

Morfología y desarrollo de flores cleistógamas en *Macroptilium fraternum* (Fabaceae)

Susana I. Drewes* & Patricia S. Hoc*

* Departamento de Ciencias Bioógicas, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales (U.B.A.). Pab. 2, 4° piso, Ciudad Universitaria. C.1428EHA, Buenos Aires. Argentina. e-mail: drewes@bg.fcen.uba.ar.

Resumen

Drewes, S. I. & P. S. Hoc. 2000. Morfología y desarrollo de flores cleistógamas en *Macroptilium fraternum* (Fabaceae). *Kurtziana* 28 (2): 229-238.

En este aporte se describen dos tipos de flores (cleistógamas preantesis y pseudocleistógamas), presentadas en inflorescencias de diferente aspecto, observadas en dos poblaciones naturales de *Macroptilium fraternum*, que crecen en condiciones edáficas diferentes. La morfología de ambos tipos de flores en las dos poblaciones es similar, sin embargo, las pseudocleistógamas nunca despliegan sus alas, por lo tanto no exponen la quilla ni permiten que se poseen visitantes florales. En ambos tipos de flores, los tricomas estilares, cuya estructura se describe, son relictos funcionales en la presentación del polen, porque cuando en el capullo el estigma (húmedo papiloso) está receptivo y las anteras están dehiscentes, fluye el exudado estigmático y germinan tanto los granos de polen presentados en estos tricomas como los depositados en el estigma. Con base en lo observado se infiere que los tricomas estilares son un estado plesiomórfico debido a que durante la ontogenia se encuentran completamente desarrollados, en tanto que los tricomas del ovario recién comienzan a diferenciarse. El margen del limbo del estandarte está cubierto con células globosas estriadas cuya función podría ser glandular como se ha observado en flores de Caesalpiniaceae. Debido a que las poblaciones estudiadas en las dos localidades presentaban flores pseudocleistógamas y cleistógamas preantesis, se infiere que las condiciones edáficas no condicionan la producción de los tipos florales en *Macroptilium fraternum*.

Palabras clave: *Macroptilium fraternum*, Fabaceae, cleistogamia, pseudocleistogamia, desarrollo, morfología, Argentina.

Abstract

Drewes, S. I. & P. S. Hoc. 2000. Morphology and development of cleistogamous flowers in *Macroptilium fraternum* (Fabaceae). *Kurtziana* 28 (2): 229-238.

The development of the two kinds of flowers (cleistogamous preanthesis and pseudocleistogamous flowers), found in *Macroptilium fraternum* is described. These two kinds of flowers were presented in different inflorescences of the same plant. Two populations that grow in different soil conditions were studied. The morphology of both kinds of flowers is similar in the analyzed populations, but in the pseudocleistogamous the wings never unfold, so the flower cannot receive visitors. In both kinds of flowers the sculptured stylar trichomes, which present the pollen, here are described, these are functionally relictual. In the bud stage the stigma (wet papillae) start to be receptive, simultaneously, the anthers opens and the stigmatic exudate flows down. The pollen grains covering these trichomes and the stigma, germinate. On the basis of the present observations, it is possible to infer that the stylar trichomes are a plesiomorphic state because during the ontogeny are completely developed when the ovary trichomes start to grow. The margin of the standard's limb is covered with striate papillae which function perhaps should be glandular as it was reported in flowers of Caesalpiniaceae. Here is assumed that the soil doesn't influence the production of both kinds of flowers, because of in the two populations studied, cleistogamous preanthesis and pseudocleistogamous flowers were found.

Key words: *Macroptilium fraternum*, Fabaceae, cleistogamy, pseudocleistogamy, development morphology, Argentina.

Introducción

Kuhn (1867) define por primera vez a las flores cleistógamas como aquellas en las que ocurre autofecundación durante el estadio de capullo. Lord (1981) con base en una importante recopilación bibliográfica, propone un sistema de clasificación de los tipos de cleistogamia existentes en las Angiospermas, condición frecuentemente observada. Varios investigadores (Lindman, 1900; Bacigalupo, 1987 y Drewes, 1995, 1997) han observado la presencia de flores cleistógamas subterráneas en especies de *Macropitium* (Benth.) Urb. Sin embargo, en *M. fraternum* (Piper) Juárez et Pérez, la existencia de flores cleistógamas no había sido registrada hasta que se realizó el estudio de su biología floral y sistema reproductivo (Hoc et al., obs. pers.). En el presente aporte se dan a conocer los resultados de un estudio comparativo de los dos tipos de flores e inflorescencias descubiertas en *M. fraternum* provenientes de poblaciones naturales de las provincias de Salta y Córdoba (Argentina) que exhibían condiciones edáficas completamente diferentes. La población estudiada en Salta crece en ambientes riparios con suelo pedregoso, con escasa cobertura vegetal, mientras que la estudiada en Córdoba, habita en pastizales densos con suelo franco-arcilloso. El objeto de analizar comparativamente las plantas de estas dos localidades, fue determinar si el tipo de suelo condiciona la formación de los tipos florales observados. Además se realiza un minucioso estudio de la morfología y el desarrollo de las inflorescencias y de las flores encontradas en *M. fraternum*, por medio de la microscopía electrónica de barrido aportando caracteres no observados anteriormente en el género.

