

1989 - 1

REG. No. 081452539

# UNIVERSIDAD DE GUADALAJARA

---

## FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS



FACULTAD DE CIENCIAS  
HERBARIO

POLINIZACION CRIPTICA EN ORQUIDEA  
( *Bahinia variegata* L. ) PRIMAVERAL

---

### TESIS PROFESIONAL

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE  
LICENCIADO EN BIOLOGIA  
P R E S E N T A  
MARIA GUADALUPE PULIDO AVILA  
GUADALAJARA, JAL. SEPTIEMBRE 1991

---

Este trabajo se realizó en el Laboratorio de Anatomía y Fisiología Vegetal de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad de Guadalajara bajo la dirección del Dr. Eulogio Pimienta Barrios.

## DEDICATORIA

Mi agradecimiento eterno a quienes me brindaron la dicha de nacer y que con su cariño, paciencia y constante apoyo hicieron posible el término de mi carrera.

Mis padres :

**ANTONIO**

**ELVIRA**

A mis hermanos.

Por su apoyo y la esperanza que depositaron en mí.

## A G R A D E C I M I E N T O S

A mi Director de Tesis, Dr. Eulogio Pimienta Barrios mi gratitud y admiración por su valiosa colaboración y apoyo en la elaboración de la presente.

A Francisco Vera Soria, asesor en la parte estadística, mi agradecimiento por su gran ayuda, enseñanza y apoyo en la realización de la presente.

A todos los que conforman el laboratorio de Anatomía y Fisiología Vegetal por su colaboración en la realización del presente trabajo.

A mis amigos, por su compañía, amistad y consejo.

POLINIZACION CRIPTICA EN ORQUIDEA (*Batrachia variegata* L. ) PRIMAVERAL

## CONTENIDO

	Página
1. INTRODUCCION	1
2. OBJETIVO	3
3. HIPOTESIS	4
4. REVISION DE LA LITERATURA	5
4.1 Descripción del género <i>Saurinia</i>	5
4.2 Descripción del género <i>Spathodea</i>	6
4.3. La flor	7
4.3.1 Sépalos y pétalos	8
4.3.2 Estambres	9
4.3.3 El carpelo	9
4.4 Ciclo reproductivo	10
4.4.1 Microsporogénesis y microgametogénesis	11
4.4.2 Megasporogénesis y megagametogénesis	12
4.4.3 Dehiscencia	14
4.4.4 Cleistogamia	14
4.5 Polinización y Mecanismos de polinización	15
4.6 Composición del grano de polen	18
4.7 Interacciones polen-estigma	19
4.8 Viabilidad del polen	20
4.9 Receptividad del estigma	21
4.10 Germinación de granos de polen	22
4.11 Desarrollo de tubos polínicos en el pistilo	23
4.12 Fecundación del saco embrional y viabilidad de óvulos	27
4.13 Abscisión de flor y fruto	30
4.14 Incompatibilidad sexual	31

	Página
4.15 Incongruencia	33
5. METODOLOGIA	34
5.1 Descripción del material vegetativo	34
5.2 Mecanismos de polinización	34
5.3 Tratamientos de polinización	34
5.4 Análisis estadístico	36
6. RESULTADOS	37
6.1 Germinación de granos de polen	38
6.2 Frecuencia de tubos polínicos en diferentes posiciones del estilo a varios intervalos de tiempo después de la polinización	43
6.3 Porcentaje de estilos con tubos polínicos en la base del estilo de <i>B. variegata</i>	53
6.4 Relación entre el número de óvulos por flor y el número y porcentaje de éstos que forman semillas, bajo diferentes tratamientos de polinización congruente e incongruente en <i>B. variegata</i>	54
6.5 Porcentaje de asentamiento de frutos bajo diferentes tratamientos de polinización congruente e incongruente en <i>B. variegata</i>	56
6.6 Frecuencia de la visita de polinizadores a las flores de <i>B. variegata</i> en diferentes intervalos de tiempo	57
7. DISCUSION	59
8. CONCLUSIONES	66
9. BIBLIOGRAFIA	68

