayor parte de esta actividad agrícola se localiza en diversas regiones de Cartago (faldas del Volcán Irazú, y Paraíso), Cerro de la Muerte, Santa

María de Dota y Alfaro Ruíz.

El fruto tiene diferentes usos. El abundante mesocarpo y el endocarpo del fruto maduro se usan en la elaboración de postre casero, o miel de chiverre. La pulpa (meso y endocarpo) podría ser industrializada en la forma tradicional o como dulce cristalizado.

El fruto tierno de esta especie tiene las cualidades de verdura típica de *Cucurbita pepo* (ayote).

Los cotiledones de la semilla del chiverre se emplean como materia prima en la elaboración de una salsa condimentadora de amplia aceptación, que recibe el nombre de alguashtle en El Salvador. Su contenido oleoso permite su utilización en confitería.

La testa de la semilla es de alto contenido proteico por lo que podría emplearse en la fabricación de concentrados para animales (Lott y Vollmer, 1975).

El presente trabajo tuvo como objetivo principal el describir la anatomía de la semilla y los cambios que ocurren durante el proceso de germinación.

Debido al escaso conocimiento que se tiene de las plantas tropicales y en particular de *Cucurbita ficifolia* se consideró lo siguiente:

a. Determinar y evaluar las características morfológicas que presenta la semilla durante el período de germinación.

b. Observar y analizar el proceso de crecimiento y diferenciación que tiene lugar en la etapa de embrión a plántula.

c. Determinar si el desarrollo embrionario de los dos tipos de semillas

identificados de *Cucurbita ficifolia* muestran diferencias significativas.

II REVISION DE LITERATURA

A. Ubicación taxonómica

Cucurbita ficifolia pertenece a la familia Cucurbitaceae, tribu Cucumerinae (Barroso, 1940). Las Cucurbitáceas son, en general plantas herbáceas, rastreras o trepadoras que presentan zarcillos u otras adaptaciones morfológicas que les permiten apoyo. Muy pocas de ellas tienden a ser lignificadas, pero todas tienen un rápido crecimiento vegetativo. Sus flores son imperfectas, de cáliz verdoso y estrellado, corola polipétala campanulada o simpétala. La flor pistilada tiene un gineceo de ovario ínfero. Hay divergencia respecto a la placentación; ésta ha sido descrita como central o parietal (Metcalfe, Chalk, 1965; Hutchinson, 1959).

El fruto característico es el pepónide. Este es una baya grande de exocarpo duro en la madurez. Las semillas son aplanadas, ricas en aceites, con poco o ningún endosperma y cotiledones muy desarrollados (León, 1968; Barroso, 1940).

B. Descripción de la especie

Cucurbita ficifolia es una de las 850 especies descritas de las familia Cucurbitaceae y una de las cinco especies americanas del género (*C. moschatu*, *C. pepo*, *C. mixto*, *C. maxima* y *C. ficifolia*). Se encuentra distribuida en altitudes mayores a los 1.400 mts de las zonas tropicales (Arora y Sing, 1973; Bayley, 1949; Weir, Stocking y Barbon, 1979; Hard y Thomas, 1971).

Esta especie tiene su centro de origen en las tierras altas de México y Centro América en donde se conoce con el nombre de chiverre o chilacayote y presenta más variedades (León, 1968). La expansión hacia América del Sur pudo ocurrir en épocas prehistóricas aunque los nombres suramericanos como "Victoria" en Colombia, "Tambo" en Ecuador y "lacayote" en Perú, parecen indicar una introducción más reciente (León, 1968; Arora y Sing, 1973; Barroso, 1949).

El chiverre es una planta perenne con largos tallos vigorosos y muy pubescentes. Los tricomas pueden ser unicelulares, glandulares o no glandulares. Las hojas son acorazonadas y se dividen en varios lóbulos, redondos o de bordes profundos finamente aserrados. El cáliz de la flor es verde y la corola es de color amarillo pálido; los pétalos son grandes y orbicularmente lobulados. El gineceo consta de cuatro carpelos y la placentación es parietal según Hutchison (1959); Dubrabec (1974) informa que es central-marginal. Los estigmas son cortos, lisos y amarillentos (Dubrabec, 1974). Los estambres libres o unidos de varias maneras; la antera es unilocular (Hutchison, 1959). El fruto es brillante, elipsoidal o globoso, de superficie irregular; la longitud promedio del mismo es de 20 a 25 cm. Esta especie no presenta la gran variabilidad de forma característica de otras especies del género Cucurbita. El color externo del fruto es blanco o amarillento, con manchas verdes dispuestas longitudinalmente en forma irregular. El endocarpo y el mesocarpo son suculentos, fibrosos, de color blanco o casi transparente a diferencia de las otras especies del género en

que éstos son amarillos. Las semillas son elipsoides, aplanadas y presentan una testa blanca o negra. Tienen el margen liso y son del mismo color que la parte central (León, 1968).

C. Estructura de la semilla

El tegumento externo de la semilla en cucurbitáceas es bastante duro y según Singh y Dathan (1967, 1972) se diferencia en cinco capas: epidermis, hipodermis, esderénquima, aerénquima y clorénquima. Según estos autores, el tegumento degenera después de la fertilización. En la testa de *Cucurbita ficifolia* existen sólo cuatro capas celulares. Además, la epidermis puede ser homocelular o heterocelular con deposiciones de celulosa y la hipodermis y el aerénquima están lignificados. El número de capas celulares que componen la hipodermis varía según la especie, mientras que la zona de aerénquima, en general, está compuesta de 1 a 3 capas de células. La zona de esclerénquima se compone de astroesclereidas.

Pueden encontrarse restos comprimidos de perisperma y una o dos capas de endosperma cubriendo un largo embrión espatulado, de grandes cotiledones; éstos son ricos en carbohidratos, lípidos y proteínas (Singh y Dathan, 1965, 1967; Esau, 1977).

D. Cambios durante la germinación

No se conoce bien el proceso de germinación en la especie. La mayor parte de los estudios sobre esta parte del ciclo de vida se realizó en *Cucumis sativus* y *Cucurbita maxima* (Lott y Vollmer, 1970a, 1979a, 1979b; Singh y Dathan, 1965).

Los cotiledones de las cucurbitáceas presentan mucho parénquima de almacenamiento. Este tejido contiene lípidos, proteínas y carbohidratos (Lott y Vollmer, 1970b, 1970c). Una vez que se inicia la imbibición, se movilizan los materiales almacenados, se libera energía y comienza el proceso de germinación. Como consecuencia de lo anterior, en el parénquima cotiledonar se produce una alta diferenciación mitocondrial en los primeros días de la germinación. Hacia el cuarto día, se produce la diferenciación de cloroplastos a partir de protoplastidios. Los cotiledones aumentan en volumen y adoptan un color verde (Lott y Vollmer, 1970a, 1972).

La radícula se desarrolla desde el primer día; al cuarto día hay ya un sistema radical desarrollado y se ha diferenciado un hipocotilo de unos 5 cm de grosor. En el séptimo día se observa una plántula bien diferenciada (Lott y Vollmer, 1970).

III MATERIAL Y METODOS

El trabajo se realizó en el Instituto Tecnológico de Costa Rica y en la Escuela de Biología de la Universidad de Costa Rica.

Las semillas se obtuvieron de frutos maduros colectados durante la época de cosecha en los meses de marzo y abril, en las zonas de Cartago y Zarcero. Estas fueron colocadas en hornos a una temperatura aproximada de 26º C durante un período de 5 a 6 días para eliminar el exceso de humedad. Luego se procedió a colocar 60 semillas de cada tipo en bandejas con papel húmedo. Se tomó 5 semillas de ambos tipos cada 24 horas durante diez días. Se fijó las muestras en F. A. A. (Johansen, 1940).

Una parte del material se usó para microscopía de luz y otra para microscopía electrónica. Se hicieron secciones de testa, cotiledón, radícula, hipocotilo y epicotilo. Para tal efecto, se deshidrató usando una serie ascendente de alcohol butílico terciario, (Jensen, 1962); se infiltró en parafina y se seccionó, transversal, longitudinal o paradermalmente a 10 ó 12 um de grosor. Se efectuó la tinción utilizando la técnica de Sharman (1943).

Para el estudio con microscopía electrónica se fijó el material en glutaraldehido al 4% en un amortiguador de cacodilato de sodio y HCL 0.05M, pH 7, durante 12 horas, a 23° C. Después se deshidrató mediante una serie de alcohol butílico terciario y se transfirió a una solución de acetato y amilo y etanol absoluto y luego a acetato de amilo puro. Se sonicó durante 2 ó 3 segundos empleando un aparato Sharp UT-52 para eliminar impurezas y se llevó hasta el punto de secado crítico con CO_2 en una secadora Hitachi

HCP-1. Se montaron los cortes en soportes de aluminio, empleando una doble superficie adhesiva y pintura conductora de plata y se transfirió a un cobertor iónico EIKO modelo IB-3 donde se cubrió con una película de oro. Este material se utilizó para realizar observaciones en el microscopio electrónico de rastreo Hitachi.

Se realizaron cortes transversales de la testa de semillas frecas de ambos tipos y se tiñeron con floruoglucinol para determinar la presencia o ausencia de lignina en la pared celular. Las secciones paradermales de las capas celulares que cubren los cotiledones se tiñeron con lugol para diferenciar el perisperma del endosperma.

V RESULTADOS

A. Estructura floral y placentación

Cucurbita ficifolia es una especie monoica, con flores estereomorfas, solitarias, axilares y pubescentes, con tricomas unicelulares y multicelulares de extremos agudos. Estos están distribuidos principalmente en la superficie abaxial, mientras que en la adaxial se encuentra un menor número, pero su tamaño es mayor. En algunos casos presentan extremos romos o bifurcados. Las flores estaminadas miden como promedio 90 mm y las pistiladas hasta 95 mm de longitud.

Las flores estaminadas presentan un cáliz con 5 sépalos verdes, pequeños, con una vena media, unidos en la base a la corola. Los pétalos, alternos a los sépalos, son de color verde amarillento en la parte inferior y amarillo intenso en la parte superior. Están en número de 5, son imbrincados y unidos en la base. Cada pétalo presenta una vena media y dos laterales que corren axialmente y se ramifican en venas secundarias y terciarias (Fig. 1). Los estambres son de color amarillo, con filamentos fusionados en su extremo distal y anteras alargadas y retorcidas en forma espiralada, amarillas y glabras (Fig. 2). El polen es esférico con ornamentaciones agudas.

Las flores pistiladas tienen 5 sépalos libres y las piezas de la corola son muy semejantes en forma y color a las de las flores estaminadas. El gineceo es tricarpelar, de ovario ínfero, con dos lóculos en cada carpelo. La placentación es axilar aunque los carpelos están unidos en el centro ocurre eventualmente un rompimiento rexígeno que

da la apariencia de una placentación parietal. Los rudimentos seminales son largos, angostos anátropos (Fig. 3). El tegumento externo presenta un crecimiento diferencial en uno de los lados. El estilo es grueso, muy corto; el estigma es suculento y se divide en 3 partes. El estilo y el estigma son de color amarillo pálido, mientras que el ovario es de color verde.

B. Descripción de la semilla

El chiverre posee dos tipos de semillas, negras y blancas. Ambas son aplanadas y largas, con una longitud aproximada de 20 mm y un ancho de 11 mm. El micropilo se encuentra cerca del hilo, a pocos mm de distancia (Fig. 4). Las semillas blancas muestran un borde prominente, de color diferente al resto de la testa. En este borde se observan estrías poco visibles (Fig. 5); cerca de él sobresale un ribete de color crema. En las semillas negras, el ribete es menos conspicuo, pero las estrías son más marcadas (Fig. 6).

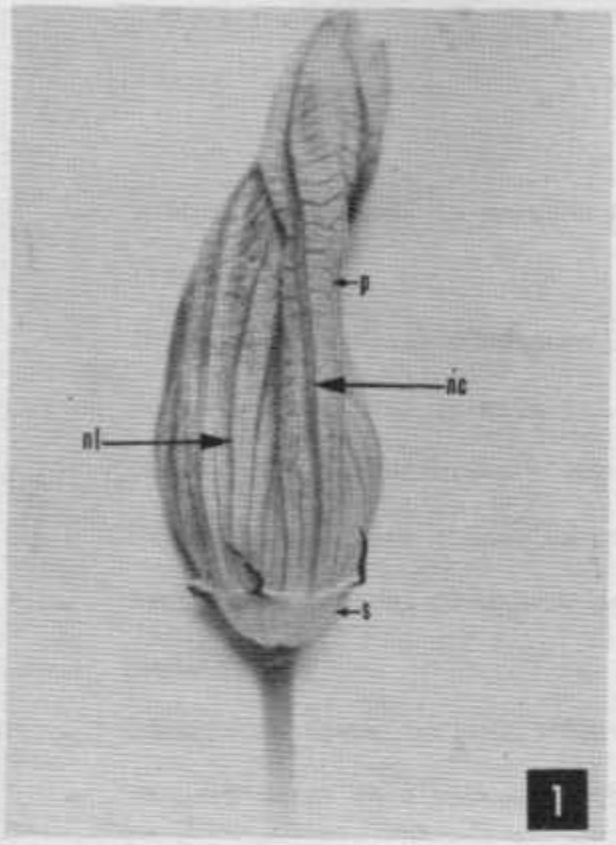
La testa de esta semilla es brillante. Vista en sección transversal, la porción externa está compuesta de células compactas y protegidas por una capa continua de color marrón y apariencia cerosa. Contiguo a ella, aparecen tres zonas, dos de las cuales muestran lignificación al teñirse con fluoroglucinol. La zona inmediata a la epidermis tiene un grosor de 3 a 5 capas de células pequeñas, de paredes gruesas, con gran cantidad de puntuaciones simples. En seguida se localiza una capa de células pétreas grandes con una pared muy gruesa (Fig. 7). En la parte más interna se observa una zona compuesta por dos filas de células

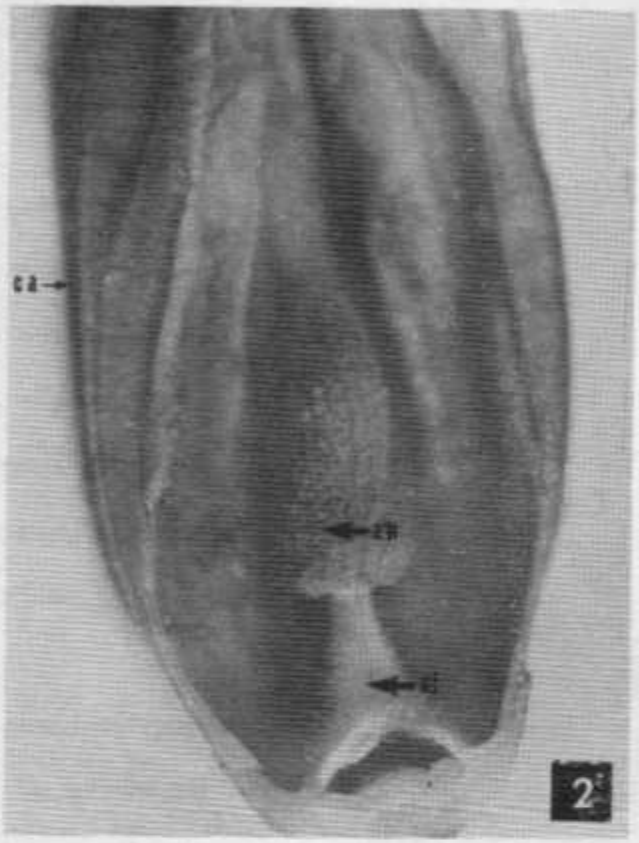
Figura 1. Flor con cáliz y corola fusionados proximálmente. s: sépalos fusionados, p: pétalo, nc: nervadura central, nl: nervadura lateral.

