

MORFOLOGÍA DEL ANDROCEO, TAPETE Y ULTRAESTRUCTURA DEL POLEN DE *SIPARUNA ASPERA* (RUIZ & PAVÓN) A. DC. (SIPARUNACEAE)

por

María Angélica Bello¹, Favio González¹ & Gloria Romero de Pérez¹

Resumen

Bello M. A., F. González & G. Romero de Pérez: Morfología del androceo, tapete y ultraestructura del polen de *Siparuna aspera* (Ruiz & Pavón) A. DC. (Siparunaceae). Rev. Acad. Colomb. Cienc. **26**(99): 155-167. ISSN 0370-3908.

Las flores estaminadas, el androceo y el polen de *Siparuna aspera* (Siparunaceae) fueron estudiadas mediante el uso de microscopía de luz y electrónica. Se encontró por primera vez la presencia en *Siparuna* de estambres en tres verticilos, cada uno formado por dos estambres opuestos; los tres verticilos son decusados; a la vez, se detectó una estructura en el centro de la flor que parece ser un estilo vestigial. Se describe por primera vez la histología del tapete en *Siparuna*, el cual es secretor. El polen de la especie estudiada es globoso, inaperturado, y con exina diferenciada en sexina y nexina. La sexina posee un tectum ondulado, continuo, granular y delgado, y columnelas globoso-cónicas cuyos ápices atraviesan el tectum y forman una escultura equinada. La nexina es continua y se diferencia en una capa basal lamelar y una endexina granular. La intina es continua y con borde interno irregular. Todos estos caracteres sustentan una relación filogenética estrecha con *Glossocalyx*, sugerida también por datos moleculares. Debido a la ausencia de información y al conflicto en la interpretación de los caracteres florales y palinológicos de Siparunaceae y las familias relacionadas Atherospermataceae, Gomortegaceae, Hernandiaceae y Monimiaceae, se requieren más estudios detallados de la ontogenia floral, la ultraestructura del polen y la filogenia en estas familias, a fin de inferir la evolución de dichos caracteres, tan variables y extremos en el orden Laurales.

Palabras clave: Anteras, embriología, morfología, polen, ultraestructura; angiospermas basales, Laurales, *Siparuna*, Siparunaceae.

Abstract

Staminate flowers, androecium and pollen of *Siparuna aspera* (Siparunaceae) were examined by using light and electron-microscopy techniques. The presence of three decussate whorls of 2 stamens in *Siparuna*, each whorl with 2 opposite stamens is reported for the first time. A structure in the floral centre was also found that could correspond to a vestigial style. The tapetum of *Siparuna* is here reported for the first time as being secretory. Pollen of *S. aspera* is globose and inaperturate. The exine is differentiated into sexine and nexine; the sexine is formed by an undulate, continuous, granulose, thin tectum, and by globose-conical columellae; the tips of the latter project through the tectum and form the echinulate sculpture of the grain. The nexine is continuous and differentiated into a lamellar foot layer and a granulose endexine. The intine is also continuous and its inner border is irregular. All these features reinforce the close phylogenetic relationship between *Siparuna* and *Glossocalyx* shown also by molecular data. Floral and palynological characters are extremely variable and conflicting within order Laurales, including Siparunaceae, Atherospermataceae, Gomortegaceae, Hernandiaceae and Monimiaceae. Therefore, more floral ontogenetic, pollen ultrastructure, and phylogenetic studies of these families are necessary in order to get a better approach on the evolution of such characters in order Laurales.

Key words: Anthers, embryology, morphology, pollen, ultrastructure; Laurales, basal Angiosperms, *Siparuna*, Siparunaceae.

Introducción

Siparuna Aubl. es un género de aproximadamente 72 especies de arbustos y árboles aromáticos, por lo general dioicos, distribuido desde México y Las Antillas hasta Paraguay y Argentina. Tradicionalmente, *Siparuna* ha sido incluido en las Monimiaceae, aunque la extrema diversificación morfológica de esta familia ha sido la base para segregarla en varias familias diferentes (véase p. ej. **Money et al.** 1950; **Schodde**, 1970; **Endress**, 1972). Las Monimiaceae s. l. forman parte del orden Laurales, un grupo de angiospermas basales con relaciones filogenéticas ambiguas (**Schodde**, 1970; **Hufford**, 1996; **Renner & Hausner**, 1997; **Renner et al.** 1997; **Renner**, 1998). La variación de la morfología floral en el orden Laurales es muy amplia (**Endress**, 1990, 1994). También lo es en las Monimiaceae s. l. en particular; en esta familia la variación floral ha sido descrita en detalle por varios autores (véase **Perkins**, 1898; **Pichon**, 1948; **Money et al.** 1950; **Schodde**, 1970; **Endress**, 1980, entre otros). Algunos de los caracteres diagnósticos dentro de la familia tienen que ver con la morfología de las flores estaminadas o de los estambres en particular (**Endress**, 1996). De hecho, una de las primeras divisiones de la familia en dos subfamilias, las Monimioideae y las Atherospermatoidae, fue establecida por **Perkins** (1898) con base en la dehiscencia de las anteras. Además de dicho carácter, la construcción de las anteras presenta interesantes variaciones, no sólo en Monimiaceae sino en las Laurales en general (**Endress & Stumpf**, 1990; **Endress**, 1996; **Hufford**, 1996). La presencia o ausencia de apéndices en los filamentos es también utilizado como

diagnóstico a nivel genérico (véase clave en **Philipson**, 1993).

Análisis filogenéticos basados en datos moleculares de las Monimiaceae s. l. sugieren que esta familia es polifilética (**Renner et al.** 1997; **Renner**, 1998; **Renner & Chanderbali**, 2000). Como resultado de dichos estudios, el género *Siparuna* ha sido segregado en su propia familia, las Siparunaceae, junto con *Glossocalyx*, género monotípico del trópico occidental de África. A la vez, dichos datos sustentan una relación cercana de las Siparunaceae con las Atherospermataceae y las Gomortegaceae y contradicen la opinión tradicional de que las Siparunaceae "are more closely related to Monimiaceae than to any other lauralean family" (**Schodde**, 1970:326).

Recientes estudios embriológicos, morfológicos y filogenéticos de las angiospermas basales han detectado la falta de varios datos en grupos tropicales, entre ellos *Siparuna* (**Heo & Tobe**, 1995; **Doyle & Endress**, 2000; **Furness & Rudall**, 2001 a; **Furness et al.** 2002). Llama la atención, en particular, los caracteres que tienen que ver con el tipo de tapete y la microsporogénesis en las especies de este género. Debido a que se ha demostrado la utilidad de estos caracteres en sistemática de varios grupos de angiospermas (véase p. ej. **Sastri**, 1963; **Pacini et al.** 1985; **Le Thomas**, 1988; **Pacini & Franchi**, 1991; **Gabarayeva**, 1993, 1995; **Pacini**, 1997; **Furness & Rudall**, 1998, 1999, 2000, 2001 a, b; **Sampson**, 2000; **González et al.** 2001; **Furness et al.** 2002), el estudio detallado de éstos puede aportar datos adicionales que ayuden a aclarar las relaciones filogenéticas de las Siparunaceae.

El presente estudio contribuye al conocimiento de la morfología floral, la morfología y ultraestructura polínica y el tipo de tapete en *Siparuna*. El conocimiento de la morfología floral (véase **Endress, 1980; Renner et al. 1997**) y la morfología y ultraestructura del polen (véase **Pignal et al. 1999**) de este género aún es muy limitado, en tanto que el tipo de tapete es desconocido. El estudio de estos caracteres en *Siparuna* puede ser útil para aclarar no solamente las relaciones con respecto a otros miembros del orden Laurales sino también a la evolución de dichos caracteres en las angiospermas basales.