Materiales y métodos

Se observaron inflorescencias preservadas en alcohol 70% provenientes de poblaciones naturales de *M. fraternum* de las provincias de Salta y Córdoba (Argentina) posteriormente se analizaron exsiccata provenientes de herbarios cuya sigla se indica siguiendo a Holmgren et al. (1990) en el listado del material examinado. En ejemplares seleccionados de distintas procedencias se

realizaron mediciones de las inflorescencias y de las flores.

Para la observación de la morfología y del desarrollo floral, se seleccionaron capullos en distintos estadios y flores en anthesis, bajo el microscopio estereoscópico, se removieron selectivamente las piezas que impedían la visualización de las estructuras a examinar. Para obtener las fotografías con microscopía electrónica de barrido (MEB), el material se deshidrató en una serie creciente de alcohol etílico (80, 90 y 100%), luego se sumergió en acetona 100%, se realizó punto crítico y se metalizó con la aleación oro-paladio.

Material examinado

ARGENTINA. **Prov. Salta.** *Dpto. Rosario de Lerma:* Quebrada del Toro, a lo largo de la ruta 51 (24° 54' S 65° 38' W), Hoc 284 y 351, 27-II-95, 24-IV-95 (BAFC).- *Campo Quijano,* Hoc 71, 72 y 73, 20-II-1988, (BAFC).- *Dpto. La Caldera:* La Caldera, Hoc 79 y 80, 3-III-1988, (BAFC).- *Ídem,* Palacios et al. 781, 25-III-79 (BAFC).- *Dpto. La Capital:* San Lorenzo, Hoc 58, 59 y 62, 20-II-1988 (BAFC).- *Dpto. Cerrillos:* Cerrillos INTA, Schinini 22261, 11-III-1982, (CTES).- **Prov. Córdoba.** *Dpto. Punilla:* Cabalango, 31° 23' S 64° 34' W, Drewes 501, 24-II-1998, (BAFC).

Resultados

La inflorescencia en *Macropitium* es un racimo doble homotético, el eje principal porta brácteas dispuestas helicoidalmente, en cuyas axilas se desarrollan racimos extremadamente reducidos (Fig. 1 A). Cada eje secundario es muy breve y posee varias tríadas de primordios florales, sólo se forman completamente los dos primeros capullos de este eje, en los restantes se suprime el desarrollo dando nectarios extraflorales (Fig. 1 B, C); por lo tanto, en cada racimo aparentemente simple, se observa que el raquis principal exhibe nudos engrosados, en cada uno hay dos flores geminadas y varios nectarios.

Se observó, durante la recolección del material en ambas áreas de estudio, la existencia de diferencias en la presentación de las flores en estos racimos, que luego se analizó en otros

ejemplares herborizados con el fin de confirmar que lo observado fuera una característica común de la especie:

a) Inflorescencias largas (IL): racimos con pedúnculos largos, erectos, exponiendo por encima de la vegetación circundante hasta 11 flores con alas mayores de 5 mm de long. (siempre el ala derecha dispuesta por encima del ala izquierda, semejando la corola de una flor bilabiada), cuya antesis dura entre 5-9 horas (Fig. 1 D, E).

b) Inflorescencias cortas (IC): racimos paucifloros con pedúnculos breves, hirsutos, con tricomas retrorsos, que se encuentran parcialmente cubiertos por los cantos rodados del sustrato -en Salta- o por la vegetación circundante -en Córdoba- (Fig. 1 F), las flores tienen alas menores de 5 mm de long. y permanecen cerradas, apenas durante unos segundos el estandarte separa sus bordes exponiendo parcialmente las alas sin que éstas lleguen a desplegarse por completo; el ala izquierda presenta su limbo rodeando a la quilla y nunca se despliega; el limbo del ala derecha comienza a desplegarse pero rápidamente comienza a marchitarse ($t = 2$ seg.), evidenciando un comienzo de apertura floral, rápidamente arrestado (Hoc et al., obs. pers.), Fig. 1 G.

En ambas inflorescencias, el estilo de las flores se presenta curvado, algo más lejos de su base, tiene la forma de una "J" invertida y realiza una rotación de media vuelta hacia la derecha exhibiendo una estructura sigmoidea, que presenta en el tercio superior interno un cepillo de tricomas. El estigma es lateral y está orientado hacia el lado interno del estilo; se encuentra rodeado por una corona incompleta de tricomas lisos; los basales son de igual o mayor longitud que los laterales mientras que los apicales son escasos y cortos o bien este sector apical es glabro (Fig. 2 A y C). La superficie estigmática presenta gran densidad de papilas con forma irregular, dando la apariencia de un estigma rugoso; las observaciones realizadas con el MEB, permiten reconocer las papilas colapsadas (Fig. 2 D).