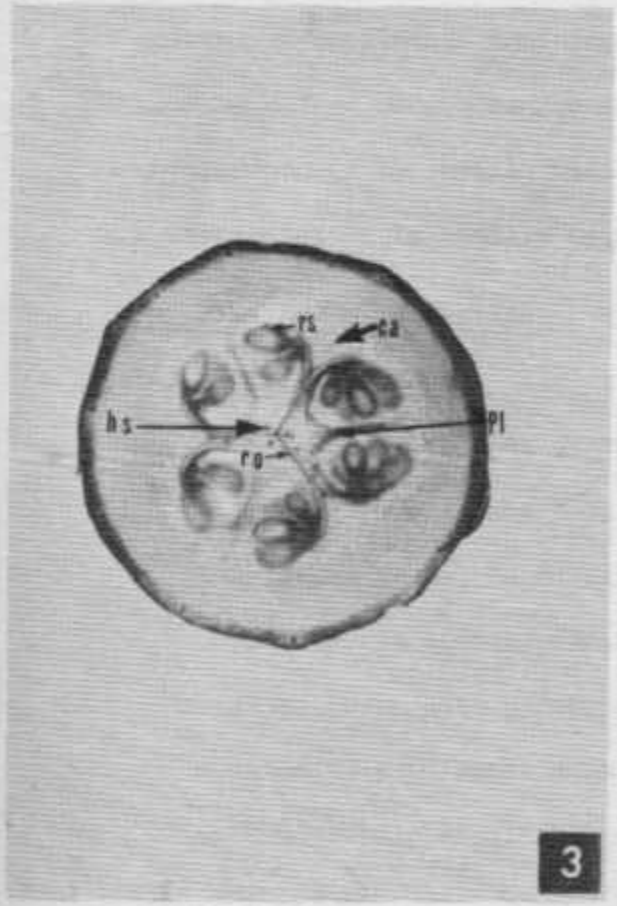
Figura 2. Vista longitudinal de la flor estaminada. ca: cáliz, uf: unión del filamento, an: anteras fusionadas.

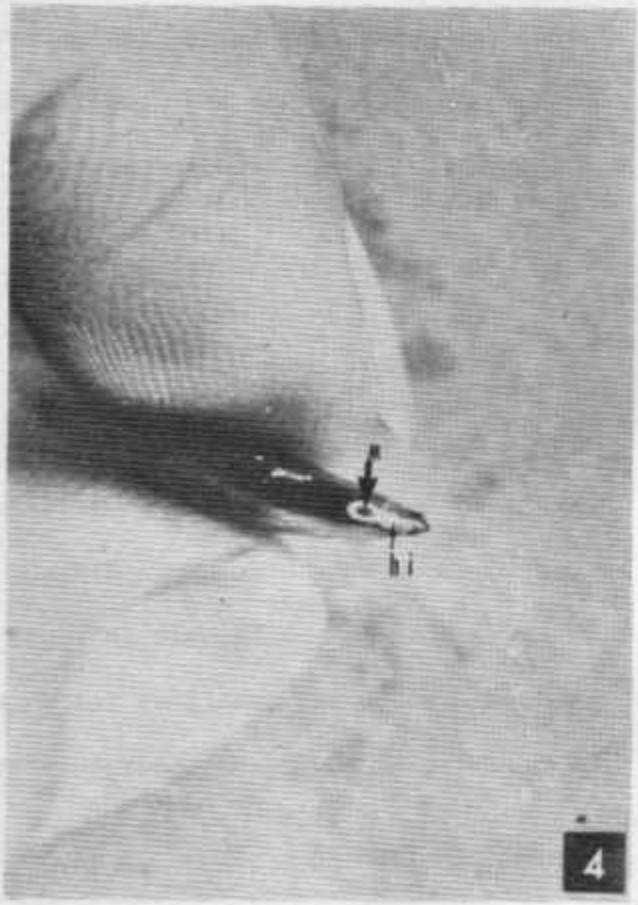
Figura 3. Corte transversal de ovario en *Cucurbita ficifolia*. pl: placenta, rs: rudimento seminal: ro: rompimiento rexígeno, hz: haz vascular resultado de la unión de dos haces de carpelos diferentes, ca: carpelo.

Figura 4. Semilla negra en la que se observa algunas de sus estructuras. m: micrópilo, hi: hilo.


p
nc
nl
s
1


ca
2


rs
ca
hs
pl
ro
3


hi
4

bastante pequeñas, de paredes delgadas con puntuaciones simples (Fig. 8).

Interna a la testa, cubriendo los cotiledones, se aprecian dos capas delgadas, carentes de material de reserva (Fig. 9). Se realizó la prueba correspondiente con lugol para detectar presencia o ausencia de perisperma y se obtuvo un resultado negativo. Debe entonces interpretarse que el remanente de tejido presente corresponde a endosperma.

El embrión tiene dos cotiledones grandes, que contienen gran cantidad de parénquima de almacenamiento. La nervadura es reticulada (Fig. 10). Sólo la cara adaxial muestra ondulaciones (Fig. 11). El eje embrional muestra un prominente meristema radicular; por el contrario, el meristema apical es moderadamente desarrollado. Las células del parénquima cotiledonar de la semilla blanca presentan paredes más gruesas que sus equivalentes en la semilla negra (Fig. 12, 13).

C. Germinación de la semilla

C-1. Cambios externos

Pocas horas después de iniciarse el proceso de imbibición el micropilo se ensancha y la cubierta seminal se vuelve resbaladiza. A las 48 horas, la semilla aumentó su volumen y se observó que la radícula ejerce presión sobre el micropilo y el hilo (Fig. 14). En un alto porcentaje de las semillas, la radícula emerge entre 48 y 60 horas y la testa se rompe en la región del hilo y el micropilo (Fig. 14).

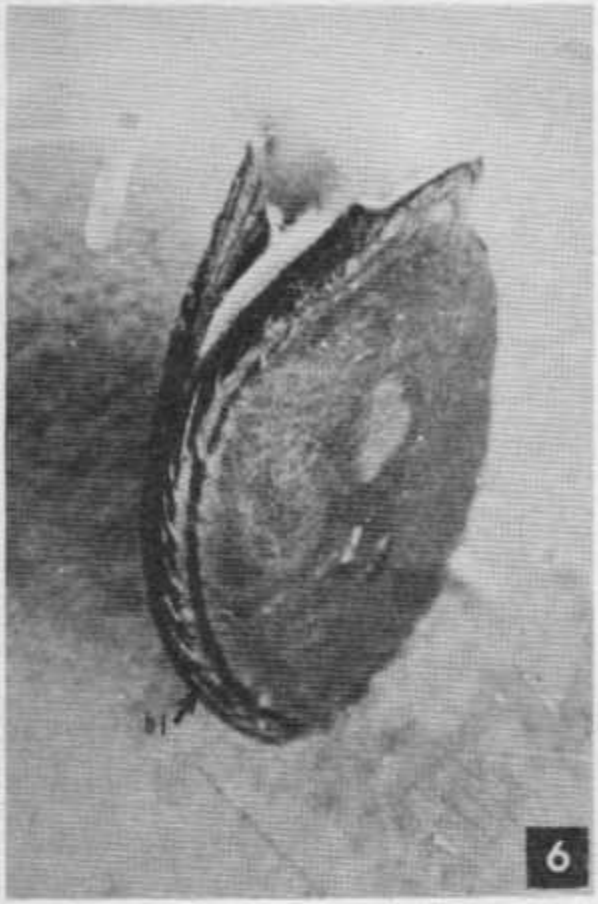
Figura 5. Vista general de la semilla blanca. rb: borde liso

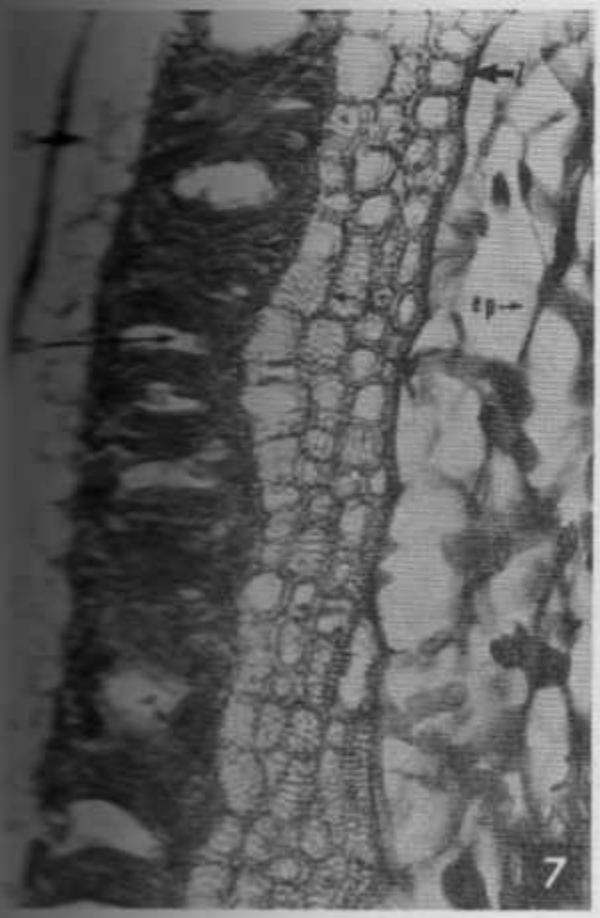
Figura 6. Vista general de la semilla negra. bl: borde con ornamentaciones

Figura 7. Sección transversal testa en las que se observa sus diferentes capas (732x). ep: epidermis, z: zona subepidérmica, ps: puntuaciones simples, ce: capas de esclereidas, zt: zona interna de la testa.

Figura 8. Corte paradermal de la zona interna de la testa (10600x) pl: pared lignificada, ps: puntuaciones simples.