Materiales y métodos

Para el presente estudio fueron colectados botones florales y flores maduras de *Siparuna aspera* (Ruiz & Pavón) A. DC. en zona rural del municipio de La Mesa (Cundinamarca, Colombia). Los ejemplares testigo están depositados en el Herbario Nacional Colombiano (COL), bajo los números *F. González 3834* y *F. González 3835*. Algunas muestras fueron disectadas en campo y varias anteras, en distintos estados de desarrollo, fueron inmediatamente fijadas en glutaraldehído al 2.5% (en solución amortiguadora de Millonig 0.2 M, pH 7.4) por 48 horas. Posteriormente, las muestras fueron lavadas en solución amortiguadora (15 min) y post-fijadas en tetróxido de osmio al 1% (1 h), bajo rotación continua a 4° C. Luego de un último lavado con solución amortiguadora (15 min), el material fue deshidratado en una serie de etanol al 70, 95 y 100% durante 5, 20 y 60 minutos respectivamente y colocado en óxido de propileno (15 min). Se realizó una preimbibición en una mezcla de resina Epón-Araldita (Kit PolyScience) y óxido de propileno 1:1 (1 h) para luego hacer la imbibición en resina (2 h). La polimerización del material se hizo a 60° C durante 48 horas (Laad), seguida de un enfriamiento lento y reposo por 24 horas a temperatura ambiente. Fueron cortadas secciones semifinas (ca. 1-2 µm) y ultrafinas (70 nm) en un ultramicrotomo LBK 4802-A con cuchilla de vidrio. Las secciones semifinas fueron coloreadas con azul de toluidina y fijadas en Entellan (Merck) para ser observadas en un microscopio óptico Nikon con un equipo de microfotografía H3. Las secciones ultrafinas fueron coloreadas con acetato de uranilo y citrato de plomo (**Reynolds, 1963**) para su observación en un microscopio de transmisión Jeol 100 B.

Las muestras empleadas para observación al microscopio electrónico de barrido (MEB) fueron fijadas en una solución de formalina-etanol-ácido acético (FAA) por 48 horas, luego transferidas a etanol al 70%, disectadas en etanol al 90% y deshidratadas en una serie de etanol:acetona (90% etanol, 30 min; etanol absoluto, 30 min; etanol absoluto:

acetona, 10 min; acetona, 10 min). Posteriormente, las muestras fueron secadas con CO₂ líquido en un CPD Blazer 020, recubiertas con oro-paladio en un equipo Hummer 6.2 y examinadas y fotografiadas en un microscopio Jeol JSM T-300. Los dibujos fueron hechos mediante una cámara lúcida en un estereoscopio Leica MZ7.5.

Resultados

Morfología floral

Siparuna aspera es una especie dioica. Las flores estaminadas se encuentran en inflorescencias rami- o caulifloras de ca. 4-6 cm largo, cada una hasta con 8 flores. La flor presenta un receptáculo globoso que llega a medir hasta 8-10 mm largo x 7-10 mm diámetro en post-antesis; por encima del receptáculo, las flores tienen un velo o techo floral, con una abertura pequeña u ostíolo en la parte central (Fig. 1A), lo cual es típico en

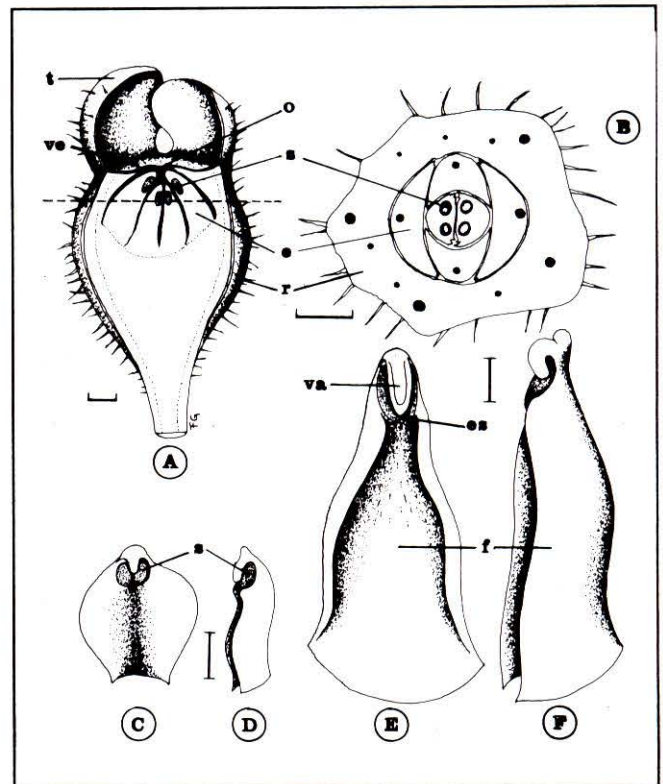


Figura 1. *Siparuna aspera*. A-B. Flor estaminada en corte longitudinal (A) y transversal (B) a la altura de la línea marcada en A, que indica la disposición de las anteras dentro del receptáculo floral. C-D. Estambres en preantesis. C. Vista adaxial; D. Vista lateral. E-F. Estambres en anthesis. E. Vista adaxial; F. Vista lateral. e= estambre; es= estomio; f= filamento; o= ostíolo; r= receptáculo; s= saco polínico; t= tépalo; va= valva; ve= velo o techo floral. Escalas= 1 mm.

Siparuna. Los tépalos son cuatro, oblongo-triangu-lares y de 5-8 mm x 4-6 mm en antesis (Fig. 1A). En el interior del receptáculo se presentan seis estambres en tres verticilos (uno externo, uno intermedio y uno interno) de dos estambres cada uno; los estambres de cada par se encuentran opuestos entre sí y se disponen de forma decusada (Figs. 1 A, B, 2B-D, F-H). Los verticilos de estambres se desarrollan en dirección centrípeta (Fig. 2 A-D, F-H). Durante la antesis, solamente los estambres de los verticilos externo y medio sobresalen a través del ostiolo; los dos estambres internos permanecen en el

interior del receptáculo o sobresalen muy levemente en estado de post-antesis. Hacia el ápice floral se alcanza a formar una estructura que parece corresponder a un estilo vestigial (Fig. 2A).

Los estambres de *Siparuna aspera* son laminares, anchos y están formados en su mayor parte por filamento-conectivo (Figs. 1 C-F, 2 E-I), en cuyo parénquima se encuentran dispersos algunos idioblastos con aceites esenciales (Fig. 3 A). Cada antera tiene dos tecas uniesporangias (Figs. 1 B, 3 A) ya que los sacos polínicos ventrales