Los tricomas del cepillo estilar presentan estrías longitudinales a lo largo de su cara externa (la mitad de la superficie es lisa y la otra mitad es estriada), todos los tricomas orientan la cara

estriada hacia el lado externo, algunos además presentan una constricción en el ápice (Fig. 3 A-C). También, entre ellos, se observó la presencia de algunos tricomas uncinados (Fig. 3 D).

El gineceo posee en su base un nectario anular completo, con el margen irregularmente lobulado (Fig. 3 I).

El estandarte es suborbicular, la uña es corta, está bien diferenciada y posee dos aurículas basales globosas. En la base del estandarte, en las aurículas y en el área que las separa, hay numerosas papilas de cutícula con estrías paralelas (Fig. 3 G y H). El margen del limbo del estandarte posee células globosas de cutícula irregularmente estriada (Fig. 3 E y F).

El estambre vexilar en las flores de IL posee una importante prominencia basal que encaja entre las aurículas del estandarte, mientras que en las flores de IC se encuentra sólo algo ensanchado en su base (Fig. 3 J-L).

Durante el desarrollo de ambas inflorescencias, el ápice meristemático de cada eje secundario es una protuberancia redondeada. Se diferencian dos brácteas laterales opuestas, en cada uno de sus meristemas axilares, luego se forman un par de bractéolas opuestas (ubicadas en un plano perpendicular a la bráctea que lo sustenta) y se origina el cáliz del primordio floral (Fig. 4 A). Después de la formación de estos dos capullos laterales, el ápice meristemático de cada eje secundario produce una bráctea media en posición abaxial cuyo meristema axilar forma dos bracteolas opuestas (en un plano perpendicular está la bráctea media), luego se diferencia el cáliz del primordio floral y el desarrollo se detiene (Fig. 4 B), el eje se ensancha alrededor del pedicelo, con lo que el primordio floral medio aparenta estar hundido (Fig. 4 C), posteriormente se desprende la bráctea media, dejando una cicatriz, luego se desprende el pedicelo y cae el primordio floral, en este sitio se forma un nectario extrafloral. En cada eje secundario es usual que se desarrollen completamente sólo los dos primeros primordios florales laterales; mientras que, el ápice meristemático continúa produciendo tríades de primordios florales que repiten el esquema anterior, dando nectarios extraflorales como consecuencia de la caída de los pedicelos (Fig. 4 D).