5


6


7

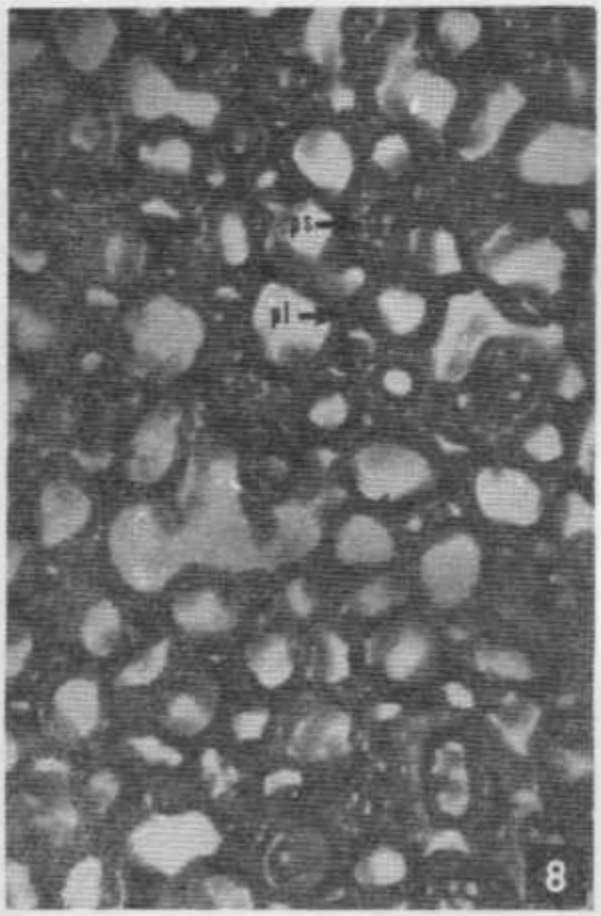
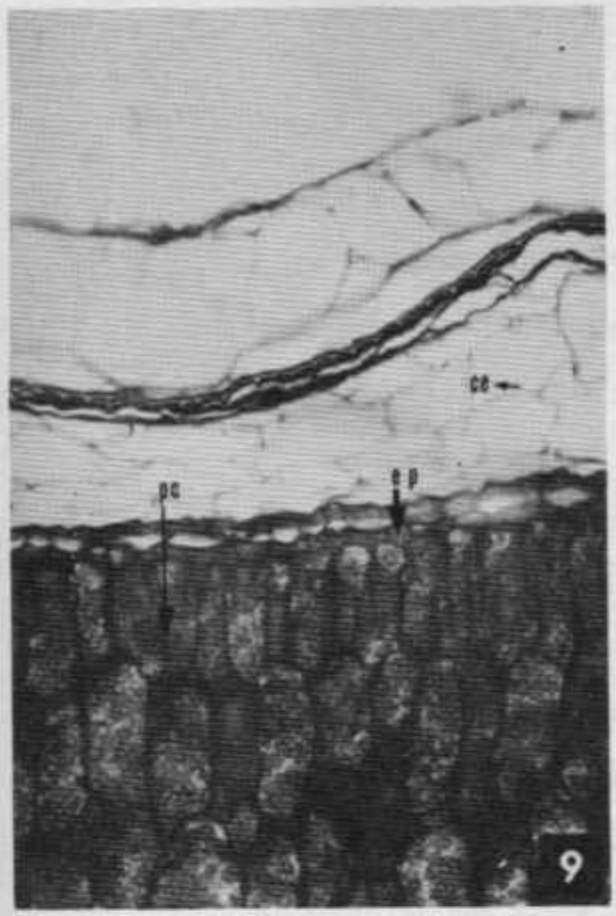

8

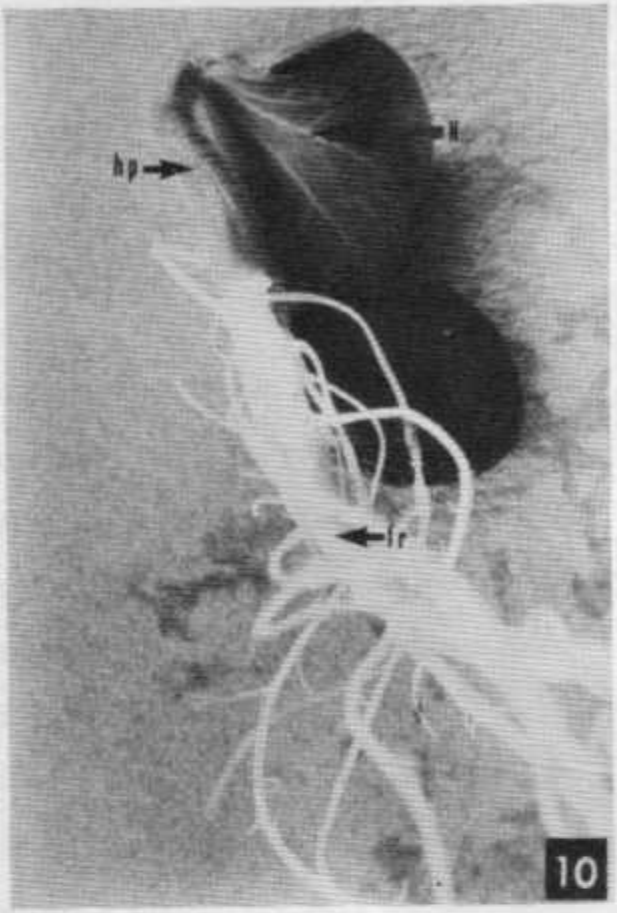
Figura 9. Cotiledón cubierto por dos capas de endosperma (858x). ep: epidermis, ce: capa de endosperma, pc: parénquima cotiledonar.

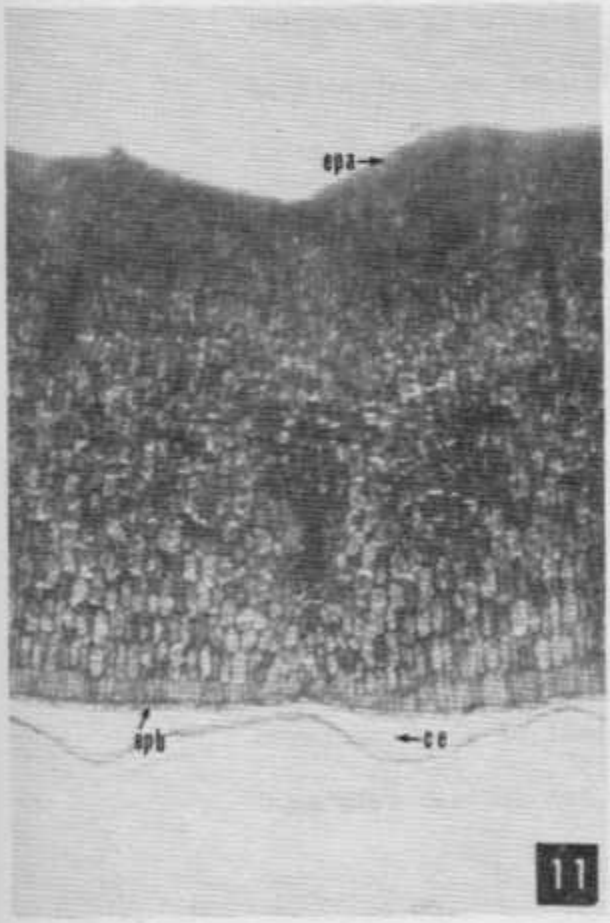
Figura 10. Plántula de *Cucurbita ficifolia* al quinto día después de la germinación. n: nervadura reticulada, hp: hipocotilo, fr: sistema radical desarrollado.

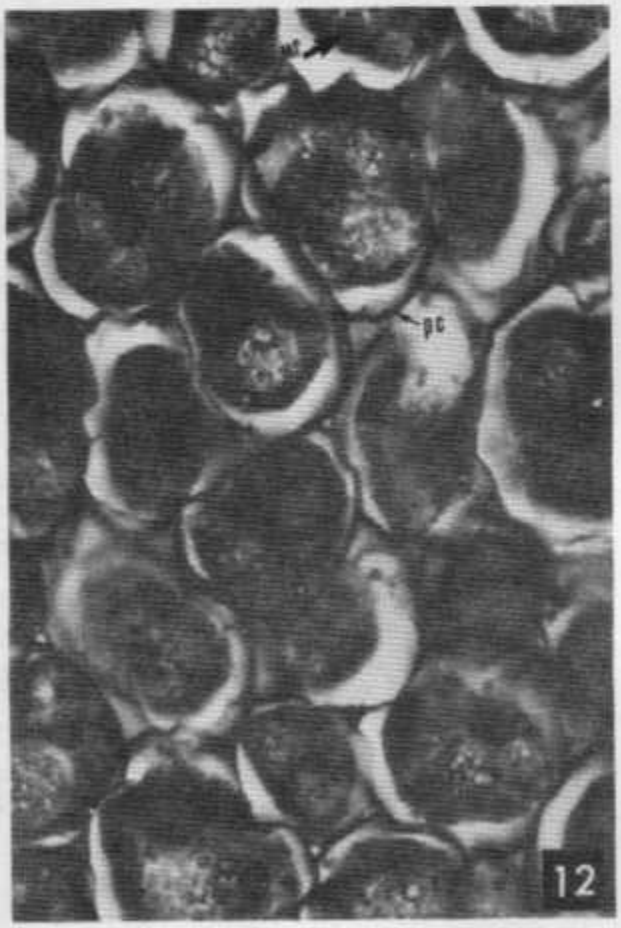
Figura 11. Vista transversal del cotiledón (193x). epa: epidermis adaxial, epb: epidermis abaxial, ce: capas de endospermo.

Figura 12. Corte paradermal del parénquima cotiledonar (10600x). pc: pared celular de semilla blanca, mr: material de reserva


ce
pc
ep
9


hp
N
fr
10


epa
epb
ce
11


pc
12

A las 72 horas la radícula es perfectamente observable y tiene numerosos pelos radicales.

Al cuarto día, la raíz principal muestra un activo crecimiento y alcanza una longitud aproximada de 65 mm y se ha iniciado la formación de raíces laterales (Fig. 15). Estas parecen emerger en grupos. En las semillas negras presentan un patrón más definido que las semillas blancas. En estas últimas las raíces se originan cerca del meristemo radical.

A las 72 horas, en la parte proximal de la radícula que se une al hipocotilo, se inicia la diferenciación de una prolongación hipocotilar que sirve de apoyo a los cotiledones cuando éstos emergen de la testa al erguirse el hipocotilo (Fig. 16, 17). Esta estructura completa su desarrollo hacia el quinto día y contribuye a que la testa se rasgue por los bordes. También incluye ya expansión de la lámina foliar de los cotiledones. En esta etapa, la base de los cotiledones muestran un color verde pálido y la nervadura de los mismos está ya bien definida. El hipocotilo inicia un acelerado alargamiento (Fig. 17).

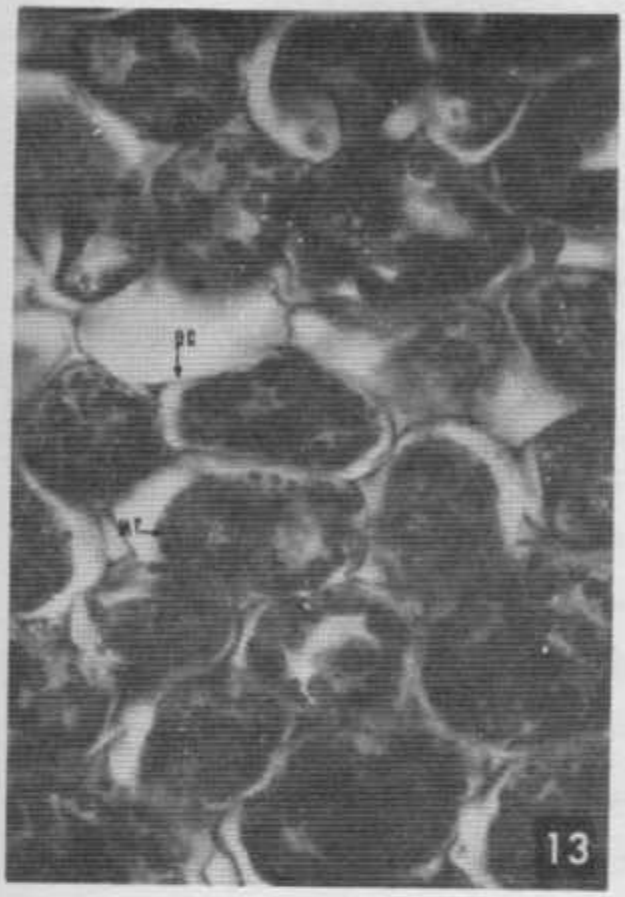
Los cotiledones emergen de la testa y en el séptimo día se observa toda la plántula fuera de la semilla (Fig. 10). El hipocotilo es erecto y muy alargado en su extremo distal. Los cotiledones son de color verde oscuro y muestran un sustancial crecimiento de la lámina foliar.

Diez días después del inicio de la germinación, se aprecia aún,

Figura 13. Sección paradermal del cotiledón de semilla negra (10600x). pc: pared celular, mr: material de reserva.

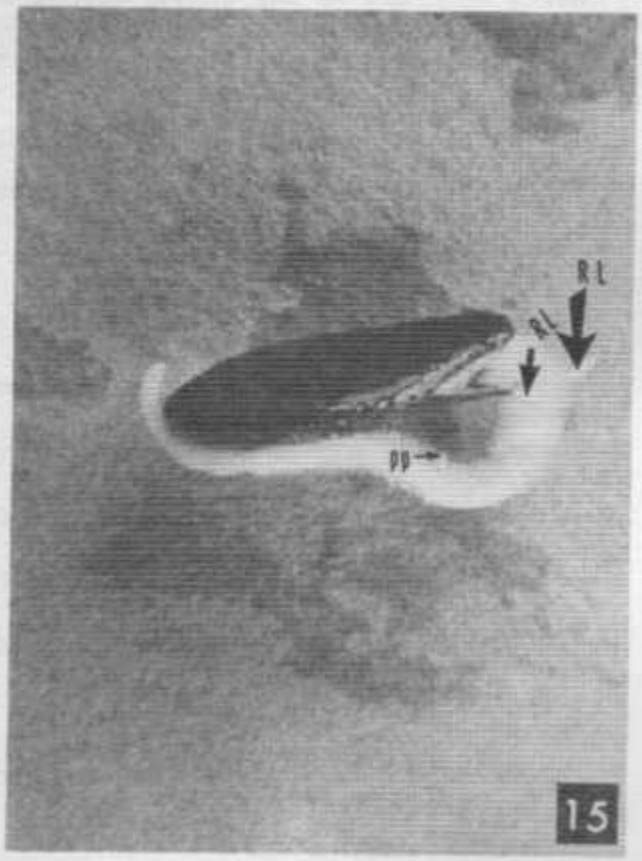
Figura 14. Semillas de chiverre 48 horas después de germinar. hi: hilo, m: micrópilo, r: radícula.

Figura 15. Semillas de chiverre 72 horas después de haber sido colocadas a germinar. t: testa, r: radícula, pe: pie: rl: raíz lateral, pp: pelos epidérmicos.


pc
wr
13

14

15


RL
RL
pp
15

el aumento de tamaño en los cotiledones y del hipocotilo. En esta etapa se aprecia el primodio de la primera megafila.

C-2. Cambios internos

C-2.1 Cotiledones

El cotiledón tiene una nervadura reticulada. Al realizar cortes paradermales y transversales se observan venas compuestas por células procambiales largas y angostas, ricas en material de reserva, principalmente almidón (Fig. 18). Los haces vasculares del cotiledón se originan de los seis haces del hipocotilo. De los haces 1 y 2 salen trazas que darán origen al haz A (Fig. 19). De los haces 2 y 3 salen sendas trazas que se fusionan y dan origen al haz 4. Este constituye la vena media del cotiledón.