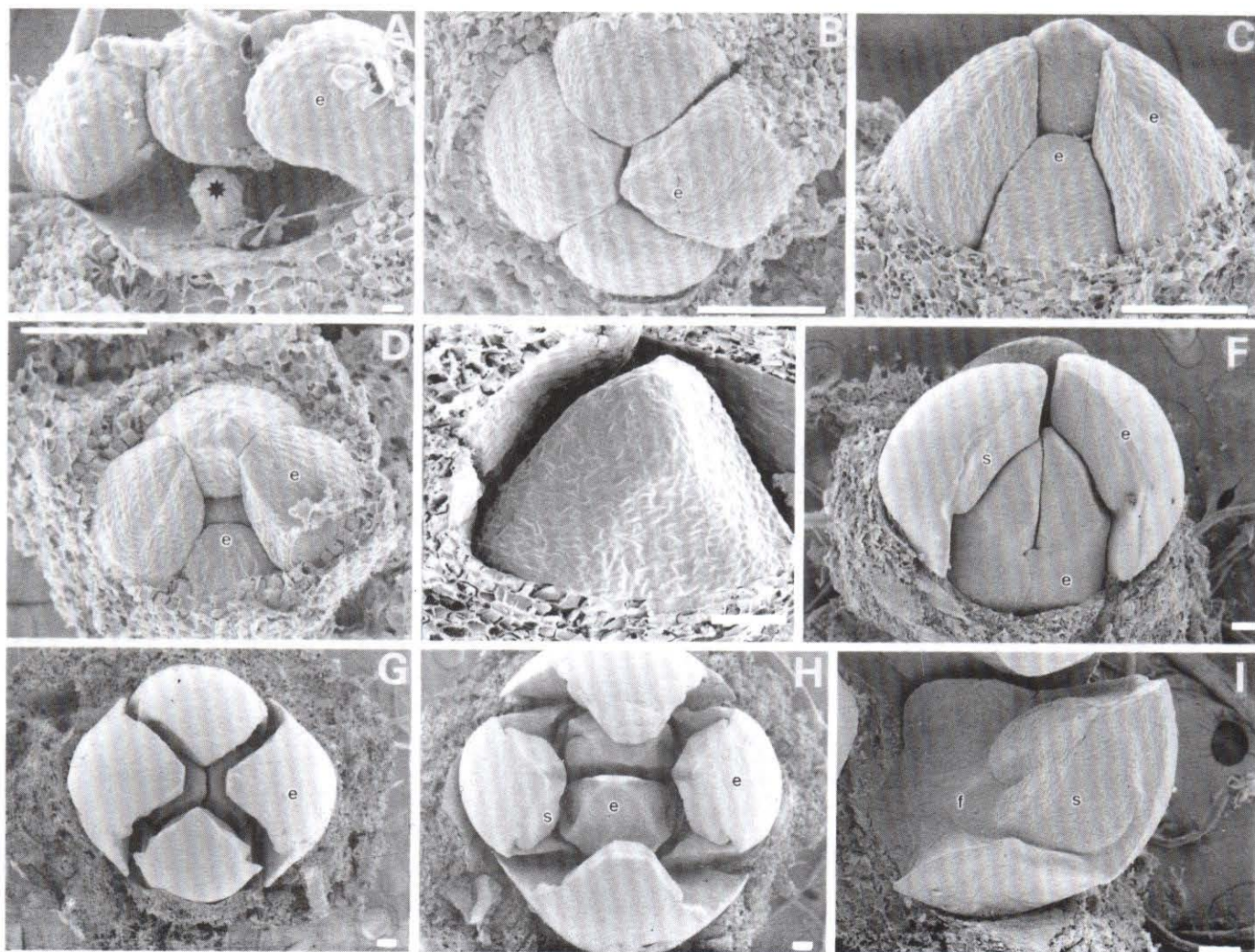


Figura 2. *Siparuna aspera*, desarrollo de la flor estaminada; el receptáculo ha sido removido (imágenes al MEB). **A.** Botón floral en corte longitudinal, con tres primordios de estambres y un posible estilo vestigial (*). **B.** Estambres externos y medios, vista superior. **C-D.** Tres verticilos de estambres, un estambre externo removido, vista lateral (**C**) y superior (**D**). **E.** Primordio estaminal antes de la formación de los sacos polínicos, vista lateral. **F.** Tres verticilos de estambres diferenciados en filamento y sacos polínicos, un estambre externo removido, vista lateral. **G-H.** Tres verticilos de estambres diferenciados en filamento y sacos polínicos, vista superior. **I.** Estambre diferenciado, vista superior. e= estambre; f= filamento; s= saco polínico. Escalas: 50 µm en A-E; 100 µm en F, I; 500 µm en G, H.

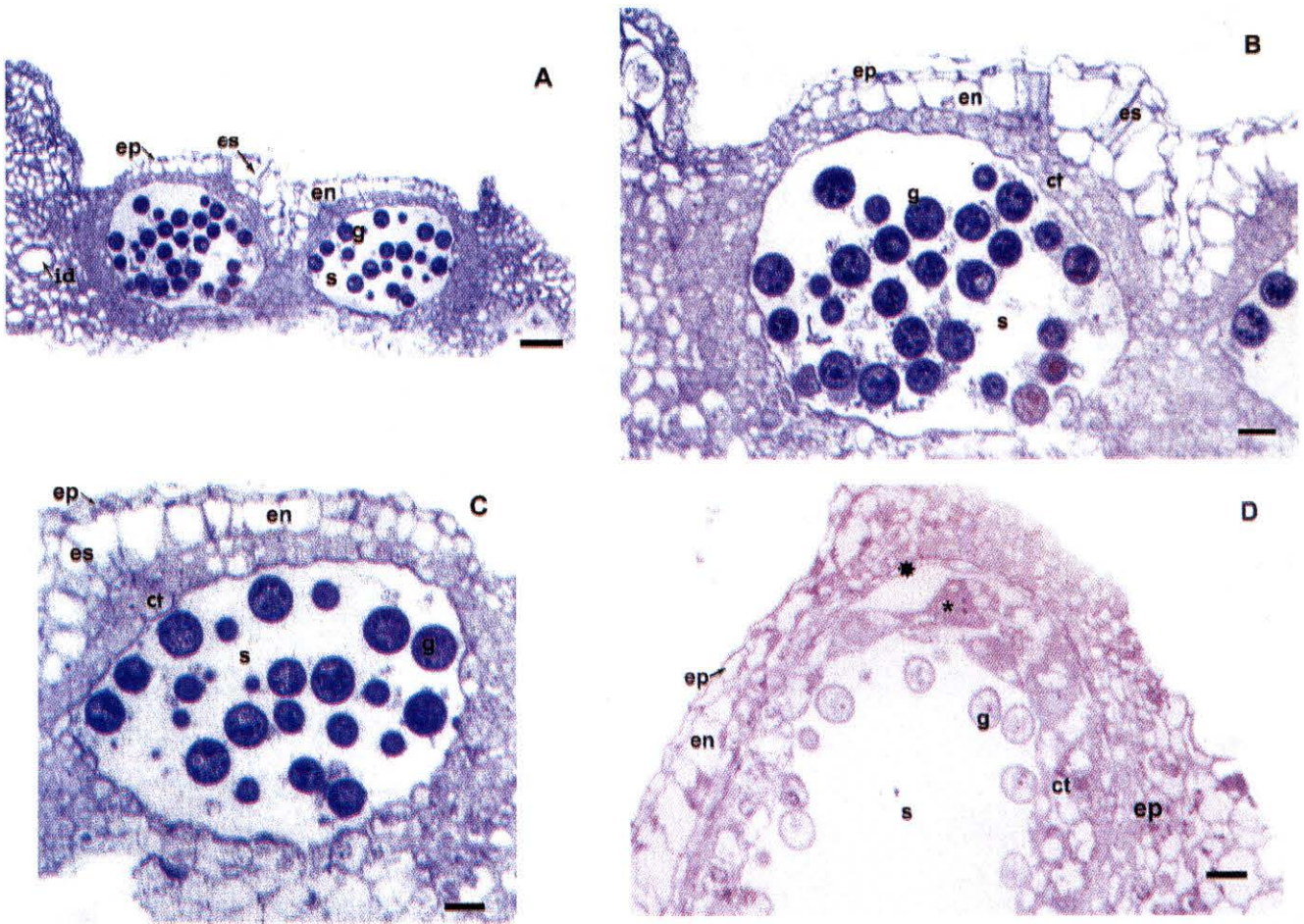


Figura 3. *Siparuna aspera* (imágenes al ML). **A.** Sección transversal de una antera joven a nivel de los sacos polínicos. **B-C.** Detalles de un saco polínico joven. **D.** Corte longitudinal de un saco polínico maduro. ct = células del tapete; ep = epidermis; en = endotecio; es = estomio; g = grano de polen; id = idioblasto; s = saco polínico; * célula binucleada del tapete; * capa intermedia. Escalas: 4.5 μ m en A; 1.8 μ m en B; 16 μ m en C; y 20 μ m en D.

de cada teca están suprimidos. Los sacos polínicos se forman en la parte adaxial y apical del estambre (Fig. 2 I); las anteras son introrsas (Figs. 1 A, C-F, 2 F-I). La dehiscencia es valvada, pero hay una única valva para los dos sacos polínicos (Fig. 1 C-F). La valva cuelga apicalmente luego de la dehiscencia, dejando un único estomio para la liberación del polen. En el momento de la dehiscencia, los estambres sobrepasan el techo floral y se hacen visibles desde el exterior a través del ostiolo.