## INDICE DE FIGURAS

Figura		Pagina
1	Número de granos de polen germinados en los estigmas de <i>B. variegata</i> registrado a diferentes intervalos de tiempo después de la polinización.	42
2	Frecuencia de tubos polínicos en la posición Estigma - 1/4 del estilo de <i>B. variegata</i> a diferentes intervalos de tiempo después de la polinización.	49
3	Frecuencia de tubos polínicos en el cuarto superior del estilo (1/4 - 1/2) de <i>B. variegata</i> a diferentes intervalos de tiempo después de la polinización.	50
4	Frecuencia de tubos polínicos en la posición 1/2 - 3/4 del estilo de <i>B. variegata</i> a diferentes intervalos de tiempo después de la polinización.	51
5	Frecuencia de tubos polínicos en la posición 3/4 - Base del estilo de <i>B. variegata</i> a diferentes intervalos de tiempo después de la polinización.	52
6	Frecuencia de polinizadores a las flores de <i>B. variegata</i> registrada a diferentes intervalos de tiempo	58

## INDICE DE CUADROS

Cuadro		Página
1	Número promedio de granos de polen germinados sobre los estigmas de <i>B. variegata</i> registrados a diferentes intervalos de tiempo después de la polinización.	41
2	Frecuencia de tubos polínicos en diferentes posiciones del estilo de <i>B. variegata</i> a diferentes intervalos de tiempo después de la polinización.	48
3	Porcentaje de estilos con tubos polínicos en la base del estilo de <i>B. variegata</i> en los diferentes tratamientos de polinización.	53
4	Relación entre el número de óvulos por flor y el número y porcentaje de éstos que forman semillas en <i>B. variegata</i> .	55
5	Porcentaje de asentamiento de frutos bajo diferentes tratamientos de polinización congruente e incongruente en <i>B. variegata</i> .	56

## RESUMEN

Una suposición implícita en muchos estudios de la biología reproductiva de las plantas es que los modelos encontrados para polinizaciones con donantes únicos reflejan los modelos esperados bajo condiciones de polinización natural.

La producción de semillas en las angiospermas depende de una secuencia de pasos, incluyendo la transferencia de polen al estigma, germinación del polen y crecimiento del tubo polínico y, finalmente maduración y dispersión de la semilla. La reducción durante cada paso determina el límite superior en el número de participantes (gametos o cigotos) en subsecuentes procesos, y la variación en el número de gametos o embriones que pasan exitosamente a un particular estado contribuye a la variación en el éxito reproductivo de los esporofitos implicados en una unión en particular. Aunque se ha dado mucha atención a la transferencia y más recientemente a los patrones de post-fertilización del óvulo y la aborción del fruto, un menor esfuerzo se ha hecho para cuantificar la variación en el éxito de la fertilización de los tubos polínicos después de cruza incompatibles. El éxito de la fertilización del polen de un donante puede ser modificado dependiendo en que otro polen está presente en el estigma. Esto podría pasar a causa de las interacciones en los tipos de polen; los tubos polínicos pueden germinar y/o crecer a diferentes proporciones, resultando que en un donante se obtiene la mayoría de fertilizaciones o que pueden producir sustancias que inhiben (o facilitan) el crecimiento de unos a otros. En éste trabajo se evaluó el efecto de la polinización críptica en el esfuerzo reproductivo en *B. variegata*. Se estudió la germinación de granos de polen propios y ajenos, y se llevaron a cabo los tratamientos de Polinización natural (PN), Autopolinización alta

(DAAP), Autopolinización + polinización incongruente (AP+PI), Autopolinización/Polinización incongruente (AP/PI) y polinización incongruente/Autopolinización (PI/AP). Además se evaluó el porcentaje de asentamiento de fruto y el porcentaje de óvulos que formaron semillas para cada uno de los tratamientos. Se observó que hay una variación cuantitativa en la proporción de granos de polen germinados después de realizados los tratamientos de polinización, siendo el más eficiente el de autopolinización seguido de los tratamientos con mezclas de polen y finalmente el tratamiento de polinización incongruente. Los tubos polínicos requirieron 48 hrs. para llegar a la base del estilo en todos los tratamientos excepto para el tratamiento de PI el cual necesitó de 72 hrs. La frecuencia de tubos polínicos registrada a lo largo del estilo fué similar en la autopolinización y en los tratamientos con mezclas de polen, siendo un poco menor en el tratamiento de PI. La diferencia más notable entre tratamientos fué observada cuando se evaluó su efecto en el esfuerzo reproductivo. El porcentaje de asentamiento de fruto más bajo se observó en el tratamiento PI, seguido del tratamiento AP/PI; el resto de tratamientos mostraron mayores porcentajes de asentamiento de fruto. Tendencia similar se observó en el porcentaje de óvulos que formaron semillas en el que el número menor se registró en el tratamiento PI. A partir de lo anterior se concluye que debido a que no se observaron diferencias significativas en la frecuencia de tubos polínicos en las polinizaciones congruentes e incongruentes y además de que el esfuerzo reproductivo fué menor en la polinización incongruente entonces probablemente la barrera de incongruencia pudiera estar localizada en el óvulo.