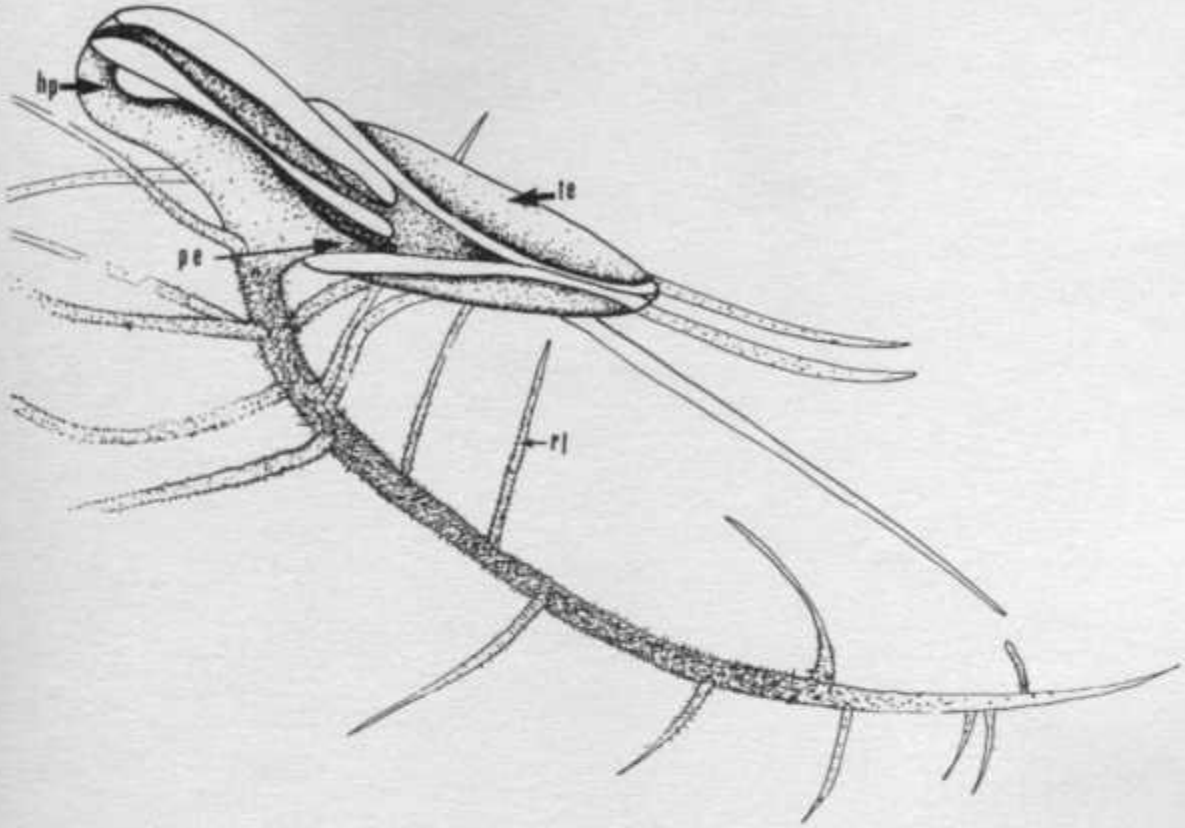
Los haces hipocotilares 3 y 4 dan origen a las trazas que se fusionan formando el haz B (Fig. 19). Los haces A y B continúan su recorrido vertical dentro del cotiledón y rápidamente se dividen formando 2 haces menores. Los haces hipocotilares 1 y 4 dan origen a trazas menores que también se dirigen hacia el cotiledón (Fig. 19). Las ramificaciones de los 7 haces mayores de cada cotiledón forman luego el retículo de la lámina.

La epidermis adaxial del cotiledón es unicelular y está compuesta por células pequeñas y homogéneas. Esta super-

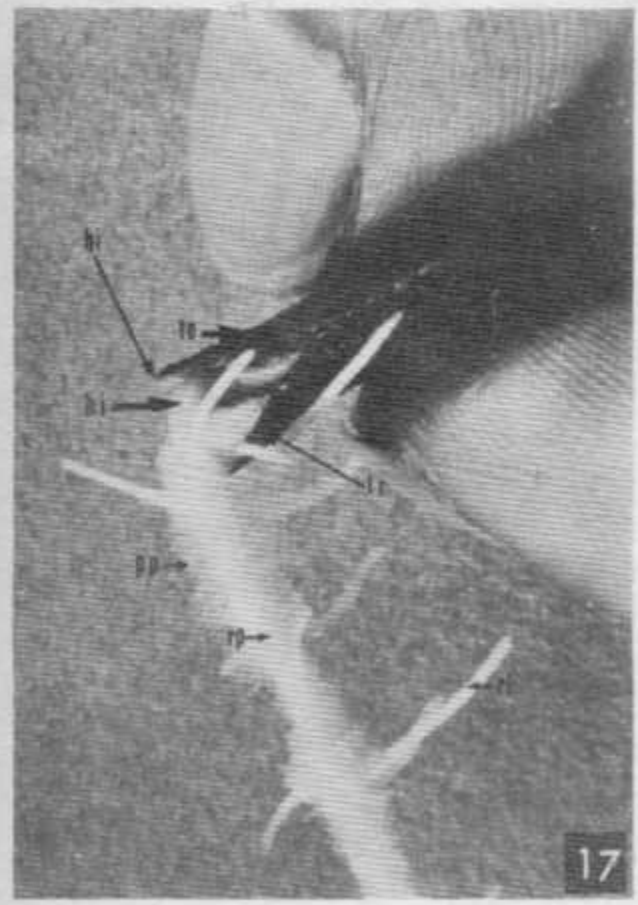
Figura 16. Dibujo de semilla al quinto día de germinación. te: testa, hp: hipocotilo, pe: pie, rl: raíz lateral

Figura 17. Semilla al quinto día de germinación. te: testa, tr: testa rota, hi: hilo, hp: hipocotilo, rp: raíz principal, rl: raíz lateral, pp: pelos radicales.

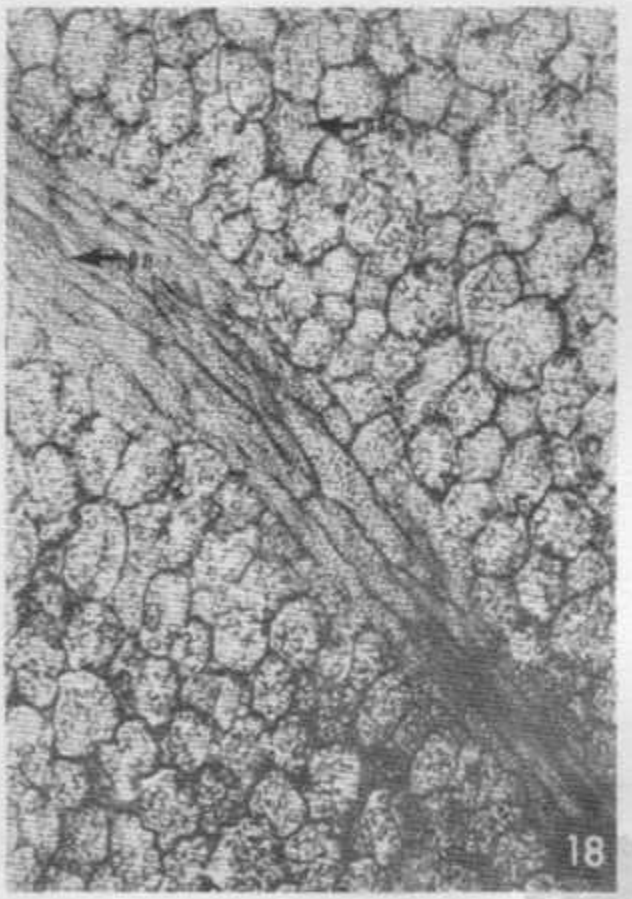
Figura 18. Corte paradermal de cotiledón (858x). pa: parénquima cotiledonar, pn: parénquima de la nervadura sin diferenciar.



16



17



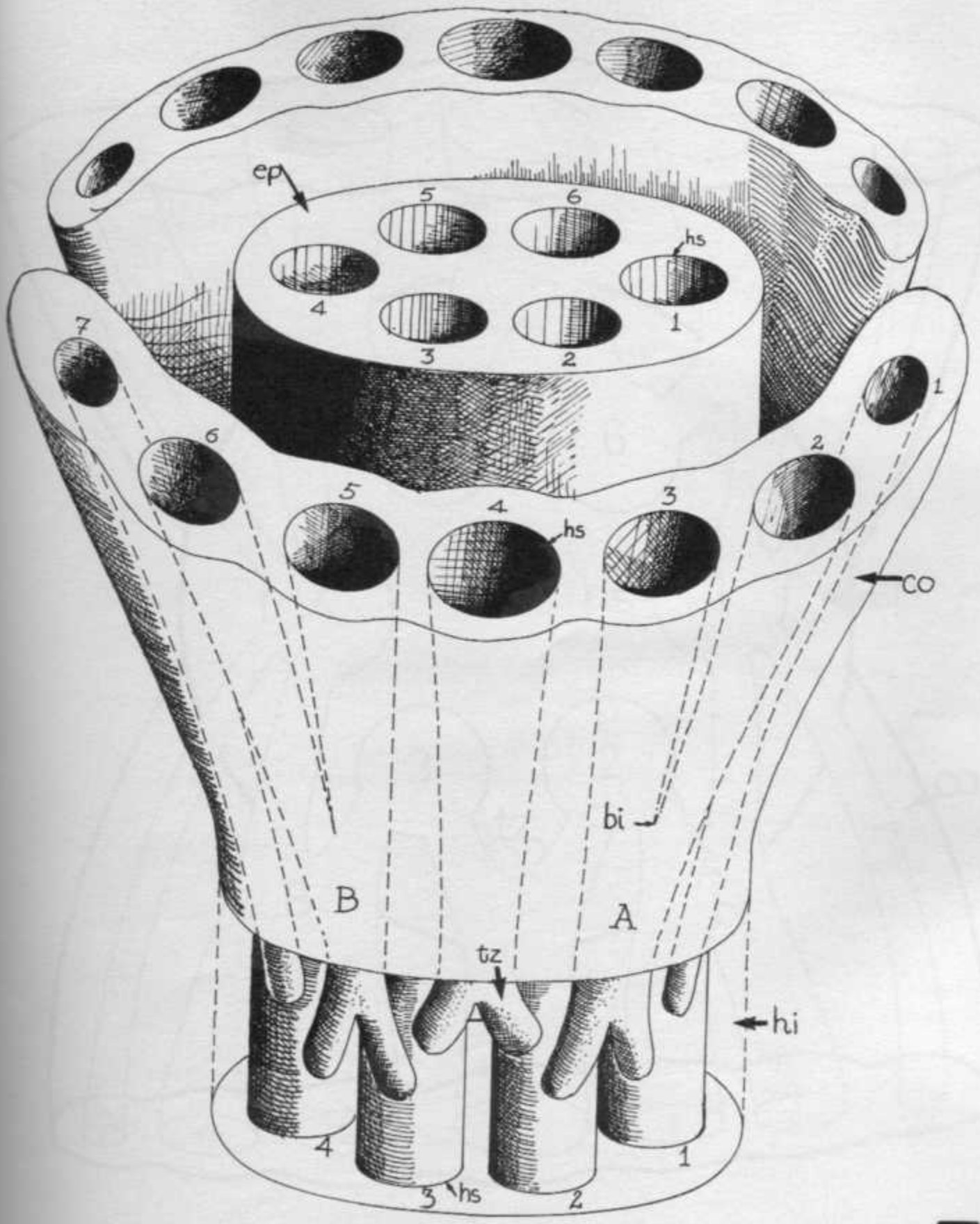
18

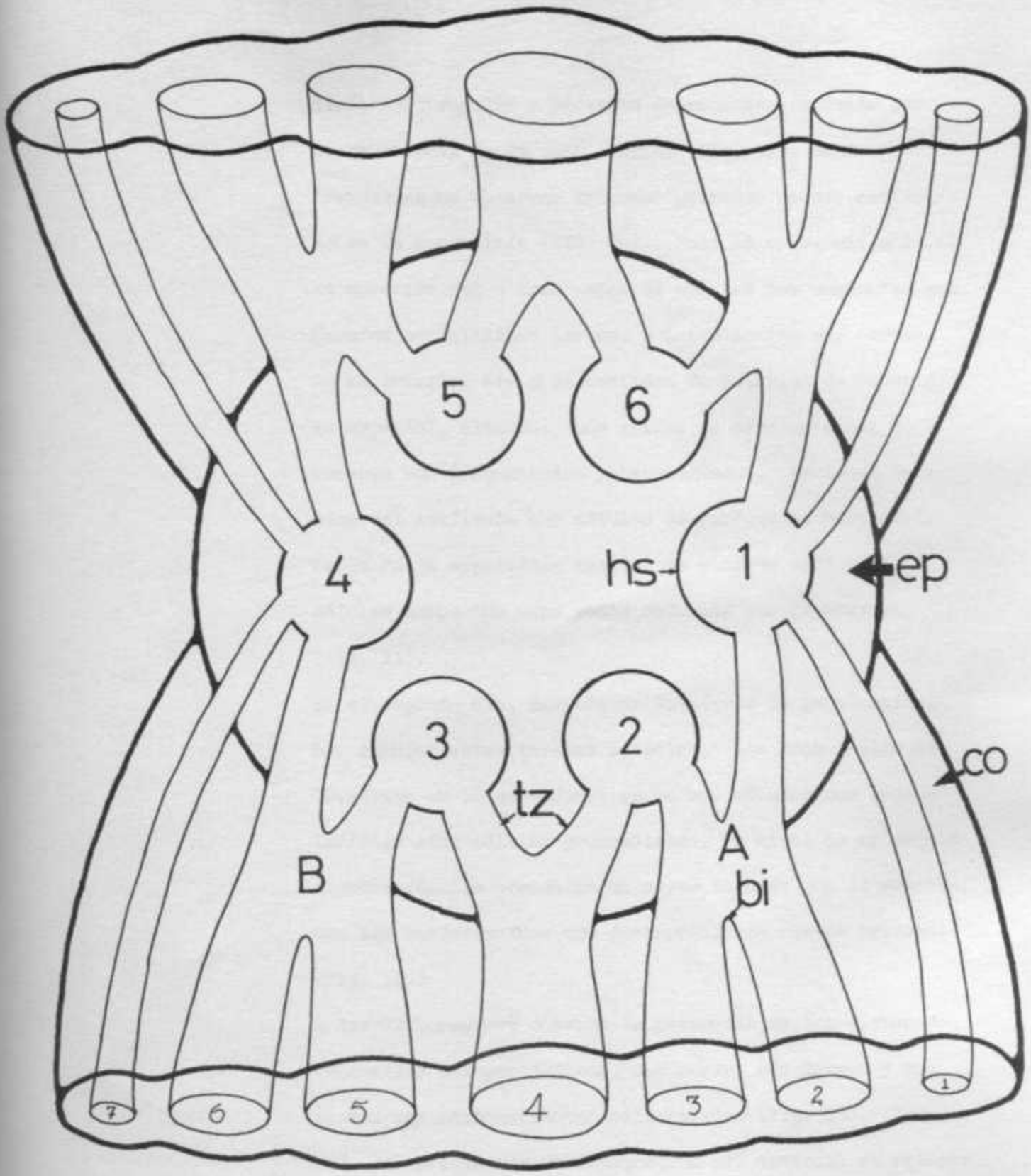
020000 048572 020000

Figura 19. Esquema de las trazas cotiledonares.