Anatomía de la antera

Existe solamente un haz vascular por estambre, el cual es visible a lo largo del filamento, pero no llega a la altura de los sacos polínicos (Fig. 1 B). La pared de la antera

consta de epidermis, endotecio, una capa "intermedia" y un tapete (Figs. 3, 4 A). La epidermis es uniestratificada, persistente y está formada por células aplanadas tangencialmente (Fig. 3). Inmediatamente por debajo de esta capa se encuentra un endotecio ubicado únicamente en la zona adaxial de los sacos polínicos, el cual es fibroso y uniestratificado en casi toda su extensión (Fig. 3), aunque hacia el ápice de los sacos polínicos tiende a estratificarse hasta en cinco capas; la capa externa del endotecio es elongada radialmente y presenta paredes anticlinales particularmente engrosadas a lo largo del estomio (Fig. 3 A-C). La parte basal de cada saco polínico posee su propio endotecio, pero hacia la parte apical se forma una sola capa que recorre de forma continua la zona

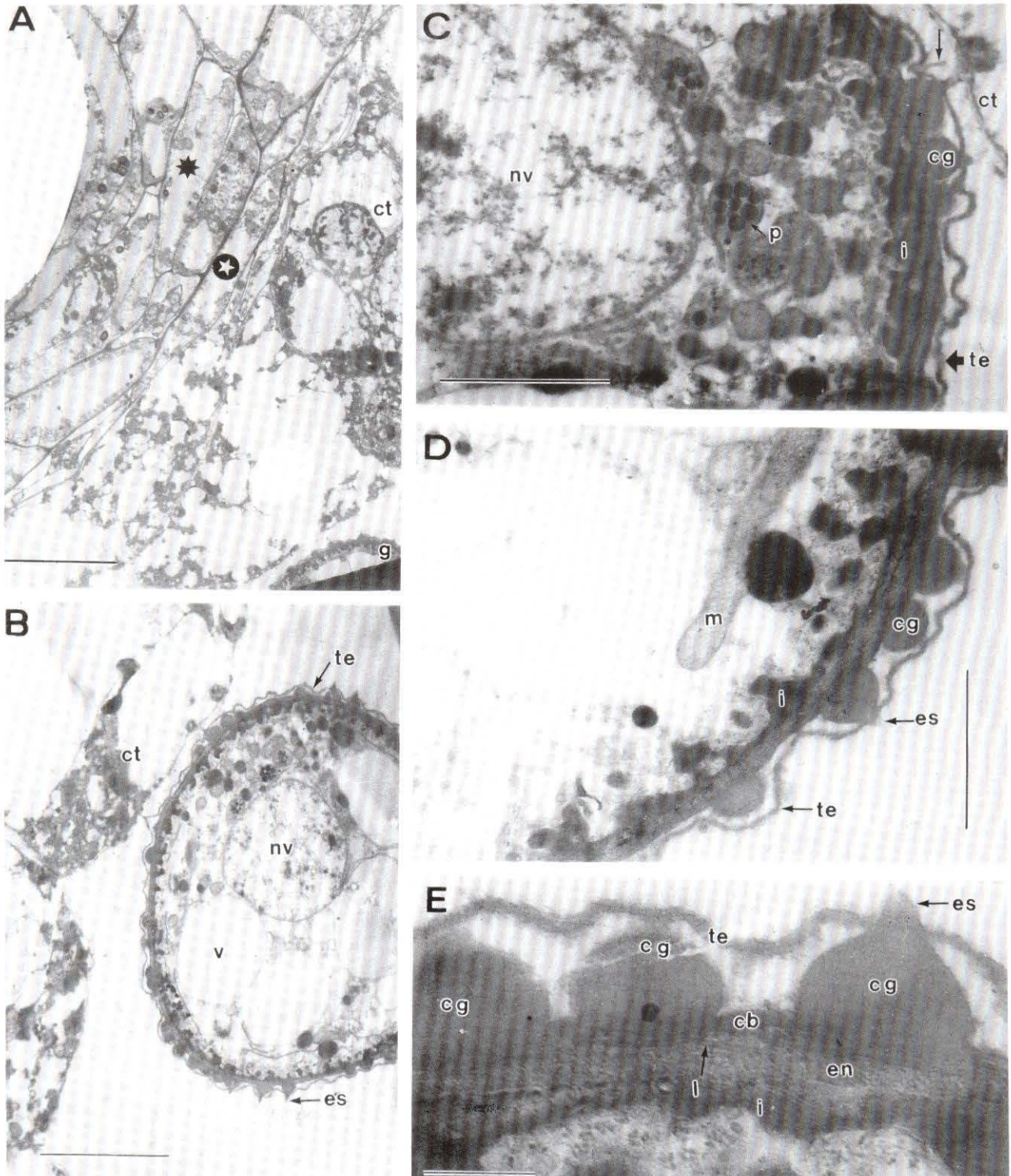


Figura 4. *Siparuna aspera* (imágenes al MET). **A.** Sección transversal de la pared de la antera, a nivel del endoteco (*), capa intermedia (⊕), tapete (ct) y polen maduro (g). **B.** Detalle de células tapéticas (ct) y de un grano de polen (g). **C.** Sección del polen a nivel del núcleo vegetativo; la flecha superior indica un filamento aislado. **D.** Sección de la pared del polen. **E.** Detalle de la pared del polen; cb = capa basal; cg = columna globular; ct = célula del tapete; es = espina supratactal; i = intina; l = lamela; m = mitocondria; nv = núcleo vegetativo; p = plastidio; te = tectum; v = vacuola. Escalas: 8 μ m en A; 5 μ m en B; 3 μ m en C; 2 μ m en D; y 0.5 μ m en E.

adaxial de los dos sacos polínicos (Fig. 3 A-C). En la parte interna de cada saco hay una capa "intermedia", uni- o biestratificada, es comprimida y está formada por células efímeras, fusiformes (Figs. 3D, 4A); a diferencia del endotecio, la capa intermedia rodea completamente al saco polínico.

El tapete en angiospermas es una capa de células localizada entre el endotecio y el tejido esporógeno, que funciona como fuente de nutrientes durante el desarrollo del polen, así como de precursores de la exina, y de lípidos y proteínas que acompañan a la exina; además, parece que desempeña funciones importantes en la dispersión (Pacini & Franchi, 1993; Hesse, *et al.* 1993; Pacini, 1997) y la pigmentación (Beerhues *et al.* 1993) del polen. Existen tres tipos fundamentales de tapete: el secretor, también llamado glandular o parietal, en el cual permanece una capa de células tapéticas más o menos intacta alrededor del lóculo, la cual se degrada en estados relativamente tardíos del desarrollo del saco polínico; el plasmodial o ameboide, en el cual las paredes de las células tapéticas se degradan y se forma un plasmodio multinucleado luego de la fusión de los protoplastos; y el invasivo, no-sincítico, en el cual las paredes de las células tapéticas se desintegran y los protoplastos invaden el lóculo de la antera sin fusionarse en un plasmodio único (Pacini *et al.* 1985; Furness & Rudall, 2001 a, b). De acuerdo a esta clasificación, el tapete en *Siparuna aspera* es secretor (también llamado glandular o parietal) y está constituido por una capa irregularmente uni- o biestratificada (Figs. 3, 4 A-B), con células usualmente binucleadas (Fig. 3 D). Cuando los granos de polen ya se han formado e individualizado, el tapete se ha degradado casi por completo (Fig. 3 D).

Ultraestructura del polen

El polen de *Siparuna aspera* se presenta en mónadas globosas, inaperturadas, equinadas, y de ca. 16-17.5 μm de diámetro (Figs. 3, 4 A, B).

La exina está diferenciada en sexina y nexina. La sexina posee dos capas: un tectum ondulado, continuo, granular y delgado, con un espesor de 50-120 nm (Fig. 4 B-E); y una capa formada por columnelas con un espesor de 740-800 nm, cuyos extremos distales se proyectan a manera de espinas a través del tectum, por lo cual el polen adquiere la escultura equinada característica (Fig. 4); las columnelas son discretas y poseen un cuerpo globoso de 570-600 nm de espesor (Fig. 4 B-E). Adicionalmente, la parte externa del tectum presenta unas pocas estructuras diminutas a manera de filamentos y espinas aisladas (Fig. 4 C) hasta de 720-730 nm. En los sitios de intrusión del

tectum, la parte interna de éste alcanza a entrar en contacto con la capa basal de la nexina (Fig. 4 C-D).