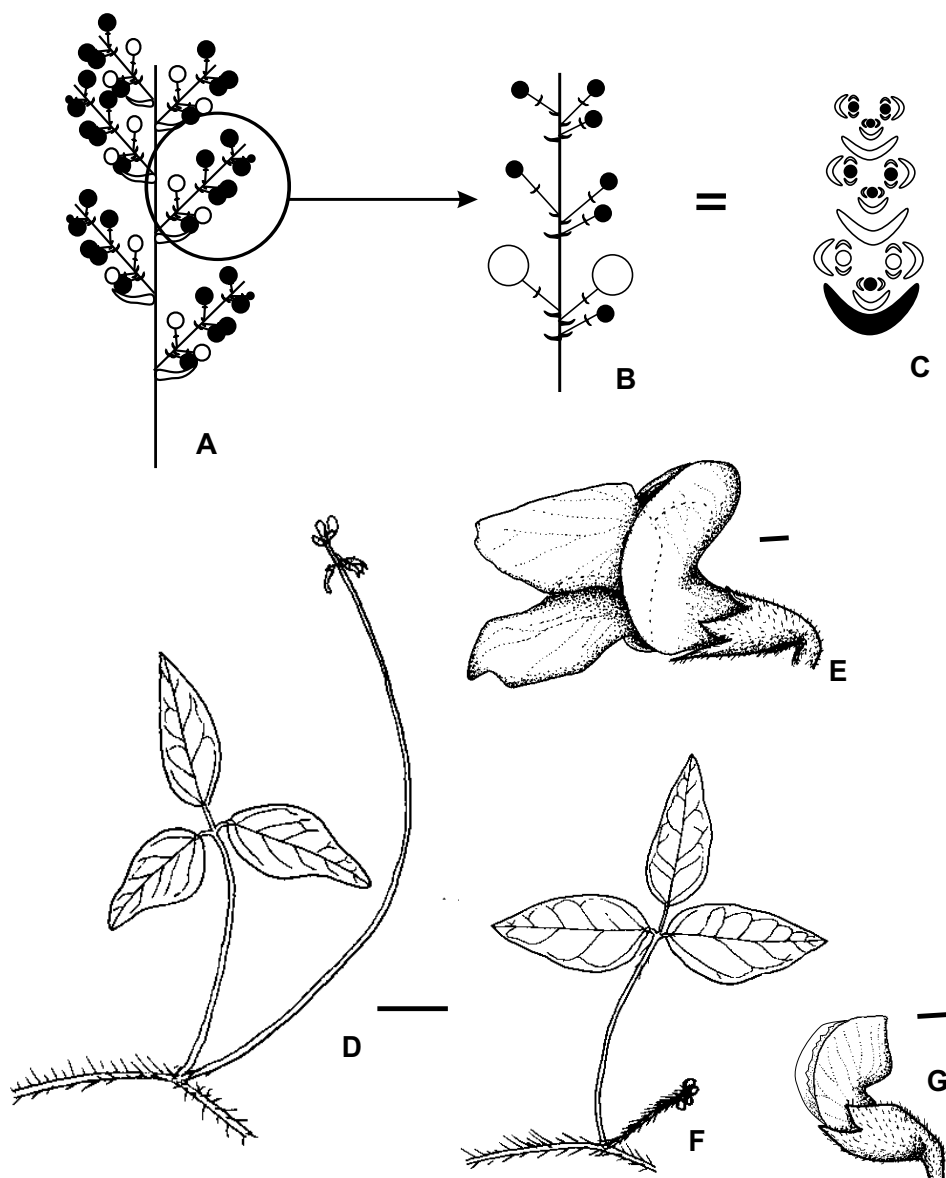


Fig. 1.- *Macroptilium fraterum* (Drewes 501). A: esquema del racimo doble homotético; B, C: esquema del racimo reducido (○ = flores que desarrollan, ● = capullos que abortan dando nectarios); D: inflorescencia larga (IL): racimo axilar erecto; E: flor de D en antesis; F: inflorescencia corta (IC): racimo axilar breve; G: flor de F. La escala vale 1 cm para D y F, 1 mm para E y G.

En los estadios iniciales de la ontogenia floral correspondientes a los dos tipos de flores, cuando el estilo aún no se ha elongado, presenta un diámetro algo menor al del ovario, una curvatura abierta y el estigma es introrso; en la

mitad apical, los tricomas estilares se orientan hacia el exterior y están completamente desarrollados, mientras que los tricomas del ovario recién comienzan a formarse (Fig. 5 A-C). En este estadio los estambres poseen las tecas



Fig. 2.- *Macroptilium fraternum* (A: Hoc 79; B: Drewes 501; C y D: Hoc 284). A: estigma vista apical; B: exudado estigmático; C: estigma vista lateral; D: detalle de la superficie estigmática con granos de polen. La flecha indica las papilas colapsadas. La escala vale 10 μm para B y D; 50 μm para A y C.

completamente desarrolladas (con los granos de polen ya maduros en su interior) y se encuentran rodeando al gineceo en su mitad basal por debajo de los tricomas estilares, debido a que los filamentos estaminales aún no se han alargado (Fig. 5 A y B).

Posteriormente, el estilo se elonga, gira 90° su parte media en sentido dextrógiro, mientras que el ápice rota 90° en sentido opuesto, presentando los tricomas estilares en posición abaxial y hacia la derecha, el estigma se ubica del mismo lado que éstos (Fig. 5 D, E y F). En esta etapa el estigma comienza a producir un exudado muy abundante que tapiza la superficie estigmática. Este exudado presenta la apariencia de una membrana que cubre al estigma (Fig. 2 B). Los filamentos de los

estambres se alargan, las anteras se ubican en dos niveles, la antera del estambre vexilar se ubica sobre el estigma; la dehiscencia de las anteras se produce en el capullo.

Al producirse la antesis, los granos de polen ocupan tanto la superficie del estigma como la parte superior de los tricomas estilares debido a la abundante secreción del exudado estigmático al cual se adhieren (Fig. 5 G y H). En este estadio se puede observar polen germinando (Fig. 5 K y L).

La presencia de polen en la superficie estigmática depende del grado de desarrollo de los capullos, mientras en los estadios iniciales no está presente, horas antes de iniciarse la