19A. hz: haces vasculares, bi: bifurcación, tz: trazas, co: cotiledón, ep: epicotilo, hi: hipocitilo

19B. hz: haces vasculares, bi: bifurcación, tz: trazas, co: cotiledón, ep: epicotilo.


ep
5
6
hs
4
1
3
2
7
1
6
2
5
4
3
hs
co
bi
B
A
tz
hi
4
1
3
hs
2



19b

2119007

Tesis
7557

ficie es irregular y presenta depresiones, aspecto que no se aprecia en la cara abaxial (Fig. 11), donde con frecuencia se observan tricomas peltados de pie masivo, sobre la superficie (Fig. 20). Bajo la epidermis adaxial se aprecian dos o tres capas de células muy compactas con paredes anticlinales largas, y periclinales muy cortas. En su interior hay gran cantidad de material de reserva, en especial, almidón. Los granos de este material de reserva son fragmentados y heterogéneos. Hacia el interior del cotiledón hay células de parénquima hexagonal. Cerca de la superficie abaxial se observa otra capa de células compactas pero menos definida que la adaxial (Fig. 21).

En el segundo día, después de iniciarse la germinación, hay cambios estructurales notables. Los principales se localizan en la nervadura; ya no hay células con granulaciones sino células procambiales. A nivel de epidermis algunas células presentan un mayor volumen que la mayoría; son las meristemoides que desarrollarán nuevos tricomas (Fig. 22).

A las 72 horas, se observa la presencia de los elementos traqueales del protoxilema, los cuales son largos y angostos con engrosamientos helicoidales (Fig. 23). También se aprecia una desintegración del material de reserva

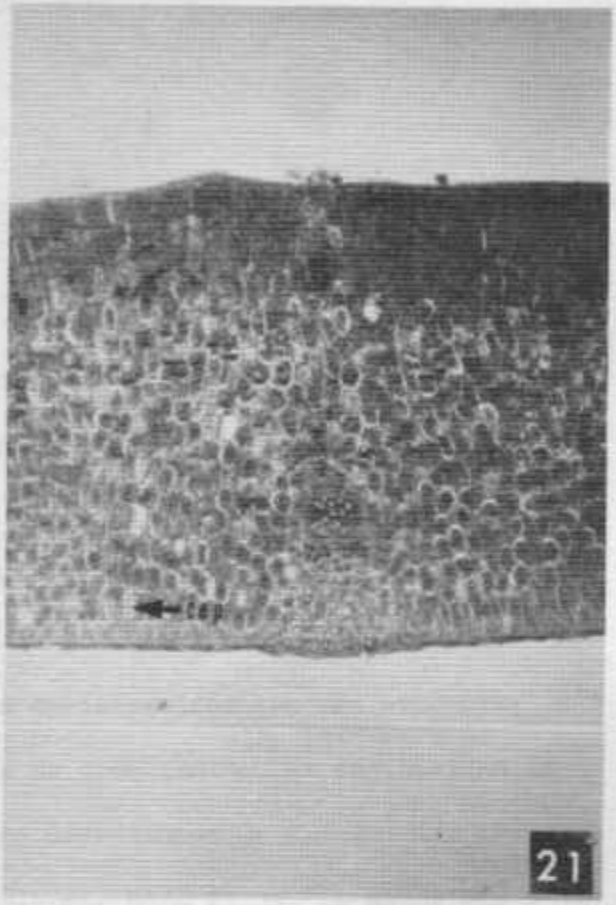
Figura 20. Vista transversal del cotiledón (393x). tc: tricomas, peltado, epa: epidermis adaxial, zn: zona interna a las células de empalizada, cm: células de empalizada.

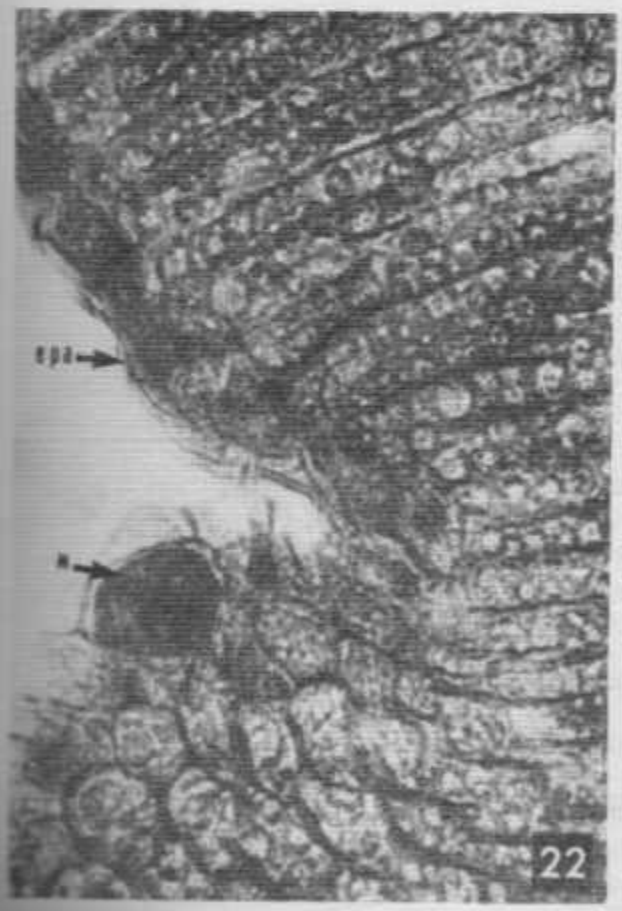
Figura 21. Corte transversal del cotiledón (196x). cep: capa de células de parénquima.

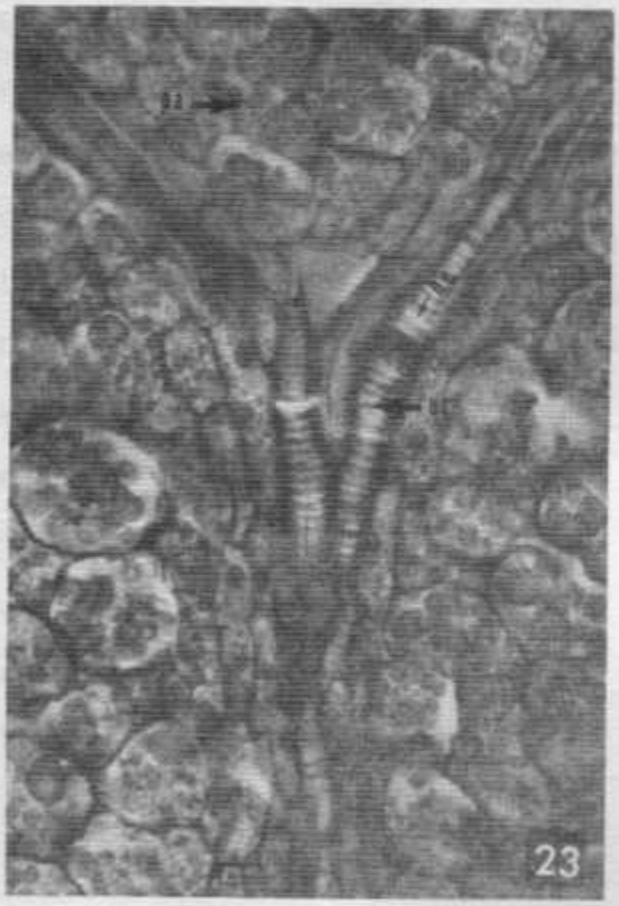
Figura 22. Sección transversal del cotiledón (1907x). epa: epidermis adaxial, m: meristemoide.

Figura 23. Corte paradermal del cotiledón (858x). et: elementos traqueales, eh: engrosamientos helicoidales, pa: parénquima de almacenamiento.

epa
lc
cm
zb
20


cep
21


epa
22


23

en forma acelerada. Los granos de almidón son más pequeños y homogéneos. Las capas celulares medias del cotiledón tienen la misma estructura, los núcleos son visibles y la cantidad de material de reserva disminuye considerablemente. En este período, las capas de endosperma que cubren los cotiledones están desintegrados casi por completo.

En la epidermis, los meristemoides son más evidentes ya que se notan células de gran tamaño, en especial en la cara adaxial. En las depresiones se diferencian tricomas aparentemente glandulares; bajo éstos, la epidermis sigue un patrón de división y diferenciación diferente (Fig. 24). Al cuarto día, se han formado algunos tricomas en el haz. El sistema vascular muestra un xilema y un floema bien definidos (Fig. 25). Después de cinco días desaparece la capa de células que cubre los cotiledones. En el haz del cotiledón, debajo de la epidermis, se observan células apiladas largas y angostas. La mayor parte del material de reserva ha sido removido y en su lugar aparecen pequeñas estructuras que aparentemente son protoplastidios. Las capas de parénquima internas a la descrita, también muestra menor cantidad de material de reserva, apreciándose espacioes intercelulares amplios.

En ambas epidermis se distinguen tricomas glandulares y

no glandulares totalmente definidos. En el tipo glandular hay variación morfológica; unos presentan el extremo globular y otros terminan en espina (Fig. 26).

En el séptimo día, el proceso de crecimiento y diferenciación que ha ocurrido es grande; los tricomas de ambas caras son muy numerosos. Se observa, en la superficie adaxial, células apiladas que aparentemente corresponden al mesofilo de empalizada. Hacia el interior, hay un parénquima poco compacto que puede corresponder al esponjoso. En las depresiones de la epidermis adaxial, en que se han diferenciado tricomas glandulares se observa una especie de vaina vascular que une la epidermis adaxial con el haz vascular (Fig. 20, 24). No se observó diferenciación de elementos del metaxilema.

C-2.2 Radícula

La radícula emerge a las 60 horas y a las 72 horas está ya completa. A los tres días de iniciarse el proceso de germinación se aprecia un activo proceso de diferenciación.

La caliptra está formada por tejido parenquimatoso, de células pequeñas y reducidos espacios intercelulares. Estos aumentan hacia la superficie. Las células externas están suberificadas y sufrieron colapso. En la zona de alargamiento se diferencia el procambium del cual se

originarán los primeros elementos traqueales (Fig. 27). Antes de que ocurra una diferenciación en las células del meristema radical se producen divisiones periclinales y anticlinales que originan el caliptrógeno. También hay una zona meristemática que da origen a la formación de raíces laterales (Fig. 27, 28, 29, 30). En la zona de alargamiento aparecen los primeros elementos del protoxilema. Estos se organizan formando usualmente una raíz tetrarca (Fig. 30). Al principio esta organización es poco conspicua, haciéndose más evidente cuando aparecen los primeros elementos del metaxilema; éstos son más cortos y anchos que los del protoxilema. Lateralmente presentan puntuacionas escaleriformes y reticulares (Fig. 31). En la rizodermis hay gran cantidad de pelos radicales (Fig. 17). Hacia el séptimo día, con frecuencia se aprecian dos tipos de elemtnos de los vasos en el metaxilema: los descritos con anterioridad y otros internos de diámetro mucho mayor, con placas de perforación simple (Fig. 32). Longitudinalmente, estas células son anchas y cortas; tienen una pared terminal bastante inclinada. En las paredes laterales se ven puntuaciones alternas.