## 1. INTRODUCCION

Un aspecto importante relacionado con polinización en especies nativas bajo condiciones naturales, es que la densidad de la polinización y la pureza de los granos de polen que se depositan en el estigma varían de flor en flor dentro de una misma planta. Las variaciones en ambas aparentemente afectan el esfuerzo reproductivo. Galen y Newport (1988), observaron que en flores de poblaciones naturales de *Polemonium viscosum* el porcentaje de óvulos que se transforman en semillas es afectado por la intensidad de la polinización cruzada y la pureza de las mezclas de polen que se depositan en el estigma. En esta especie la polinización cruzada incrementa la fecundación de óvulos, pero su efecto benéfico se reduce por la combinación de mezclas de polen de diferentes clases. En *Tamopsis radicans* la depositación previa o simultánea de polen derivado de la autopolinización y de la polinización cruzada reduce el efecto positivo de la polinización cruzada en el esfuerzo reproductivo. Este efecto depresivo causado por la mezcla de ambos tipos de polen, aparentemente ha contribuido en la evolución de mecanismos que evitan la geitonogamia (e.g. dicogamia, hercogamia) (Bertin y Sullivan, 1988).

Desde hace mucho tiempo, los especialistas en hibridación de plantas reconocieron que existen diferencias notables entre los grupos vegetales con respecto a la facilidad para cruzar especies y a la fertilidad de los híbridos. En algunos géneros, las especies emparentadas se cruzan con dificultad y, en caso de lograrlo, los híbridos resultantes por lo general son estériles. Al otro extremo se encuentran grupos vegetales en los cuales el cruzamiento alejado es posible entre especies, secciones y hasta géneros morfológicamente diferentes, y los híbridos derivados de tales cruzamientos alejados son

fértiles ( Grant, 1989).

El término polinización críptica se ha venido utilizando para describir la variación en la densidad y pureza de granos de polen que se depositan en forma natural en algunas especies vegetales silvestres, y en pocos casos se ha prestado atención al efecto de la polinización críptica en la eficiencia del esfuerzo reproductivo en especies en que este fenómeno es de común ocurrencia. Observaciones preliminares realizadas en flores de *Bahinia variegata*, mostraron que es común que en ésta especie se manifieste el fenómeno de polinización críptica, por lo que se procedió a evaluar el efecto que éste tipo de polinización tiene en el esfuerzo reproductivo de *B. variegata*.

## 2. OBJETIVO

Evaluar el efecto de la pureza de la polinización (polinización críptica) en el esfuerzo reproductivo de *B. variegata*.

### 3. HIPOTESIS

Si el esfuerzo reproductivo en *B. variegata* es afectado por la pureza de la polinización (polinización críptica), entonces, cabe esperar que se afecte el porcentaje de óvulos que se transformarán en semillas, así como el peso de éstos cuando se varia la densidad y la pureza del polen que se deposita en el estigma.

#### 4. REVISION DE LITERATURA

##### 4.1. Descripción del género *Bahinia*.

*Bahinia* es un género de la familia de las leguminosas con más de 200 especies en todo el mundo. En los trópicos de América, en especial en la región occidental existen ocho especies, generalmente son árboles o arbustos, que en algún tiempo presentaron espinas. Sus hojas son bilobadas decíduas; sus flores son de color blanco a lila y están ubicadas en las partes terminales de las ramas u opuestas a las hojas o aparentemente axilares. Hipantio corto o elongado, presentan cinco pétalos ligeramente iguales erectos o expandidos imbricados. Presenta 10 o menos estambres libres algunos reducidos o completamente supresos; ovario con estípites largo subsésil, estilo filiforme o corto, estigma pequeño, vaina con dos o más semillas, oblongas o lineares, con dos bracteas curvas o elásticas de consistencia membranosa o coriacea; semillas compresas orbiculares u ovaladas ( Mc. Vaugh, 1987).

Alrededor de la mitad de las especies de *Bahinia* de Norteamérica, presentan sus flores en un sentido amplio de cinco a diez estambres fértiles. en el resto de las especies la progresión hacia flores unisexuales es fuerte. En *B. coxii* se conocen especímenes o que son funcionalmente estaminados o funcionalmente pistilados. En *B. subrotundifolia* se producen flores perfectas solo que esporádicamente tienen muchas flores funcionalmente estaminadas.