La nexina está diferenciada en capa basal (foot layer) y endexina. La capa basal es continua, delgada, posee un espesor de 75-100 nm, y está dispuesta inmediatamente por debajo de las columnelas (Fig. 4 E). La parte interna de la capa basal es laminar pero con una electrodensidad bastante similar a la de la parte externa; algunas de estas láminas penetran la endexina (Fig. 4 E). La endexina, con un espesor de 120-220 nm, se ubica inmediatamente por debajo de la capa basal, es continua, granular y presenta una electrodensidad menor a la de las demás capas de la exina (Fig. 4 E).

La intina está compuesta por una capa de alta electrodensidad, cuyo borde interno es bastante irregular, ya que presenta prolongaciones que invaden el citoplasma polínico. El espesor de la intina varía de 126-620 nm (Fig. 4 C-E).

El citoplasma de los granos de polen es altamente vacuolizado. Además, tiene plastidios con reservas electrodensas, las cuales pueden corresponder a inclusiones lipídicas (Fig. 4 C). Se observan mitocondrias de distintos tamaños, a las cuales se adhieren cuerpos conspicuamente electrodensos (Fig. 4 D). Hacia la periferia del citoplasma se encuentran agrupaciones de retículo endoplásmico, asociado con numerosos ribosomas, en el límite con la capa intrusiva de la intina.

Discusión

Nuestras observaciones de las flores estaminadas de *Siparuna aspera* corroboran las características morfológicas señaladas por Renner *et al.* (1997) para *Siparuna* en general, y que pueden ser sinapomorfias del clado *Glossocalyx* + *Siparuna*. Estas son: velo o techo floral, estambres sin apéndices (varios miembros del orden Laurales presentan apéndices en la base del filamento; Tabla 1; la homología de éstos, sin embargo, no es clara; cf. Sampson, 1969), y anteras di-esporangiadas, dehiscentes por medio de una única valva. Este último carácter requiere confirmación en *Glossocalyx*, ya que Perkins (1925, citado por Endress & Hufford, 1989), menciona la presencia de dos valvas por antera.

La construcción floral especializada en *Siparuna* y *Glossocalyx*, que consiste en la presencia de un receptáculo cupuliforme o urceolado que encierra parcial- o completamente los verticilos sexuales, es un indicio adicional de una relación filogenética cercana entre estos dos géneros. Sin embargo, este mismo tipo de receptáculo se presenta en

Tabla 1. Comparación de los caracteres relacionados con la expresión sexual, la morfología floral, el androceo, el tapete y el polen de varios miembros del orden Laurales. *Se seleccionaron *Hortonia*, endémico de Sri Lanka, y *Peumus*, endémico de Chile, debido a que estos géneros han sido considerados basales dentro de las Monimiaceae s. l. (Johri et al. 1992) o como ramas basales dentro de las Monimiaceae s. str. (Renner et al. 1997; Renner & Chanderbali, 2000); sin embargo la posición basal de éstos en Renner (1998) es incierta.

Taxon	<i>Siparuna</i>	<i>Glossocalyx</i>	Gomortegaceae	Atherospermataceae	<i>Hortonia</i> *	<i>Peumus</i> *	<i>Hypodaphnis</i>	<i>Hermandia</i>	<i>Gyrocarpus</i>
Sexualidad de la planta o de la flor	Dioicas (algunas spp. monoicas pero con flores unisexuales)	Dioicas	Flores bisexuales	Polígamo-monoicas o dioicas Flores bisexuales (<i>Daphandra</i> , <i>Doryphora</i> , <i>Dryadodaphne</i> y <i>Nemuaron</i>) o unisexuales (<i>Atherosperma</i> y <i>Laurelia</i>)	Flores bisexuales	Dioicas	Flores unisexuales	Monoicas Flores unisexuales	Flores bisexuales
Techo floral	Presente	Presente	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente	?	?	?
No. de piezas del perianto	4-6 (7)	Irregular	5-9 (-10), usualmente 7	Irregular	Irregular	Irregular	3	3-6	4-7
Filotaxis del perianto	Verticilada	Verticilada	Espiralada	Espiralada/verticilada	Espiralada	Verticilada	Verticilada	Verticilada	Verticilada
Estambres	Introrsos	Introrsos	Introrsos los externos, latrorsos los medios e internos	Introrsos, latrorsos, extrorsos	Extrorsos	Introrsos	Introrsos los externos, extrorsos los internos	Introrsos	Extrorsos
Estambres petaloïdes (transicionales entre perianto y estambres)	Ausentes	?	Presentes	Ausentes	?	?	Ausentes	?	?
Estaminodios internos	Ausentes	?	Presentes	Presentes	Presentes	Presentes	Ausentes	Ausentes	Ausentes
Estambres	Sin apéndices	Sin apéndices	Con apéndices, al menos los internos	Con apéndices	Con apéndices	Con apéndices	Con apéndices	Con apéndices	Con apéndices
No. y filotaxis de los estambres	(1-)5-9(-70) verticiladas (espiraladas?)	Numerosos, verticilados	7-13 espiralados	2-13 Espiralados/verticilados	? Espiralados	? ?	9, verticilados	? Verticilados	? Verticilados
Dehiscencia de las anteras	Univalvada	Univalvada	Bivalvada	Bivalvada	Longitudinal	Longitudinal	Bivalvada	Bivalvada	Bivalvada

Sacos polínicos	2	2	2	2	4	4	4	2	2
Tapetum	Secretor	?	?	Plasmoidal (<i>Atherosperma</i>); secretor (<i>Daphmandra</i> , <i>Doryphora</i> , <i>Dryadodaphne</i> y <i>Laurelia</i>)	?	Secretor	Plasmoidal	Plasmoidal	Plasmoidal
Forma del polen	Globosa	Globosa	Globosa	Globosa a globosa- elipsoide	Globosa	Globosa	?	Globosa	Globosa
Tamaño del polen	< 20 µm	< 20 µm	21-49 µm	21-49 µm	21-49 µm	21-49 µm	?	90-160 µm	35-45 µm
Apertura del polen	Inaperturado- omniaperturado	Inaperturado- omniaperturado	Inaperturado	Sulcado	Inaperturados	Inaperturado	Inaperturado- omniaperturado	Inaperturado- omniaperturado	Inaperturado
Tectum	Continuo	Continuo	Continuo	Perforado a semitectado	Continuo	Continuo	?	Reducido	?
Infratectum	Columnelar	Columnelar	Columnelar	Columnelar	?	Intermedio	?	Granular	?
Columnelas	Globosas- cónicas	Globosas- cónicas	Cortas	Capitadas y radialmente alargadas (= procesos radiales = báculas)	?	-	?	-	?
Capa basal (foot layer)	Presente	Presente	Ausente	Presente	?	Ausente	?	Presente	?
Referencia	Este trabajo; Endress, 1980; Philipson, 1993; Pignal <i>et al.</i> 1999.	Philipson, 1993; Renner, 1998; Pignal <i>et al.</i> 1999; Doyle & Endress, 2000.	Brizicky, 1959; Muñoz- Pizarro, 1959; Rodríguez <i>et al.</i> 1983; Kubitzki, 1993; Takhtajan, 1997; Furness <i>et al.</i> 2002.	Sastri, 1963; Sampson, 1969, 1996; Rodríguez <i>et al.</i> 1983; Johri <i>et al.</i> 1992; Takhtajan, 1997; Furness & Rudall, 2001; Furness <i>et al.</i> 2002.	Sampson, 1969; Endress, 1980, 1994; Kubitzki, 1993; Takhtajan, 1997; Doyle & Endress, 2000.	Muñoz- Pizarro, 1959; Sampson, 1969; Cronquist, 1981; Rodríguez <i>et al.</i> 1983; Kubitzki, 1993; Doyle & Endress, 2000.	Kubitzki, 1993, Takhtajan, 1997; Furness <i>et al.</i> 2002	Cronquist, 1981; Endress, 1990; Johri <i>et al.</i> , 1992; Kubitzki, 1993; Heo & Tobe, 1995; Takhtajan, 1997; Sampson, 2000.	Sastri, 1963; Cronquist, 1981; Johri <i>et al.</i> 1992; Kubitzki, 1993; Heo & Tobe, 1995; Takhtajan, 1997; Doyle & Endress, 2000.