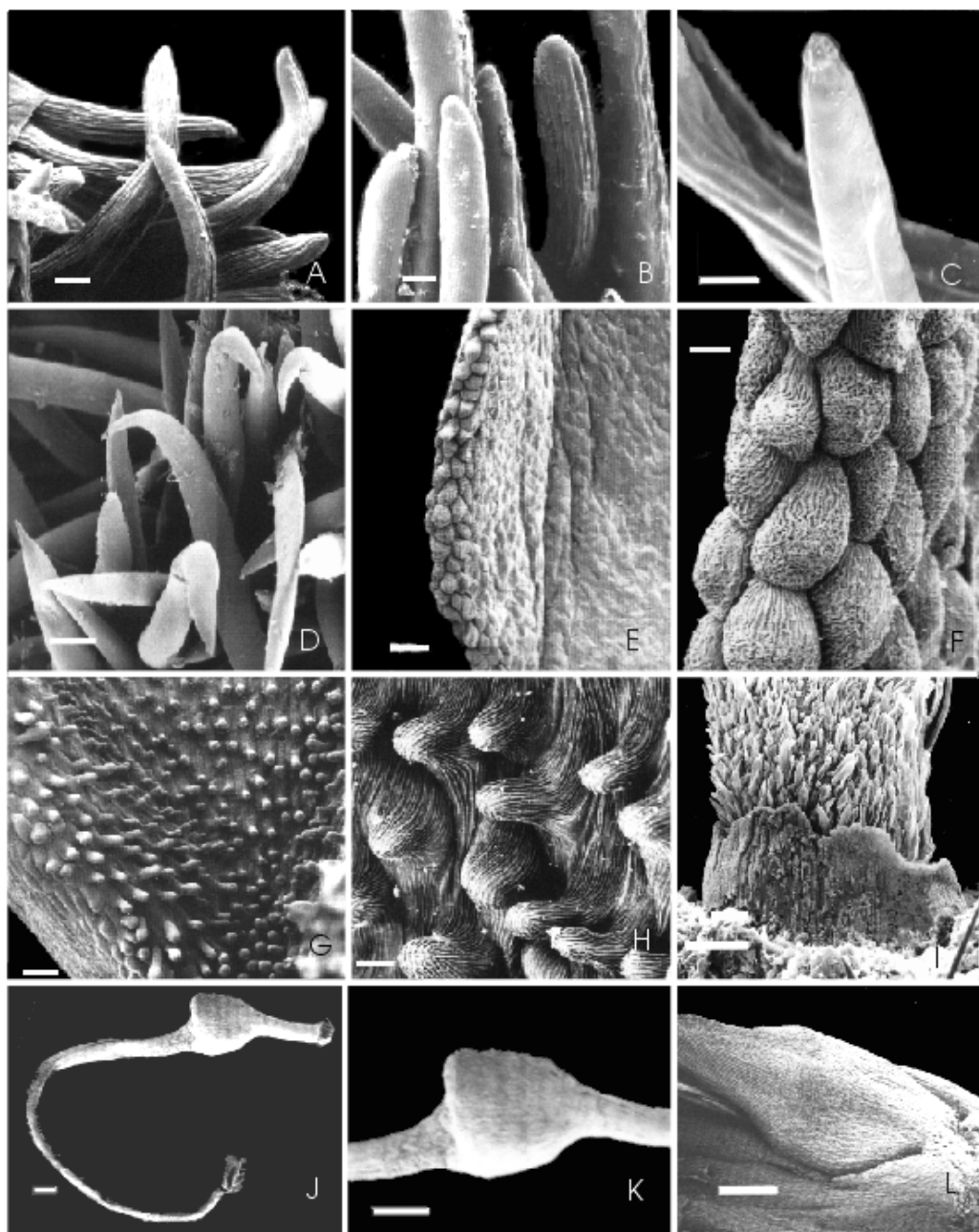


Fig. 3.- *M. fraternum* (A, B y D: Hoc 284 ; C, E, F e I: Hoc 79; G y H: Drewes 501). A: tricomas del cepillo estilar; B: detalle de su esculturación; C: detalle de su ápice, la flecha indica la constricción del mismo; D: tricomas uncinados; E: células globosas en el margen del limbo del estandarte; F: detalle de su esculturación; G: papilas en la base del estandarte; H: detalle de la esculturación de éstas; I: nectario floral; J: estambre vexilar de flor de IL; K: detalle de su prominencia basal; L: detalle de la base de un estambre vexilar de una flor de IC. La escala vale 5 μ m para B y C; 10 μ m para A, F y H; 20 μ m para D; 50 μ m para E y G; 100 μ m para I y L; 200 μ m para J y K.