*B. variegata* es una planta nativa de los trópicos del viejo mundo ( del tipo que se encuentra en la India del Este ) y se cultiva en los trópicos de América por lo vistoso de sus flores ( Mc. Vaugh, 1987 ).

En Guadalajara es común encontrar éste árbol en las calles al igual que en Autlán, Coalcomán, Purucho, y solo se ha observado ésta planta en condición cultivada, sin embargo Hinton, ha observado que algunos de

éstos escapan del cultivo. El período de floración de éstas plantas ocurre durante los meses de invierno ( Mc. Vaugh. 1987 ).

Son árboles de más de diez metros, presentan hojas bilobadas de 12 cm. de largo, sus flores son desde blancas a rosas, pétalos de 2.5 cm. de largo y 1.5 cm. de ancho, estambres de 2.5 cm. de largo, cinco de ellos son fértiles y presentan de 2 a 4 estambres vestigiales, en los estambres fértiles las anteras son de 2.5 a 3.7 mm. de longitud, ovario elongado, piloso, el estípite es de 1.5 a 2.5 cm. de longitud y sus estilos son de 5 a 8 mm. ( Mc. Vaugh. 1987 ).

#### 4.2. Descripción del género *Spathodea*.

Arboles. Hojas imparipinnadas, 9-10 folioladas. Inflorescencia un racimo terminal, los pedicelos inferiores más largos. Flores con cáliz espatáceo, grande angostándose hasta un ápice corvado; corola rojo-anaranjada ó carmesí, por lo común con una franja amarilla, grande, ampliamente campanulada por encima de una base cilíndrica, glabra por fuera; estambres con las anteras glabras, las tecas divaricadas, ovario angostamente oblongo, los óvulos multiseriados en cada lóculo. El fruto una cápsula angostamente oblongo-elíptica, las valvas aquilladas, mas angostas en los extremos, con dehiscencia perpendicular hacia el septo; semillas achatadas, aladas, las alas anchas y hialino-membranáceas.

*Spathodea campanulata* Beauv. Arbol de hasta por lo menos 25 m. de alto, 40 cm. de diámetro (d.a.p.). Hojas imparipinnadas, por lo común 9-15 foliadas, los foliolos más o menos elípticos, agudos hasta acuminados, asimétricamente subtruncados o anchamente cuneados basalmente, subsésiles, ligeramente pubérulos a lo largo de los nervios principales. Inflorescencia, un racimo terminal con los pedicelos inferiores más largos y recurvados hacia arriba para dar una apariencia

corimbosa; cáliz espatáceo ahusado en un ápice recurvado, extendido por detrás de la corola, 4.5-5 cm. de largo; corola rojo-anaranjado con un borde amarillo, ampliamente campanulada por encima de una base cilíndrica, grande, 8.5-9 cm. de largo, 4.5-5 cm. de ancho en la boca, el tubo 6-6.5 cm. de largo, los lóbulos 1.5-2.5 cm. de largo, glabras; estambres 4 subexsertos, sostenidos contra el piso del tubo, las tecas divaricadas, delgadas 8 mm. de largo; ovario angostamente oblongo, diminutamente papiloso, los óvulos multiseriados en cada lóculo, el fruto una cápsula angostamente oblongo-elíptica, dehiscente por un lado, las valvas con forma de brote, angostándose hacia los extremos, 17-25 cm. de largo, 3.5-7 cm. de ancho, semillas delgadas, aladas, las alas anchas y hialino-membranáceas, conspicuamente demarcadas.

Especie nativa de Africa Tropical. *S. campanulata*, es extensamente cultivada en el trópico por ser un árbol ornamental y de buena sombra. Sus flores de colores brillantes aparecen en casi todo el año, lo que hace de ésta especie una de las más atractivas y mejor conocidas de las Bignoniaceae. En el neotrópico a veces produce fruto y a veces es espontánea, aún cuando rara vez naturalizada. Es difícil de separar de "*S. nitida*" la cuál presenta el cáliz más pubescente y es originaria de Africa Oriental; ambas formas son cultivadas en México al igual que individuos intermedios ( Gentry, 1982 ).