C-2.3. Hipocotilo

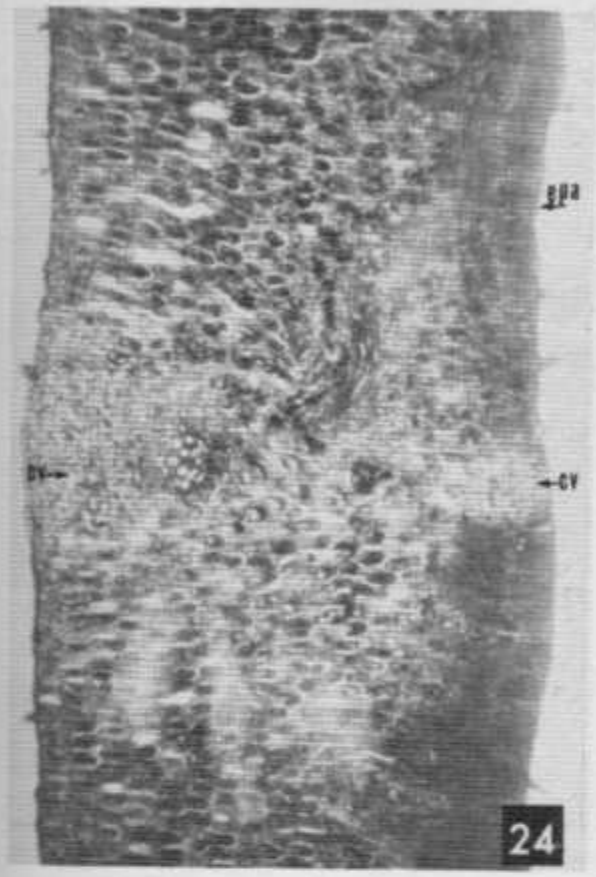
Al inicio del desarrollo el hipocotilo es muy corto; éste se alarga activamente al tercer día y la epidermis desa-

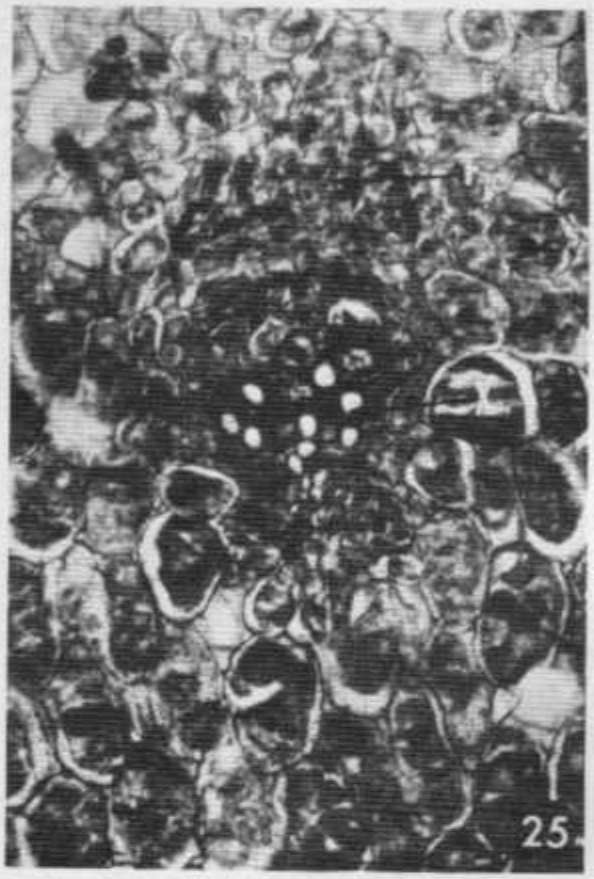
Figura 24. Vista transversal del cotiledón (196x). epa: epidermis adaxial, cv: células que forman la vaina.

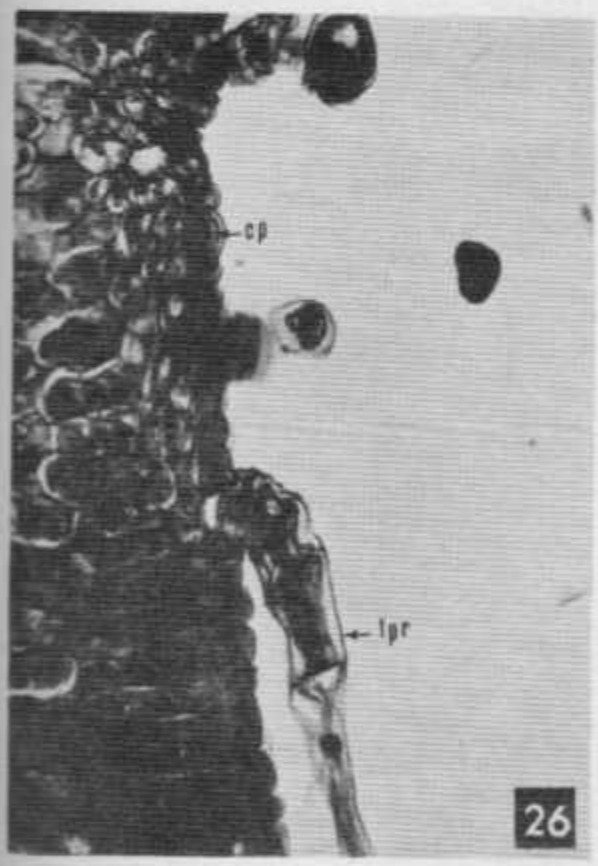
Figura 25. Sección transversal del cotiledón (858x). x: xilema, f: floema.

Figura 26. Vista transversal del cotiledón, en la que se observa tricomas diferenciados (858x). tpr: tricoma multicelular, cp: célula epidérmica.

Figura 27. Corte longitudinal de radícula a nivel de zona de elongación (5600x). dp: divisiones periclinales y anticlinales que dan origen a raíces laterales, co: corteza, zn: zona procambial.


gpa
cv
cv
24


25


cp
lpr
26

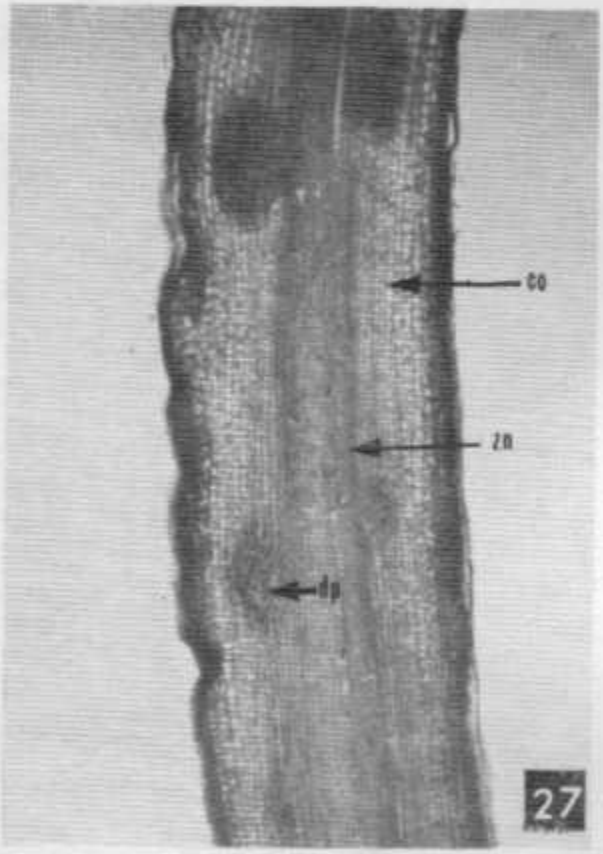
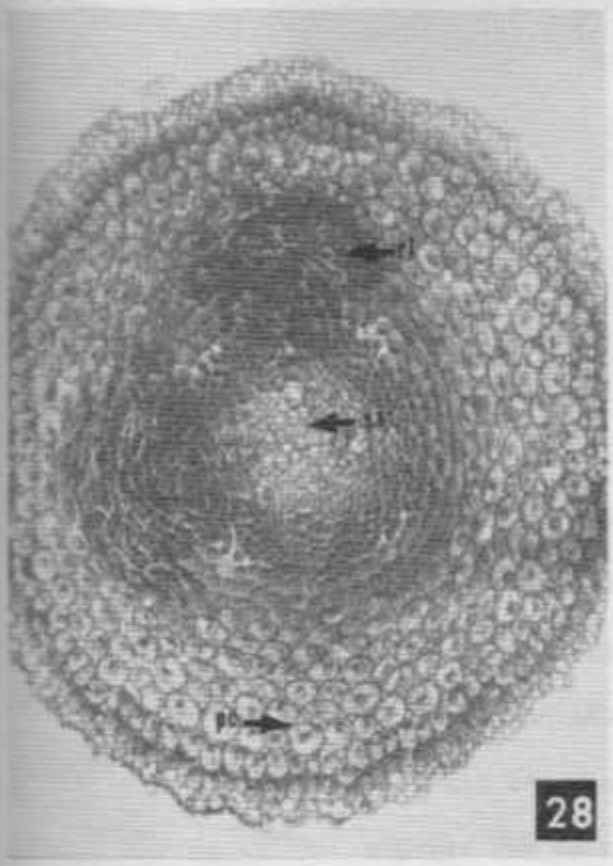

co
zn
dp
27

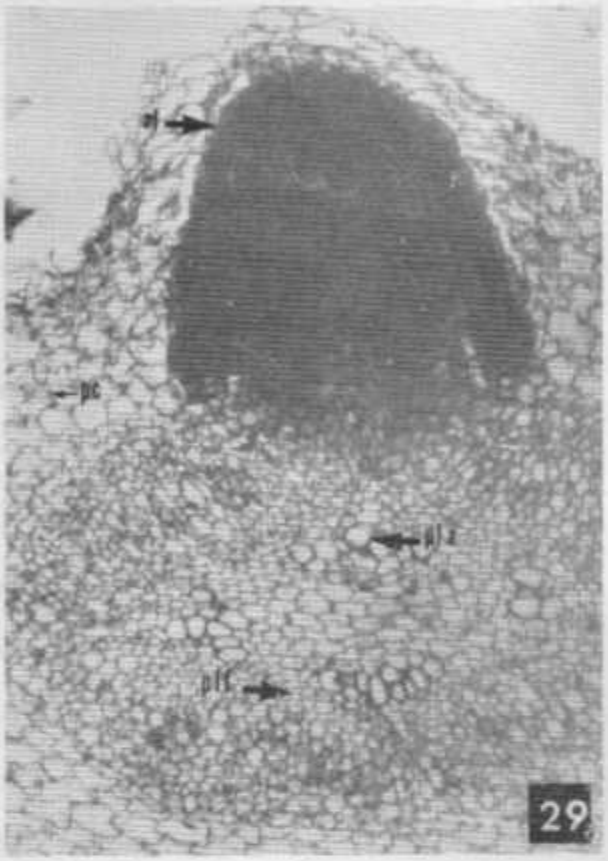
Figura 28. Corte transversal de la radícula (196x). sv: sistema vascular, rl: raíz lateral, pc: parénquima cortical.

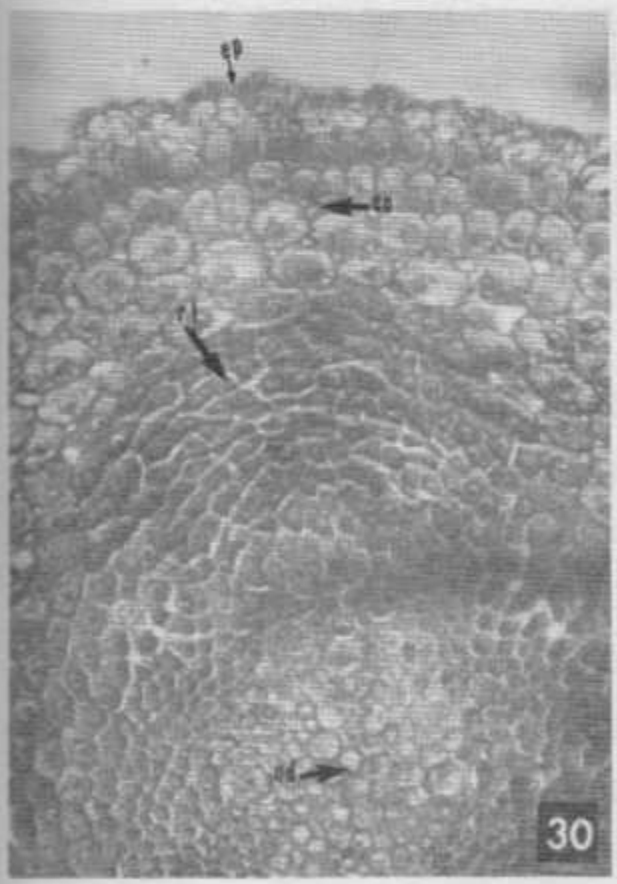
Figura 29. Sección transversal de la radícula (393x). plx: polos de xilema, plf: polos de floema, rl: raíz lateral, pc: parénquima cortical.