varios géneros de Monimiaceae *s. str.*, tales como *Hennecartia*, *Kibara*, *Tambourissia* y *Wilkiea*, con estados transicionales (flores con receptáculos parcialmente cerrados) en *Hedycarya*, *Palmeria*, *Stegantthera* y *Tetrasyandra* (véase **Perkins**, 1898; **Money et al.** 1950; **Endress**, 1980; **Philipson**, 1993). A este respecto, llama la atención que la presencia de hiperestigma parece estar restringida a los géneros *Faika*, *Hennecartia*, *Kibara*, *Tambourissia* y *Wilkiea* (**Endress**, 1980, 1994; **Endress & Lorence**, 1983), de los cuales los cuatro últimos forman parte de un mismo clado dentro de las Monimiaceae *s. str.* (**Renner**, 1998); esto permite sugerir que esta condición puede ser una sinapomorfia de estos géneros. Todo lo anterior genera preguntas acerca de si esta construcción floral se ha originado independientemente por lo menos dos veces, una en el clado *Siparuna* + *Glossocalyx*, y otra en Monimiaceae *s. str.* Un análisis filogenético más extenso del orden Laurales, incluyendo datos morfológicos y moleculares, permitirá una mejor inferencia acerca de la evolución de dichos caracteres florales.

La distribución de los estambres en tres verticilos de dos estambres cada uno (Figs. 1 A, B, 2 B-D, F-H) no había sido documentada anteriormente en *Siparuna*, aunque **Doyle & Endress** (2000) codificaron los estambres de Siparunaceae como verticilados. Es evidente la semejanza entre este carácter y lo que ocurre en algunas especies de *Kibara* (Monimiaceae-Mollinediidae; véanse especialmente las figs. VII A y B en **Perkins**, 1898). **Renner** (1997:3) describe los estambres de Siparunaceae como “dispersed irregularly in the floral cup”. Por su parte, **Philipson** (1993:428) y **Takhtajan** (1997:55) describen los estambres de Monimiaceae *s. l.* como “dispersed over the inner surface of the receptacle, or fewer and sometimes in one or more tetramerous whorls” y **Pignal et al.** (1999:210) como “insérés en spirale”. El estudio de la ontogenia floral de otras especies de *Siparuna* con un número mayor de estambres aportará datos adicionales acerca de si los estambres espiralados o “dispersos” son derivados de un plan de organización básico similar al observado en *S. aspera*.

Nuestras observaciones acerca de la morfología de los estambres individuales de *Siparuna aspera* (estambres con dos sacos polínicos cada uno, filamentos laminares, engrosados, poco diferenciados de las anteras, y sin apéndices, endotecio independiente en la base de cada saco polínico pero continuo en la región apical de los sacos, y dehiscencia introrsa, valvada por medio de un único estomio) coinciden con los datos previamente descritos por **Endress & Hufford** (1989) en *S. nicaraguensis* Hemsl. y por **Doyle & Endress** (2000) para las Siparunaceae en general. La dehiscencia de las anteras en *Siparuna* es morfológicamente

introrsa, aunque la constricción que sufren las anteras al sobresalir a través del velo o techo floral, puede cambiar la orientación original de las anteras hasta secundariamente latrorsas.

Una comparación de caracteres relacionados con la morfología del androceo y del polen (Tabla 1) sugiere diferencias importantes entre Siparunaceae y Monimiaceae *s. str.* Entre éstos se pueden mencionar la presencia en varios géneros de Monimiaceae *s. str.* (p. ej. *Hortonia* y *Peumus*), de apéndices estaminales, anteras con dehiscencia longitudinal y 4 sacos polínicos cada una, estaminodios internos y polen de tamaño mediano (Tabla 1).

La correlación entre dehiscencia valvada de las anteras y la reducción a dos sacos polínicos por antera (uno por cada teca) en *Siparuna* se presenta también en Atherospermataceae, Gomortegaceae y Hernandiaceae (**Endress & Hufford**, 1989) y podría aportar información adicional en la exploración de las relaciones entre estas familias. Sin embargo, es de anotar que en Atherospermataceae, Gomortegaceae, Hernandiaceae y quizás en el otro miembro de las Siparunaceae, *Glossocalyx* (**Perkins**, 1925, citado por **Endress & Hufford**, 1989), hay dos valvas por antera a diferencia de *Siparuna*, donde hay una sola. Finalmente, la presencia de un saco polínico por teca en distintos clados de las filogenias recientes del orden Laurales (**Renner**, 1998; **Renner et al.** 1997; **Renner & Chanderbali**, 2000) hace pensar que este carácter ha evolucionado independientemente por lo menos tres veces, una en el clado *Siparuna* + Atherospermataceae + Gomortegaceae, otra en *Monimia* (Monimiaceae *s. str.*) y otra en varios miembros de las Lauraceae. Estos mismos análisis moleculares cuestionan las opiniones de **Money et al.** (1950) y **Schodde** (1970) de que la similitud morfológica de los estambres de Atherospermataceae y Siparunaceae se ha originado de forma independiente en ambas familias.

Las anteras con un único saco polínico por teca están frecuentemente correlacionadas con procesos de especialización de biología floral (**Endress & Stumpf**, 1990). Tal parece ser el caso en *Siparuna*, en donde algunas especies son polinizadas por insectos correspondientes a varios géneros de la familia Cecidomyiidae (Diptera), entre otros; estos insectos usan las flores estaminadas de *Siparuna* como sitio de oviposición (**Feil**, 1992). Sin embargo, este tipo de polinización al parecer ocurre en otros miembros del orden Laurales, tales como en varias especies de *Tambourissa* (Monimiaceae *s. str.*), cuyos posibles polinizadores son dípteros de las familias Drosophilidae, Lauxaniidae y Syrphidae (**Endress & Lorence**, 1983).

Renner & Feil (1993) señalaron que los caracteres relacionados con la morfología floral de *Siparuna* y asociada a insectos pequeños no especializados, pueden ser factores importantes en la evolución de plantas dioicas en ecosistemas tropicales. No obstante, parece ser que la condición dioica ha evolucionado independientemente varias veces en Siparunaceae (**Renner & Won**, 2001) e incluso en especies anemófilas de Monimiaceae *s. str.*, como p. ej. *Hedycarya arborea* (**Sampson**, 1977). En nuestro estudio fue común encontrar larvas de insectos (posiblemente dípteros) asociadas al parénquima de los estambres y del receptáculo en *Siparuna aspera*. Esto sugiere que se trata de un síndrome de polinización de común ocurrencia en el género, ya que **Feil** (1992) detectó dicha asociación en otras especies de *Siparuna*.

Se describe por primera vez el tipo de tapete en *Siparuna*, el cual es secretor (también llamado glandular o parietal). Este tipo de tapete es muy común en angiospermas basales (**Johri et al.** 1992; **Furness & Rudall**, 2001 a, b; **González et al.** 2001, entre otros). Sin embargo, otras angiospermas basales presentan tapete plasmodial o aún invasivo. Hay tapete plasmodial en varias monocotiledóneas (algunas Alismatiáceas, Araceae y Poaceae; **Furness & Rudall**, 2001 b) y en miembros de los órdenes Laurales (*Atherosperma*, Hernandiaceae y varios géneros de Lauraceae, incluido *Hyphodaphnis*; **Sastri**, 1963; **Heo & Tobe**, 1995; véase revisión en **Furness & Rudall**, 2001 a), Magnoliales (varias Annonaceae incluidas *Annona* y *Polyalthia*; **Bhandari**, 1971) y quizás Winterales (*Pseudowintera*; **Bhandari**, 1963). Tapete invasivo, el menos común de todos, ha sido detectado en *Nymphaea* (Nymphaeaceae), *Anaxagorea* y *Asimina* (Annonaceae; **Gabarayeva**, 1993, 1995), *Tambourissa* (Monimiaceae; véase revisión en **Furness & Rudall**, 2001 a) y *Tasmania* (Winteraceae; **Furness & Rudall**, 2001 a). Por lo tanto, el orden Laurales presenta los tres tipos de tapete, aunque en Monimiaceae, Siparunaceae y la mayoría de Atherospermataceae es glandular. En Hernandiaceae y Lauraceae existe una gran cantidad de casos conocidos de tapete plasmodial. Desafortunadamente, el tipo de tapete es desconocido en Gomortegaceae, *Glossocalyx* y otras especies de *Siparuna*, lo cual impide el uso de este carácter para discutir más en detalle las relaciones filogenéticas de las Siparunaceae. A pesar de esto, la presencia de tapete glandular en Atherospermataceae, *Hedycarya* (Monimiaceae *s. str.*), Calycanthaceae (**Furness & Rudall**, 2001 a), y por lo menos *Siparuna aspera*, hace pensar que se trata de una condición plesiomórfica en estas familias. En tal caso, habría ocurrido una transformación a tapete plasmodial en Hernandiaceae y en muchas Lauraceae, lo cual puede ser evidencia adicional que

sustente una relación de grupos hermanos entre estas dos familias.