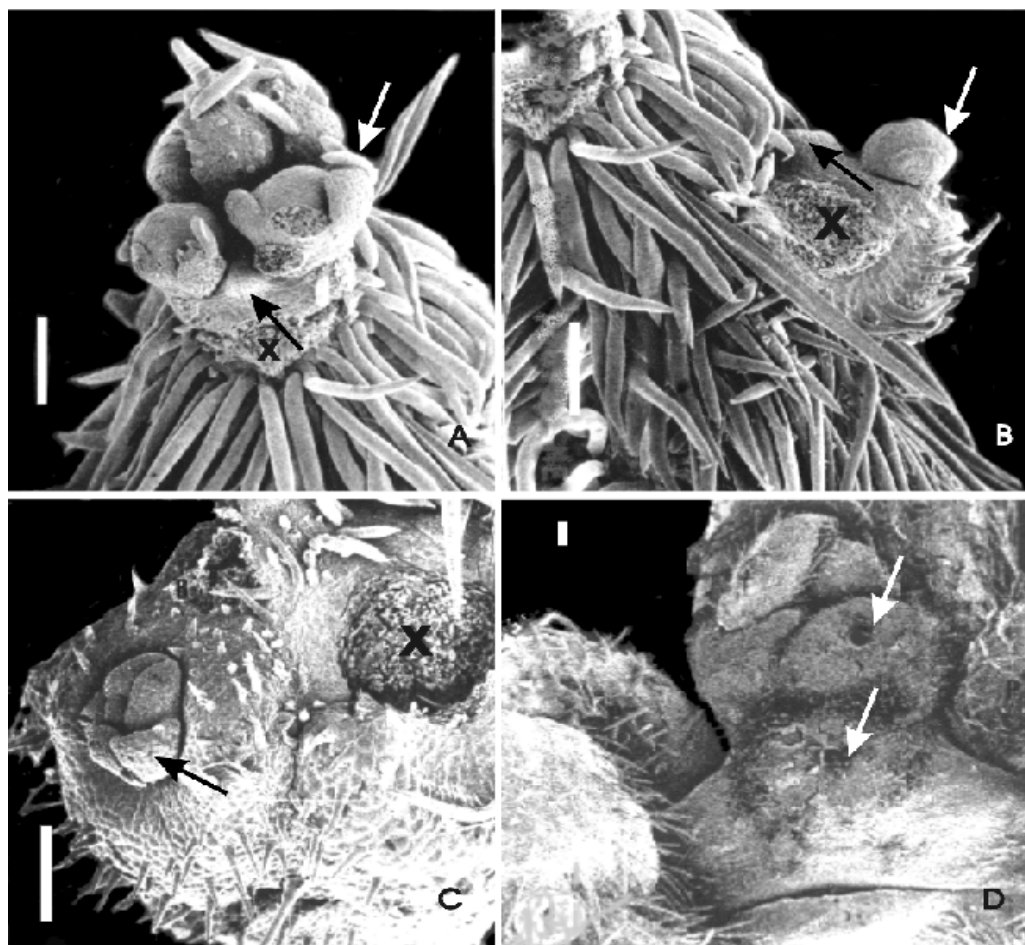


Fig. 4.- *M. fraternum* (Hoc 79). Desarrollo de los nectarios extraflorales. A: primordios florales laterales, meristema y lugar donde fue removida la bráctea tectriz; B: primordio floral medio en desarrollo y meristema apical del eje (las flores laterales y las brácteas fueron removidas); C: primordio floral medio en el centro del eje engrosado; D: nectarios extraflorales. La escala vale 100 μ m. Las flechas señalan el cáliz.

antes ya se encuentra el estigma receptivo (abundante secreción) y hay polen germinando sobre la superficie estigmática.

El polen presenta escaso cemento polínico, los granos no están aglutinados, pero inmediatamente son retenidos en el estigma al ponerse en contacto con el exudado estigmático (Fig. 2 D; 5 I y J).

Discusión y conclusiones

Cabe destacar que la presencia de IC no había sido reconocida previamente en *M. fraternum* como una condición posible de cleistogamia, debido a que la misma difiere notablemente en la apariencia que poseen las inflorescencias cleistógamas subterráneas que caracterizan a varias especies del género. La condición de cleistogamia fue observada en los trabajos de

biología floral realizados a campo (Hoc et al., obs. pers.) ya que en los ejemplares herborizados las IC aparentan ser inflorescencias incompletamente desarrolladas. Por medio de los estudios morfológicos y morfométricos se comprobó la existencia de estas dos formas de inflorescencias (IL e IC).

Según lo observado, se confirma la coexistencia de dos tipos florales, cada uno de ellos asociado a cada una de las formas de inflorescencias (IL e IC) presentes en *Macroptilium fraternum*. Siguiendo la clasificación de Lord (1981) las flores de IL, son del tipo preantesis cleistógama, ya que se encuentran entre los casos donde la autopolinización ocurre antes del comienzo de la antesis. Mientras que las flores de IC, son pseudocleistógamas, ya que no se encontraron mayores diferencias morfológicas entre ambas, entre ellas: el menor tamaño, una pequeña diferencia en la forma de la prominencia del estambre vexilar y el hecho de carecer de expansión (permanecer cerradas). En ambos tipos de flores, usualmente la autopolinización ocurre en el estadio de capullo. Los granos de polen presentados en los tricomas estilares horas antes del inicio de la antesis, germinan, y en consecuencia es posible la autogamia.

La presencia del cepillo de tricomas estilares que presentan el polen de *M. fraternum* coincide con las observaciones realizadas en *M. lathyroides* (L.) Urb. por Lavin & Delgado (1990) y para el género *Macroptilium* por Drewes (1995, 1997). Lavin & Delgado (1990) consideran que la presencia del cepillo bien desarrollado de tricomas estilares que presentan el polen en flores cleistógamas y casmógamas de *Coursetia caribea* (Jacq.) Lavin está genéticamente determinado. En *M. fraternum*, este cepillo estilar no sería funcional, ya que no se registraron visitantes florales en ninguno de los dos tipos florales observados y el estigma presentó gran cantidad de polen germinando ya en el capullo. Además, ambos tipos de flores producen frutos con semillas aún sin recibir visitantes florales (Hoc et al., obs. pers.).

Teniendo en cuenta la ontogenia floral en *M. fraternum*, los tricomas del cepillo estilar se

desarrollan antes que los tricomas del ovario, por lo tanto, su presencia indicaría un estado de carácter plesiomórfico.