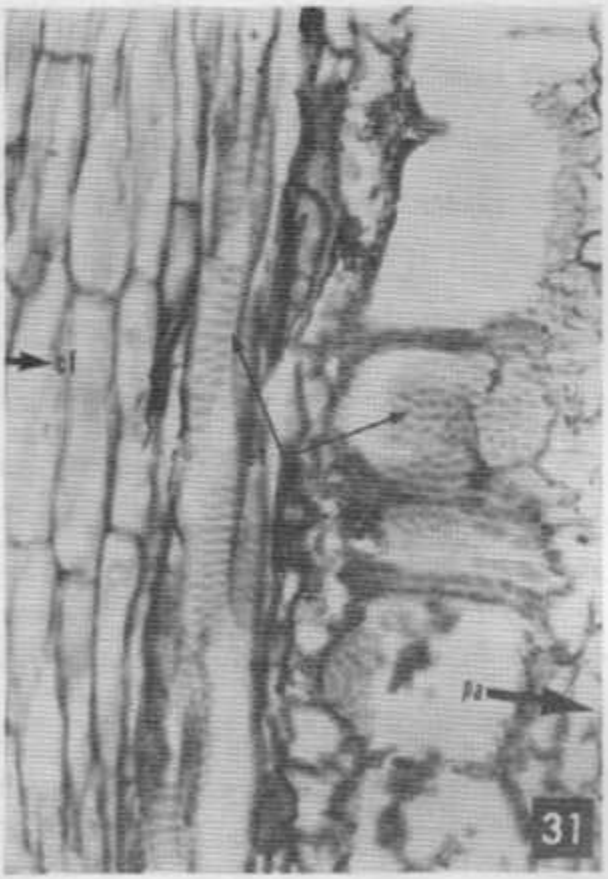
Figura 30. Sección transversal de raíz (393x). ep: epidermis, co: corteza, rl: raíz lateral, cd: células en diferenciación

Figura 31. Vista longitudinal de la raíz (732x). et: elementos traqueales, pa: parénquima, cf: células del floema.


rl
sx
pc
28


al
pc
alz
plf
29


ep
cu
cl
ed
30


cl
pa
31

rrolla tricomas rápidamente. Su sistema vascular está organizado en una eustela (Fig. 33). Hacia las 48 horas, se empieza a formar una protuberancia hipocotilar en su extremo proximal, se hace más evidente al tercer día y al cuerto día está completamente formado (Fig. 17, 33, 34, 35). Esta es una estructura de apoyo y en su cara superior las células aparentemente se suberizan. En las células epidérmicas de la estructura las paredes anticlinales son más largas que las periclinales. En el hipocotilo se desarrolla, bajo la epidermis un colenquima angular que es masivo cerca del pie.

C-2.4 Meristema apical

El meristema aplical activa su desarrollo hacia el tercer día, entonces se observa el desarrollo de un primordio, donde se da una pronta diferenciación de tricomas; al quinto día tiene dos primordios.

El epicotilo al igual que el hipocotilo tiene una eustela compuesta de seis haces vasculares; de tres de éstos se originan las tres trazas que se fusionan para formar el haz del primordio. Las hojas, entonces, son trilacunares (Fig. 36).

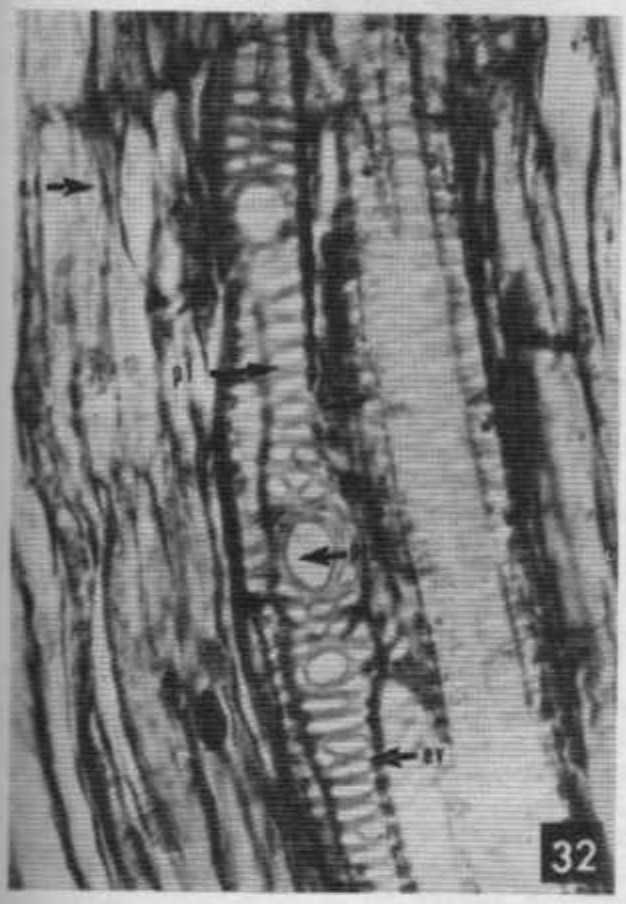
Los primordios desarrollados inicialmente, crecen en forma rápida, curvándose y cubriendo el ápice. Al quinto día, la epidermis de los mismos es muy pubescente. Además,

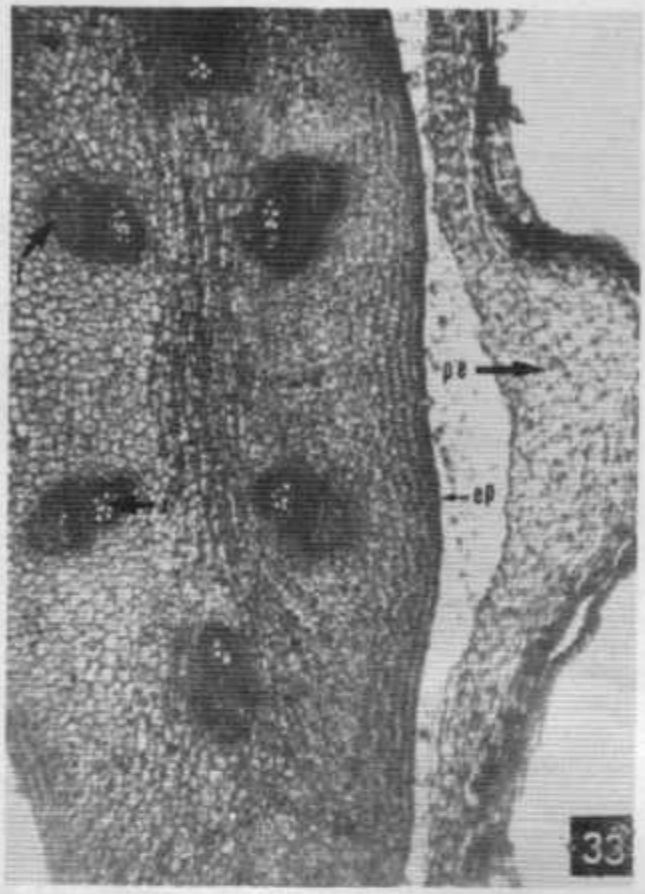
Figura 32. Corte longitudinal de raíz (732x). ev: elementos de los vasos, pts: placa de perforación simple, pf: puntuaciones escalariformes, cf: células de floema.

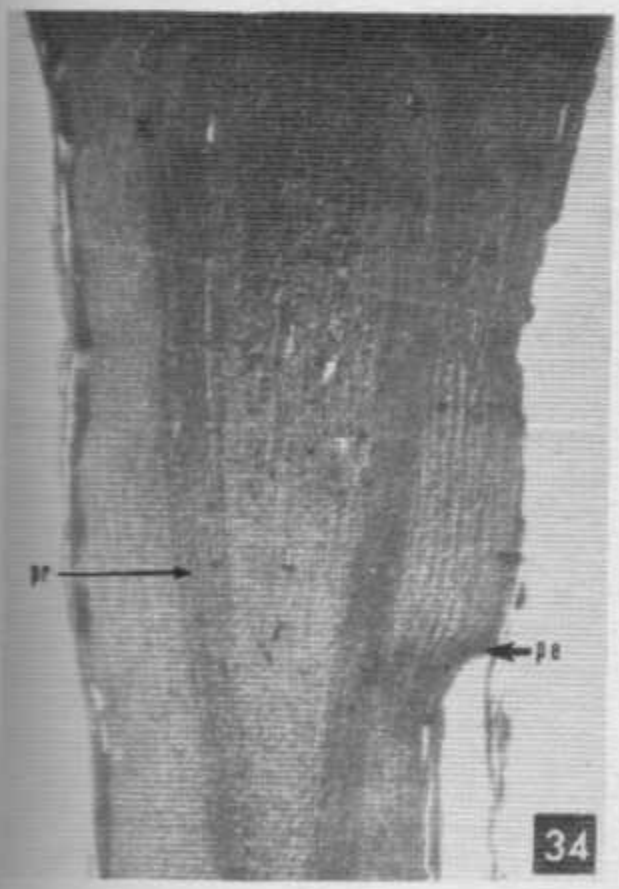
Figura 33. Vista transversal del hipocotilo (78x). ep: epidermis, f: floema, x: xilema, pe: pie.

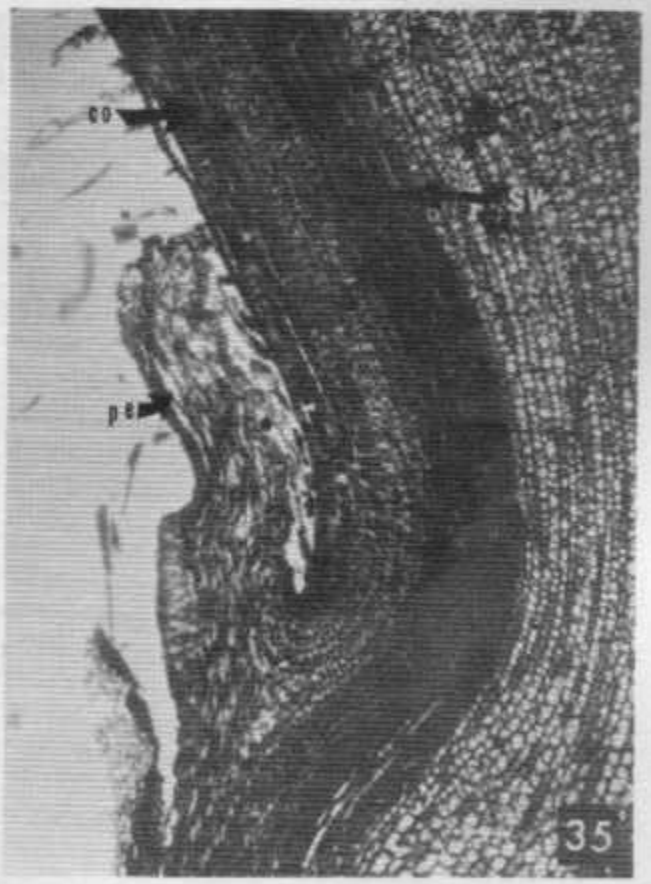
Figura 34. Corte longitudinal de radícula (393x). pr: procambium, pe: pie.

Figura 35. Sección longitudinal del hipocotilo en la que se observa el pie en desarrollo (381x). sv: sistema vascular, co: corteza, pe: pie.


pl
ey
32


pe
ep
33


pr
pe
34


co
sv
pe
35

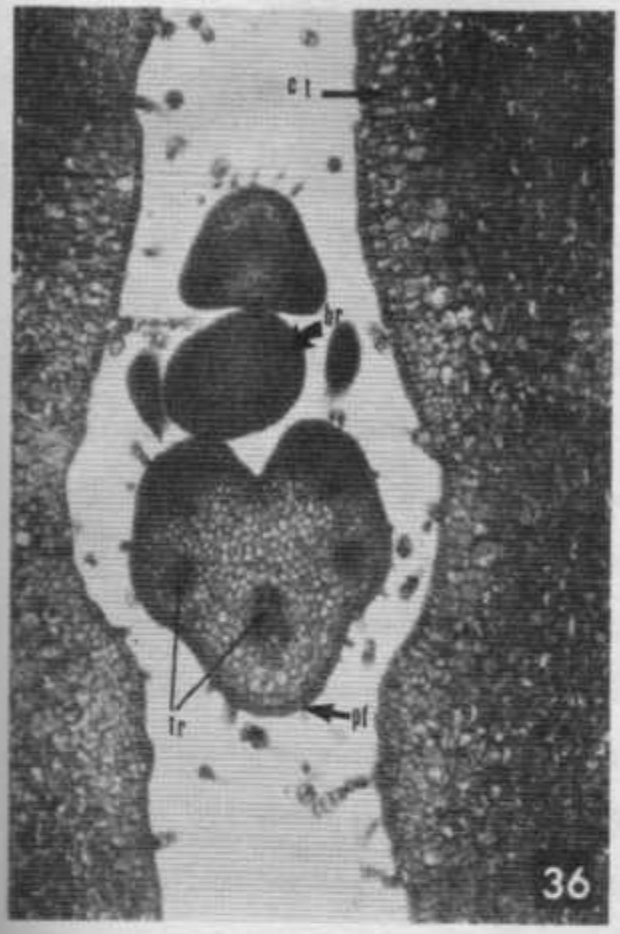
tienen venas en las que se observa xilema y floema diferenciados. En el séptimo día, el epicotilo está más desarrollado. El ápice presenta varios primordios sin diferenciar, pero algunos de éstos están ya bien desarrollados. En la base de las hojas insertas más arriba de los cotiledones, se empieza a notar la formación de yemas laterales (Fig. 37).

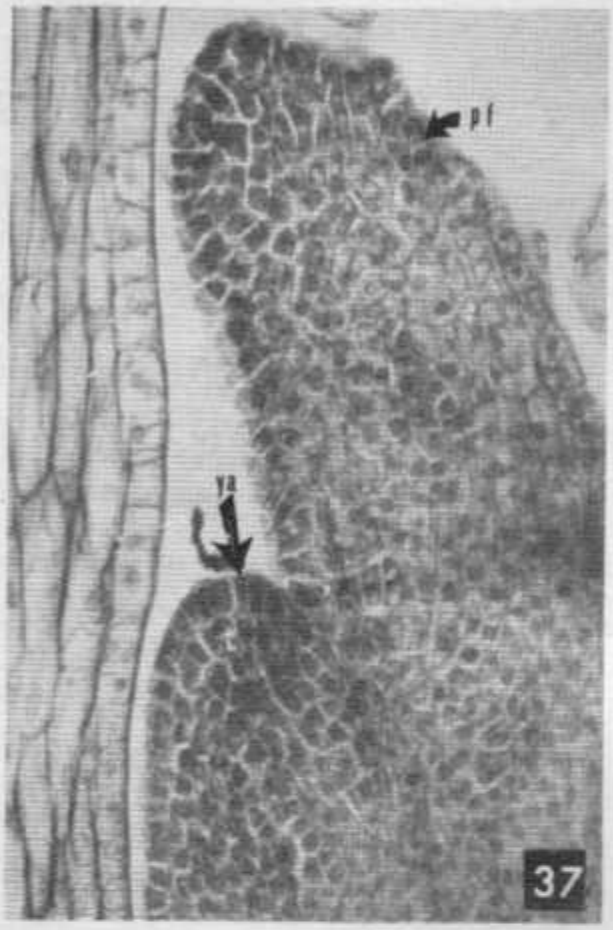
El décimo día, se distinguen pequeñas hojas que se han alejado del ápice. Las yemas laterales se han desarrollado y en algunas de ellas se ha iniciado la formación de nuevos primordios foliares.