Erdtman (1966) y **Schodde** (1970) mencionaron que *Siparuna* tiene granos de polen intectados. Por el contrario, nuestros resultados indican que hay tectum, lo cual coincide con lo observado por **Walker** (1976 a); además, observamos que el tectum es continuo tal como fue descrito por **Pignal et al.** (1999) y **Doyle & Endress** (2000). El tectum continuo dispuesto a manera de *velum* sobre dichas columnelas, parece ser único en *Siparuna* y *Glossocalyx*.

Existe controversia respecto a las demás capas de la esporodermis en Monimiaceae y Siparunaceae. **Walker** (1976b) considera que los cuerpos globosos con procesos apicales equinados (= columnelas granulares *sensu* **Pignal et al.** 1999) presentes en *Siparuna* corresponden a endexina. Cuerpos similares son hallados por lo menos en *Hedycarya* y *Tetrasyandra* (**Sampson**, 1997). No obstante, **Sampson** (1997) considera que dichos cuerpos no corresponden a columnelas, sino a gemas tectales, y que las Monimiaceae australianas estudiadas por él carecen de capa basal y de endexina, a diferencia de otros géneros de Monimiaceae estudiados (**Sampson**, 1996). Nuestra interpretación coincide parcialmente con la de **Pignal et al.** (1999), en cuanto a la zonificación de la esporodermis de *Siparuna* en sexina y nexina. Sin embargo, detectamos que la sexina no está zonificada en tres estratos (tal como lo describen **Pignal et al.**), sino únicamente en dos capas: (a) un tectum continuo (*velum sensu* **Walker**, 1976 b); y (b) una capa de cuerpos globosos que pueden corresponder a columnelas, y que se extienden en un ápice equinado que atraviesa al tectum. Lo anterior deja en claro que se hace necesario un estudio comparativo detallado que incluya un mayor muestreo, a fin de precisar la homología de cada una de las capas mencionadas.

Según lo discutido en el párrafo anterior, es posible que el polen microequinado en *Siparuna* y *Glossocalyx*, no sea estructuralmente comparable con el polen microequinado presente en Gomortegaceae, Lauraceae y miembros de Atherospermataceae y Hernandiaceae subfam. Gyrocarpoideae (**Walker**, 1976b; **Pignal et al.** 1999). De acuerdo a **Kubitzki** (1993) los granos de polen de las Hernandiaceae son más afines a los de Lauraceae que a los de Monimiaceae *s. l.*

Conclusión

Las flores estaminadas de *Siparuna aspera* poseen 6 estambres dispuestos en 3 verticilos (externo, medio e interno), los cuales se desarrollan en dirección centrípe-

ta; los estambres son opuestos y decusados. Se encontró una estructura en el centro de las flores estaminadas, que puede corresponder a un estilo vestigial. La morfología general de los estambres coincide con la observada en otras especies de *Siparuna*. Se describe por primera vez la estructura del tapete en este género, el cual es de tipo glandular.

Los granos de polen de la especie estudiada son globosos, equinados, inaperturados, tectados, y su exina está diferenciada en sexina y nexina. La sexina presenta un tectum ondulado, continuo, granular y delgado, y una capa formada por columnelas globoso-cónicas cuyos ápices atraviesan el tectum y forman una escultura equinada. La nexina es continua y está diferenciada en una capa basal lamelar, y una endexina granular. La intina está compuesta por una capa continua con el borde interno bastante irregular. La coincidencia de estos caracteres con los de otras especies de *Siparuna* previamente estudiadas, y con lo que ocurre en *Glossocalyx*, permiten sugerir que estos caracteres palinológicos sustentan una relación filogenética estrecha entre estos dos géneros.

Debido al conflicto en la interpretación de los caracteres florales y palinológicos de Siparunaceae, Monimiaceae, Atherospermataceae, Gomortegaceae y Hernandiaceae, y a la ausencia de información en varios aspectos (Tabla 1), se hace necesario proseguir con estudios comparativos que incluyan un mayor muestreo a fin de establecer las homologías respectivas y la evolución de estos caracteres dentro del orden Laurales. En particular, se recomienda realizar: (a) estudios en la ontogenia de estructuras tales como el perianto, las anteras, los apéndices estaminales y el androceo en general; (b) estudios de la ultraestructura de la pared de la antera y del polen; y (c) un análisis filogenético amplio de estos grupos empleando caracteres morfológicos.

Literatura citada

- Beerhues, L., M. Rittscher, H. Schöpker, C. Schwerdtfeger & R. Wiermann. 1993. The significance of the anther tapetum in the biochemistry of pollen pigmentation. *Plant Syst. Evol. (Suppl.)* 7: 117-125.
- Bhandari, N.N. 1963. Embryology of *Pseudowintera colorata* – a vesseless dicotyledon. *Phytomorphology* 13: 303-316.
- . 1971. Embryology of the Magnoliales and comments on their relationships. *J. Arnold Arbor.* 52: 1-39, 285-304.
- Brizicki, G.K. 1959. Variability in the floral parts of *Gomortega* (Gomortegaceae). *Willdenowia* 2: 200-207.
- Doyle, J.A. & P.K. Endress. 2000. Morphological phylogenetic analysis of basal angiosperms: comparison and combination with molecular data. *Int. J. Plant Sci.* 161 (Suppl.): S121-S153.
- Endress, P.K. 1972. Zur vergleichenden Entwicklungsmorphologie, Embryologie und Systematik bei Laurales. *Bot. Jahrb. Syst.* 92: 331-428.
- . 1980. Ontogeny, function and evolution of extreme floral constructions in Monimiaceae. *Plant Syst. Evol.* 134: 79-120.
- . 1990. Patterns of floral construction in ontogeny and phylogeny. *Biol. J. Linn. Soc.* 39: 153-175.
- . 1994. Diversity and evolutionary biology of tropical flowers. *Cambridge Tropical Biology Series*, Cambridge, U.K.
- . 1996. Diversity and evolutionary trends in angiosperm anthers. In W.G. D'Arcy & R.C. Keating (eds.), *The anther: form, function and phylogeny*. Cambridge University Press, Cambridge, Pp. 92-110.
- & D.H. Lorence. 1983. Diversity and evolutionary trends in the floral structure of *Tambourissa* (Monimiaceae). *Plant Syst. Evol.* 143: 53-81.
- & L.D. Hufford. 1989. The diversity of stamen structures and dehiscence patterns among Magnoliidae. *Bot. J. Linn. Soc.* 100: 45-85.
- & S. Stumpf. 1990. Non-tetrasporangiate stamens in the angiosperms: structure, systematic distribution and evolutionary aspects. *Bot. Jahrb. Syst.* 112: 193-240.
- Erdtman, G. 1966. *Pollen morphology and plant taxonomy. I. Angiosperms*. New York, Haffner.
- Feil, J.P. 1992. Reproductive ecology of dioecious *Siparuna* (Monimiaceae) in Ecuador – A case of gall midge pollination. *Bot. J. Linn. Soc.* 110: 171-203.
- Furness, C.A. & P.J. Rudall. 1998. The tapetum in monocotyledons: structure and systematics. *Bot. Rev.* 64: 201-239.
- & ———. 1999. Microsporogenesis in monocotyledons. *Ann. Bot.* 84: 475-499.
- & ———. 2000. The systematic significance of simultaneous cytokinesis during microsporogenesis in monocotyledons. In K.L. Wilson & D.A. Morrison (eds.), *Monocots: systematics and evolution*. Collingwood: Victoria, Australia, CSIRO Publishing, 189-193.
- & ———. 2001 a. The tapetum in basal angiosperms: early diversity. *Int. J. Plant Sci.* 162: 375-392.
- & ———. 2001 b. Pollen and anther characters in monocot systematics. *Grana* 40: 17-25.
- , ——— & F.B. Sampson. 2002. Evolution of microsporogenesis in angiosperms. *Int. J. Plant Sci.* 163: 235-260.
- Gabarayeva, N. 1993. Sporoderm development in *Asimina triloba* (Annonaceae). II. The developmental events after callose dissolution. *Grana* 32: 210-220.
- . 1995. Pollen wall and tapetum development in *Anaxagorea brevipes* (Annonaceae): sporoderm substructure, cytoskeleton, sporopollenin precursor particles, and the endexine problem. *Rev. Paleobot. Palynol.* 85: 123-152.
- González, F., P.J. Rudall & C. Furness. 2001. Microsporogenesis and systematics of Aristolochiaceae. *Bot. J. Linn. Soc.* 137: 221-242.