El estigma corresponde al tipo WP ("wet papillae", húmedo papiloso) según Heslop-Harrison et Shivanna (1977) y Heslop-Harrison (1981).

Este aporte constituye la primera mención que se realiza sobre la esculturación observada con MEB, de los tricomas del cepillo estilar, de las papilas presentes en las aurículas del estandarte y de las células del margen del mismo. Las papilas encontradas, entre las aurículas así como las células globosas del margen del limbo del estandarte, probablemente sean de naturaleza secretora, como lo señalaron Rudall et al. (1994) en varias especies de Caesalpinieae.

Maheshwari (1962) siguiendo el criterio de Darwin (1877), concluye que las flores cleistógamas resultan de la interacción entre el genotipo y el ambiente (cambios producidos en éste, provocarían un arresto en la antesis de aquellas flores potencialmente casmógamas). Lord (1981) señala que si bien concuerda con estas conclusiones, es común recolectar en la naturaleza ambos tipos de flores por planta al mismo tiempo, y por lo tanto, las flores cleistógamas constituyen una parte de la vida de las plantas y no un mero arresto debido al empobrecimiento de las condiciones de crecimiento. Los resultados del estudio realizado inducen a concluir que en esta especie existe una tendencia evolutiva hacia la cleistogamia, y esta no depende de las condiciones edáficas, dado que en las poblaciones estudiadas, ambos tipos florales fueron producidos simultáneamente. Además, se debe notar que las flores pseudocleistógamas se disponen en racimos hirsutos, postrados, no hipógeos; independientemente del tipo de suelo en el cual las plantas crecen. Esta observación constituye un nuevo aporte al conocimiento sobre la biología reproductiva del género, dado que hasta el presente sólo se había citado la existencia de flores cleistógamas hipógeas (Lindman, 1900; Bacigalupo, 1987 y Drewes, 1995, 1997).

Por último, se destaca que la observación de tricomas uncinados en el cepillo estilar cons-