El eje de la planta deja de ser erecto y comienza a curvarse para convertirse en rastrero a los 30 días.

Figura 36. Sección transversal de cotiledones y del epicotilo (381x). ct: cotiledón, pf: primordio foliar, br: brote, tr: trazas foliares.

Figura 37. Vista longitudinal del epicotilo (10600x). pf: primordio foliar, ya: yema axilar.


ct
br
tr
pf
36


pf
va
37

V DISCUSION

La flor de *Cucurbita ficifolia* presentó una estructura ovárica tricarpelar, lo cual es característico de la familia Cucurbitaceae. Estos resultados difieren de los de Dubravec(1972) quien menciona que esta especie tiene cuatro carpelos.

La placentación del chiverre es bastante compleja. Los carpelos son conduplicados. En el centro se aprecian tres haces vasculares principales, los cuales aparentemente son el resultado de la fusión de los haces ventrales cercanos a los margenes carpelares; con base en esto se estimó que la placentación es axilar. Eventualmente aparecen espacios intercelulares rexígenos que abren la línea de fusión carpelar debido a la presión que genera el peso de las semillas en desarrollo. Las rupturas aparecen muy temprano en el ovario, ya que éste es muy carnoso y está compuesto del parénquima de paredes muy delgadas.

La semilla de esta especie se caracteriza por presentar un proceso de germinación bastante rápido, ya que en el término de diez a doce días se observa una plántula, con su primer megafila joven.

El período de latencia se rompe en el momento en que se inicia el proceso de imbibición de agua. Este proceso parece ser favorecido por dos condiciones:

a. La zona epidérmica de la cubierta seminal se compone de células largas y pilosas. Dicha estructura celular favorece una rápida absorción de agua y presenta la capacidad de retenerla.

b. Al iniciarse la imbibición la semilla aumenta su volumen y el micropilo aumenta su diámetro permitiendo una entrada más rápida del agua.

Los aspectos mencionados favorecen un rápido suministro de agua al embrión. Como éste es ya bastante desarrollado, se desencadenan los procesos bioquímicos que inician su crecimiento y diferenciación en forma rápida. Durante la imbibición la semilla se torna resbaladiza. Este cambio se puede dar porque las células epidérmicas poseen material mucilaginoso que se rehidrata recobrando las células la apariencia que tenían antes de ser extraídas del fruto. Una vez roto el período de latencia, las células de los cotiledones son las primeras, que en apariencia, inician una serie de cambios para suministrar el material de reserva necesario para proveer la energía que permite el inicio de la división y diferenciación celular de las diferentes partes latentes del joven esporofito.

Durante el segundo día de germinación se presentan cambios en la nervadura; corresponden esos cambios a la diferenciación del procambium del cual pronto deriva el floema y luego el xilema. La diferenciación temprana del floema puede correlacionarse con la necesidad momentánea de que se realice un rápido transporte de metabolitos a las áreas de intenso crecimiento.

En el parénquima de almacenamiento de los cotiledones se aprecia una rápida disminución del material de reserva. Según los estudios de Lott y Vollmer (1970b, 1970c, 1979a, 1979b) en *Cucurbita maxima* el incremento en la cantidad de mitocondrias es paralelo a la despolimerización de sustancias de reserva. Con base en las observaciones hechas con microscopías de luz,

se puede afirmar que el núcleo de las células cotiledonares es más conspicuo en las semillas después de iniciada la germinación. También hay gran cantidad de pequeños corpúsculos o protoplastidios. Esta intensa actividad en el embrión se hace claramente observable hacia el tercer día de germinación. A partir de este momento hasta el séptimo día, se produce una diferenciación del parénquima que da como resultado la formación de dos capas celulares apiladas que aparentemente se desempeñan como mesofilo de empalizada y una zona de parénquima no tan compacto que puede equivaler a un mesofilo esponjoso. Durante este tiempo, en las células aumenta la concentración de pequeñas organelas celulares.

Externamente los cotiledones pasan de un verde pálido a un verde oscuro, cambios que evidencias un aumento de clorofila. Lott y Vollmer (1970a, 1970b, 1970c, 1972, 1973) afirman que en los cotiledones de *Cucurbita maxima* se aprecian dos etapas. En la primera hay una alta diferenciación de mitocondrias que participan activamente en el proceso de respiración celular, en el suministro de energía para los procesos de división y especialización; por lo tanto aquí se realiza un alto consumo de material de reserva. La segunda etapa se inicia al tercer día y es paralela a la respiración. En ella se inicia la síntesis de clorofila y la diferenciación de cloroplastos, los cuales aumentan de tamaño. Es así como hacia el séptimo día existen mesofilos definidos y la concentración de cloroplastos es inversa a la de material de reserva. Al cabo de este tiempo los cotiledones son capaces de fotosintetizar y suministrar la energía necesaria hasta que las primeras megafilas asumen dicha función. En *Cucurbita ficifolia*

aparentemente se presenta un patrón semejante al descrito por Lott y Vollmer (1970a, 1970b, 1970c) para *Cucurbita maxima*. Sin embargo, en las observaciones realizadas no se comprueba la activa respiración celular inicial a no ser por la disminución de material de reserva; la formación de probables mesofilos, sí es evidente.

El sistema vascular de los cotiledones tiene un activo desarrollo tanto a nivel de floema como de xilema hasta el sexto día. A partir de aquí no se aprecia mayor crecimiento o diferenciación. En el xilema solo llega a diferenciar protoxilema en etapas tempranas. Es probable que sea suficiente para llenar los requerimientos hídricos y de nutrición mineral de estos órganos.

Una característica de la germinación es el inicio de la actividad del meristema radical. Durante el segundo día se observa un activo proceso de división celular y luego de alargamiento celular; como consecuencia, al tercer día la raíz emerge de la semilla.

Una vez que emerge la raíz, se acelera el crecimiento; siete días después es un órgano bien desarrollado, compuesto de un eje principal del cual se origina gran cantidad de raíces laterales.

De acuerdo con los resultados se puede deducir que la diferenciación de los tejidos de la raíz primaria es paralela al inicio de la formación de raíces laterales.

Cuando el tejido vascular del eje radical se ha diferenciado parcialmente, se inicia la formación de los primordios que darán origen a las raíces laterales. Es característico que el núcleo inicial de divisiones que

origina un primordio que de opuesto al polo de xilema. Mallory et al (1970) informaron lo mismo en *Cucurbita maxima*.

Esta especie forma un sistema radical muy ramificado, con alta concentración de pelos; tanto en el campo como en invernadero o in vitro. Presumiblemente, esto permite suministrar a los bien desarrollados cotiledones los requerimientos nutricionales e hídricos. A los siete días de iniciada la germinación los cotiledones están en capacidad de fotosintetizar y el sistema radical, de abastecer la planta joven.

Una característica sobresaliente es el que en las semillas negras la formación de raíces laterales presenta un patrón definido. En general emergen en grupos de tres dejando un ángulo de separación más o menos constante entre ellas, mientras que en las blancas la emergencia de raíces es bastante irregular.

La literatura (Hutchinson, 1959) informa sobre un tipo de organización vascular protostélico para *Cucurbita ficifolia*. Las observaciones no concuerdan con esa información, ya que existe una organización tetrarca y a veces poliarca. Un examen minucioso revela la presencia de parénquima separando los haces de floema y xilema.

El hipocotilo se alarga rápido después que la radícula alcanza la mayor parte de su desarrollo. El hecho más sobresaliente de esta estructura es la formación de una protuberancia hipocotilar en su extremo proximal, que se denomina pie. Esa protuberancia es inconspicua al inicio de la germinación; sin embargo, pronto inicia un activo crecimiento que en su mayor parte se debe a alargamiento celular. Esta estructura queda dentro de la

testa rasgada y casi completa su crecimiento antes de que el hipocotilo inicie su alargamiento. Tiene como función el servir de punto de apoyo para que el hipocotilo salga de la testa.

Esta estructura fue descrita por Witztum y Gerzani (1975) en *Cucumis sativus*. Determinaron que la auxina proveniente de los cotiledones estimula el desarrollo de esa estructura a partir del tejido cortical en el extremo proximal del hipocotilo. Se supone que esa auxina es luego transportada básipetamente para iniciar la formación de primodios radicales laterales. En *Cucurbita ficifolia*, el pie se desarrolla solo de un lado, mientras que en *Cucumis*, algunos autores indican que puede desarrollarse en ambos lados (Witztum y Gerzani, 1975).

Paralelamente a la formación de esta protuberancia se diferencia el colénquima angular. Una vez formada la protuberancia, da el apoyo necesario para que los cotiledones logren salir por completo de la testa. En esta función, supuestamente colabora el colénquima angular que dará el soporte necesario para que el hipocotilo adopte una posición erecta.

Lo último que se estimula en el embrión es el desarrollo del epicotilo. El meristema apical permanece inactivo hacia el tercer día de germinación. Entonces se activa e inicia un proceso de división celular intenso, observándose pronto la formación de primordios foliares. Estos crecen rápido, se doblan y cubren totalmente el brote. La densidad de tricomas tanto en la cara adaxial y abaxial de las hojas es muy alta.

Las pruebas de germinación se realizaron con los dos tipos de semillas que tiene la especie y que según León (1968) son variedades diferentes.

Ese autor se basa sólo en el color de la testa; sin embargo, se observó que entre ellas existen más diferencias; las semillas negras presentan un borde con mayor número de estrías que las blancas, a nivel de cotiledones las paredes de las células de semillas negras son más gruesas que las de las blancas. Además, durante la germinación las semillas negras presentaron un patrón de formación de raíces laterales más definido que el de las blancas que fue bastante irregular.

VI LITERATURA CONSULTADA

Arora, R.K. y H.B. Singh
1973. Ocurrence of malabar gourd Proc. Indian Acad., 42: 20 pp.

Bayley, L.H.
1949. Manual of Cultivated plants. Mc Millan Co. New York. 300 pp.

Barroso, J.
1946. Consideracoes sobre a familia Cucurbitaceae. Servicio de documentación Ministerio de Agricultura, Río de Janeiro, Brasil. 215 pp.

Dubravec, K.
1974. Comparative Investigations of the ontogeny of the Cucurbitaceae Acta Bot. Croat., 33: 125-136.

Esau, K.
1977. Anatomy of Seed Plants. 2a ed. Wiley & Sons, New York. 550 pp.

Hard, S.P. y M. Thomas
1971. Squash and gourd bees. (*Peponapsis*, *Venoglossa*) and the origen of the cultivated *Cucurbita*. Evolution, 25: 218-234.

Hutchison, J.
1959. The families of Flowering Plants. Vol. I 2a ed. MacMillan & Co. Ltd. 516 pp.

Johausen, D.A.
1940. Plant microtechinique. McGraw-Hill Book Co. New York.

Jensen, A.W.
1962. Botanical Histochemestry. W.H. Freeman & Co. Berkeley, California.

León, J.
1968. Fundamentos Botánicos de cultivos Tropicales. Editorial IICA. Lima, Perú. 487 pp.

Lott, J. y C. Vollmer
1970a. Changes in the cotyledons of *Cucurbita maxima* during germination. I General characteristics. Can. J. Bot., 48: 2227-2231.

1970b. Changes in the cotyledons of *Cucurbita maxima* during germination. II Development of mitochondrial funtion. Can. J. Bot., 48: 2233-2240.

1970c. Changes in the cotyledons of *Cucurbita maxima* during germination. III Plastids and chloropylls. Can. J. Bot., 48: 2250-2265.

1972. The estructur of protein bodies in *Cucurbita maxima* cotyledons. Can. J. Bot., 51: 687-688.

1973. Changes in the cotyledons of *Cucurbita maxima* during germination. IV Protein Bodies. Protoplasma, 78: 255-271.

1975. Changes in the cotyledons of *Cucurbita maxima* during germination. V The nuclear envelope. J. Ultraestr. Res. 52: 156-166.

1979a. Composition of Globoid crystals from embryo protein bodies in five species of *Cucurbita* Plant Physiology. 63: 307-311.

1979b. Calcium distribution in globoid crystals of *Cucurbita* cotyledon protein bodies. Plant Phys., 63: 847-451.

Mallory, T.S. Chiang, E. Cutter, E. Gifford, E.
1970. Sequence and pattern of lateral root formation in five selected species. Amer. J. Bot., 57: 800-809.

Metcalfe, C. R. y Chalk
1965. Anatomy of the Dicotyledons II. University Press, London. 684 pp.

Sharman, B.C.
1943. Tannic acid and iron alum with safranin and orange G. in studies of the shoot apex Stain Tech., 18: 105-111.

Singh, D. A. S. Dathan
1965. Contribution to the endosperm of the Cucurbitaceae. Proc. Indian Acad. Sci. SECTB, 60: 399-413.

1967. Structure and development of seed in Cucurbitaceae. Proc. Indian Acad. Sci. SECTB, 65: 267-274.

1972. Structure and development of seed coat in Cucurbitaceae VI. Seeds of *Cucurbita*. Phytomorpholo., 22: 29-45.

Weier, L. y R. Stocking
1979. Botánica 5 Ed. Limusa, México. 741 pp.

Wittztum, A. y M. Gersani
1975. Therole of polar movement of IIA in the development of the peg in *Cucumis sativus* L. Bot. Gaz., 136: 5-16.