- Heo, K. & H. Tobe.** 1995. Embryology and relationships of *Gyrocarpus* and *Hernandia* (Hernandiaceae). *J. Plant Res.* **108**: 327-341.
- Hesse, M., E. Pacini & M. Willemsse** (eds.) 1993. The tapetum: cytology, function, biochemistry and evolution. *Plant Syst. Evol.*, Suppl. 7.
- Hufford, L.** 1996. The origin and early evolution of angiosperm stamens. In W.G. D'Arcy & R.C. Keating (eds.), *The anther: form, function and phylogeny*. Cambridge University Press, Cambridge, Pp. 58-91.
- Johri, B.M., K.B. Ambegaokar & P.S. Srivastava.** 1992. Comparative embryology of angiosperms. Springer-Verlag, Berlín.
- Kubitzki, K.** 1993. Gomortegaceae. In K. Kubitzki, J.G. Rohwer & V. Bittrich (eds.), *The families and genera of vascular plants*, **2**: 318-320. Springer-Verlag, Berlín.
- Le Thomas, A.** 1988. Variation de la region aperturale dans le pollen des Annonacees. *Taxon* **37**: 644-656.
- Money, L.L., I.W. Bailey & B.G.L. Swamy.** 1950. The morphology and relationships of the Monimiaceae. *J. Arnold Arbor.* **31**: 362-404.
- Muñoz-Pizarro, C.** 1959. Sinopsis de la Flora de Chile. Ediciones de la Universidad de Chile, Santiago de Chile.
- Pacini, E.** 1997. Tapetum character states: analytical keys for tapetum types and activities. *Can. J. Bot.* **75**: 1448-1459.
- _____ & **G.G. Franchi.** 1991. Diversification and evolution of the tapetum. In S. Blackmore & S.H. Barnes (eds.), *Pollen and spores – patterns of diversification*, pp. 301-316. Oxford: Systematics Association, Clarendon Press.
- _____ & _____. 1993. Role of the tapetum in pollen and spore dispersal. *Plant Syst. Evol.* (Suppl.) **7**: 1-11.
- _____, _____ & **M. Hesse.** 1985. The tapetum: its form, function and possible phylogeny in Embryophyta. *Plant Syst. Evol.* **149**: 155-185.
- Perkins, J.R.** 1988. Beiträge zur Kenntnis der Monimiaceae. I. Über die Gliederung der Gattungen der Mollinediaceae. *Bot. Jahrb. Syst.* **25**: 547-577.
- Philipson, W.R.** 1993. Monimiaceae. In K. Kubitzki, J.G. Rohwer & V. Bittrich (eds.), *The families and genera of vascular plants*, **2**: 426-437. Springer-Verlag, Berlín.
- Pichon, M.** 1948. Les Monimiacées, famille hétérogène. *Bull. Mus. Hist. Nat. Paris*, ser. 2, **20**: 383-384.
- Pignal, M., B. Lugardon, J. Jérémie & A. Le Thomas.** 1999. Morphologie et ultrastructure du pollen de Siparunaceae (Laurales). *Grana* **38**: 210-217.
- Renner, S.S.** 1998. Phylogenetic affinities of Monimiaceae based on cpDNA gene and spacer sequences. *Perspectives in Plant Ecology, Evolution and Systematics* **1**: 61-77.
- _____ & **A. Chanderbali.** 2000. What is the relationship among Hernandiaceae, Lauraceae, and Monimiaceae, and why is this question so difficult to answer? *Int. J. Plant Sci.* **161** (Suppl.): S109-S119.
- _____ & **F. Feil.** 1993. Pollinators of tropical dioecious angiosperms. *Amer. J. Bot.* **80**: 1100-1107
- _____ & **G. Hausner.** 1997. Siparunaceae. In G. Harling & L. Andersson (eds.), *Flora of Ecuador*, No. 59. Council for Nordic Publications in Botany.
- _____, **A.E. Schwarzbach & L. Lohmann.** 1997. Phylogenetic position and floral function of *Siparuna* (Siparunaceae: Laurales). *Int. J. Plant Sci.* **158** (Suppl.): S89-S98.
- _____ & **H. Won.** 2001. Repeated evolution of dioecy from monoecy in Siparunaceae (Laurales). *Syst. Biol.* **50**: 700-712.
- Reynolds, E.S.** 1963. The use of lead citrate at a high pH as an electron opaque stain in electron microscopy. *J. Cell Biol.* **17**: 208-212.
- Rodríguez, R., O. Matthei & M. Quezada.** 1983. Flora arbórea de Chile. Editorial de la Universidad de Concepción de Chile, Santiago de Chile.
- Sampson, F.B.** 1969. Studies on Monimiaceae. II. Floral morphology of *Laurelia novae-zelandiae* A. Cunn. (subfamily Atherospermatioideae). *New Zealand J. Bot.* **7**: 214-240.
- _____. 1977. Pollen tetrads of *Hedycarya arborea* J.R. et G. Forst. (Monimiaceae)]. *Grana* **16**: 61-73.
- _____. 1996. Pollen morphology and ultrastructure of *Laurelia*, *Laureliopsis* and *Dryadodaphne* (Atherospermataceae [Monimiaceae]). *Grana* **35**: 257-265.
- _____. 1997. Pollen morphology and ultrastructure of Australian Monimiaceae - *Austromatthaea*, *Hedycarya*, *Kibara*, *Leviera*, *Stegantthera* and *Tetrasyandra*. *Grana* **36**: 135-145.
- _____. 2000. Pollen diversity in some modern magnoliids. *Int. J. Pl. Sci.* **161** (suppl.): S193-S210.
- Sastri, R.L.N.** 1963. Studies in Lauraceae. IV. Comparative embryology and phylogeny. *Ann. Bot. (Lond.)* **27**: 425-433.
- Schodde, R.** 1970. Two new suprageneric taxa in the Monimiaceae alliance (Laurales). *Taxon* **19**: 324-328.
- Takhtajan, A.** 1997. Diversity and classification of flowering plants. Columbia University Press, New York.
- Walker, J.W.** 1976a. Comparative pollen morphology and phylogeny of the Ranalean complex. In C.B. Beck (ed.), *Origin and early evolution of angiosperms*. Columbia University Press, New York. Pp. 241-299.
- _____. 1976b. Evolutionary significance of the exine in the pollen of primitive angiosperms. In I.K. Ferguson & J. Muller (eds.), *The evolutionary significance of the exine*. Linnean Society Symposium Series No. 1. Academic Press, London, pp. 251-308.