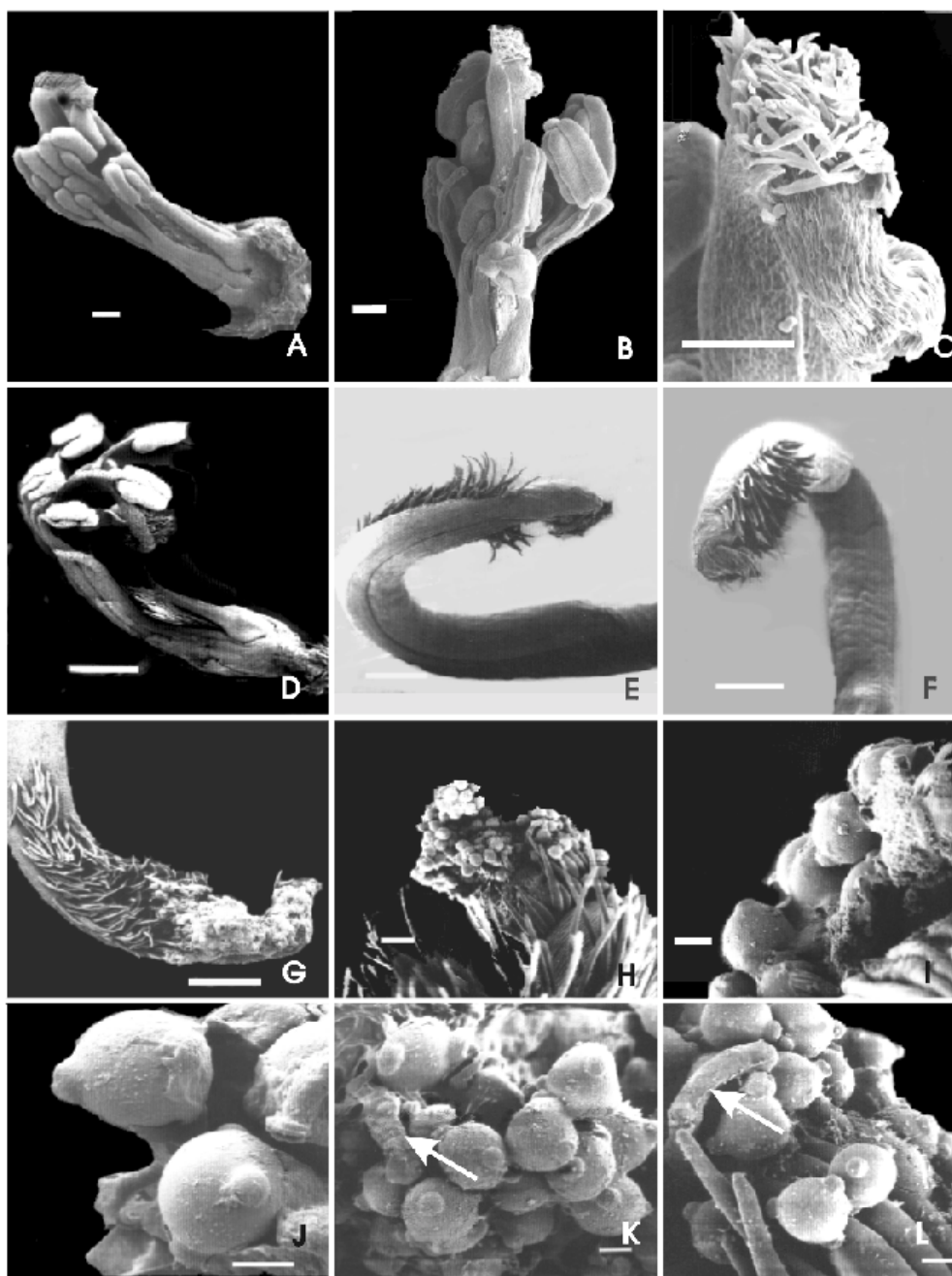


Fig. 5.- Ontogenia del gineceo y androceo. (A, E, F, H, I, K y L: Drewes 501; B y C: Hoc 79; D, G y J: Hoc 284). A-C: estadios iniciales; D: estadio avanzado; E y F: porción apical del gineceo completamente desarrollada; G: presentación del polen; H: detalle del estigma; I-J: detalle de la presentación del polen; K-L: granos de polen germinando. Las flechas señalan los tubos polínicos. La escala vale 10 μm para I, J, K y L; 50 μm para A, B, C y H; 200 μm para E, F y G; 500 μm para D.

tituye un carácter que permite colocar en duda la validez de su utilización para diferenciar a *Phaseolus* L. de *Macroptilium* y *Vigna* Savi, dado que estos tricomas fueron reconocidos por Marechal et al. (1978) como característicos de *Phaseolus*.

Agradecimientos

Al Ing. Agr. R. A. Palacios por la revisión del manuscrito, a la Universidad de Buenos Aires y al CONICET por los subsidios otorgados, con parte de los cuales fue financiada la presente investigación.

Referencias bibliográficas

- Alain, L. 1960. Flora Cubana XI. *Candollea* 17: 107.
- Bacigalupo, N. M. 1987. *Macroptilium* (Benth.) Urban, en N. S. Troncoso de Burkart & N. M. Bacigalupo (eds.). *Fl. il. Entre Ríos, III*, 6, 3: 732-738. INTA, Buenos Aires.
- Darwin, C. 1877. *The different forms of flowers on plants of the same species*. Appleton and Co., New York.
- Drewes, S. I. 1995. Revisión de las especies argentinas del género *Macroptilium* (Leguminosae-Phaseolineae). Tesis doctoral. Universidad de Buenos Aires.
- Drewes, S. I. 1997. El género *Macroptilium* (Fabaceae) en la flora argentina. *Bol. Soc. Argent. Bot.* 32 (3-4): 195-216.
- Heslop-Harrison, Y. 1981. Stigma characteristics and angiosperm taxonomy. *Nordic J. Bot.* 1: 401-420.
- & K. R. Shivanna. 1977. The receptive surface of the Angiosperm stigma. *Ann. Bot.* 41: 1233-1258.
- Holmgren, P. K., N. H. Holmgren & C. Batnett. 1990. *Index Herbariorum. Part I: The Herbaria of the World*. Ed. 8 Reg. Veg. 120: 1-693. New York Botanical Garden, New York.
- Kuhn, M. 1867. Einige Bemerkungen über *Vandellia* und den Blüten dimorphisms. *Bot. Zeitung (Berlin)* 25: 65-67.
- Lavin, M. & A. Delgado Salinas. 1990. Pollen brush of Papilionoideae (Leguminosae): Morphological variation and systematic utility. *Amer. J. Bot.* 77 (10): 1294-1312.
- Lindman, C. A. M. 1900. Einige amphicarpe Pflanzenn der südbrasilianische Flora. *Vetensk. Akad. Förhandl.* 8: 939-946.
- Lord, E. M. 1981. Cleistogamy: A tool for the study of floral morphogenesis, function and evolution. *Bot. Rev.* 47 (4): 421-449.
- Maheshwari, J. K. 1962. Cleistogamy in angiosperms, en B. Maheshwari, M. Johri & I. K. Vasil (eds.), *Proc. Summer School Bot.*, pp. 145-155. Darjeeling Ministry of Scientific Research and Cultural Affairs, New Delhi.
- Marechal, R., J. M. Macherspa & F. Stainer. 1978. Eude taxonomique d'un groupe complexe d'espèces des genres *Phaseolus* et *Vigna* (Papilionaceae) sur la base de données morphologiques et polliniques, traitées par l'analyse informatique. *Boissiera* 28:1-273.
- Rudall, P. J., G. Myers & G. P. Lewis. 1994. Floral secretory structure in *Caesalpinia* sensu lato and related genera, in Y. K. Ferguson & S. Tucker (eds.), *Advances in Legume Systematics 6: Structural Botany*, pp. 41-52. The Royal Botanical Gardens, Kew.

Original recibido el 13 de julio de 2000;
aceptado el 21 de noviembre de 2000.