#### 4.3. La flor

La flor es considerada como una asociación de partes estériles y fértiles, que se forman en un eje (receptáculo). Las partes estériles son los sépalos (cáliz) y los pétalos (corola). Al conjunto de cáliz y corola se le conoce como perianto. Las partes reproductivas son los estambres, que se consideran como microesporofitos y los carpelos,

considerados como megasporófilos. El conjunto de estambres se le conoce como androceo y el de carpelos como el gineceo ( Esau, 1977 ). La unidad básica del gineceo es el carpelo. Pistilo es otro término que se refiere a la parte megasporangial de la flor. El pistilo puede consistir de un carpelo ( pistilo simple ) o de varios ( pistilo compuesto ) ( Esau, 1965 ).

Foster y Gifford ( 1974 ), consideran que aunque el carpelo tiene semejanza a un megasporófilo en funciones generales, es considerado morfológicamente distintivo debido a que los óvulos (megasporangios) están usualmente encerrados en la porción basal hueca del carpelo, que es el ovario. Además, que en contraste con el megasporofito de las gimnospermas, la mayoría de los carpelos terminan en un estigma.

La flor presenta crecimiento determinado, debido a que su meristemo apical cesa de ser activo, después de que ha formado las partes florales ( Esau, 1977; Foster y Gifford, 1974 ). El gineceo es la parte de la flor donde ocurre la megasporogénesis y en el androceo la microsporogénesis ( Esau, 1965 ).

#### 4.3.1. Sépalos y pétalos

Los sépalos y los pétalos tiene parecido a las hojas en su estructura interna. Consisten de parénquima fundamental, con su sistema vascular más o menos ramificado y epidermis. Además comunmente se encuentran células que contienen cristales laticíferos, células taníferas y otro tipo de ideoblastos. Almidón es común en pétalos jóvenes. Los sépalos verdes tienen cloroplastos, sin embargo en pocas ocasiones se diferencia parénquima esponjoso y de palizada. El color de los pétalos, desempeña un papel importante en la atracción de polinizadores bióticos, debido a la presencia de pigmentos en los

cromoplastos ( carotenoides ) y en la vacuolas (flavonoides, principalmente antocianinas ) ( Esau, 1977 ).

#### 4.3.2. Estambres

El tipo más común de estambres en angiospermas consiste de una antera que se divide en saco de polen o microesporangios y en el filamento. Cada saco de polen incluye capas de la pared y un lóculo en el cuál se diferencian las microsporas. La mayoría de las angiospermas tienen anteras tetrasporangiadas, o sea el tipo con dos lóculos en cada uno de los dos lóbulos ( Esau, 1977 ). Cada uno de los cuatro microesporangios se originan de la división periclinal de un grupo de células hipodermales, situadas en las esquinas de las anteras jóvenes. Estas divisiones periclinales forman una capa parietal subepidermal y una capa esporógena primaria interna. Las células de la capa esporógena primaria, se dividen para dar origen a los microsporocitos diploides. Posteriormente en éstos microsporocitos diploides ocurre meiosis, formando tetradas de microsporas haploides, las que finalmente por medio de divisiones mitóticas dan origen a los granos de polen. Las células de la capa parietal primaria; se dividen por medio de divisiones periclinales y anticlinales formando un número variable de capas que se acomodan concéntricamente; a partir de éstas capas se diferencia la pared de cada uno de los microesporangios ( Foster y Gifford, 1974 ).

#### 4.3.3. El carpelo

El carpelo es interpretado como la unidad básica del gineceo. Una flor puede tener un carpelo o más de uno. Si dos o más carpelos están presentes, ellos pueden estar libres uno de otro ( gineceo apocárpico ) o unidos ( gineceo sincárpico ). El carpelo está comunmente formado de

una parte inferior fértil ( el ovario ) y una superior estéril ( el estilo ). Usualmente en la región superior del estilo se diferencia el estigma ( Esau, 1977 ). Los estilos pueden ser sólidos o tener un canal en el centro; en la mayoría de las angiospermas los estilos son sólidos. El estigma maduro proporciona un ambiente adecuado para la germinación de los granos de polen, y es llamado receptivo cuando alcanza el estadio maduro. Los estigmas pueden ser "húmedos" ó "secos". Los estigmas húmedos se caracterizan por secretar un exudado en el cuál los componentes son: agua, fenoles, azúcares y minerales ( Martín y Brewbaker, 1971; Kapil y Bhatnagar, 1975 ). Los estigmas "secos" carecen de éste exudado ( Esau, 1977 ). El estigma "húmedo" es esencialmente glandular. Las células epidermales del estigma se encuentran comunmente elongadas formando las papilas, tricomas cortos o tricomas largos ramificados. El tejido del estigma está conectado con el óvulo en la cavidad del ovario por el tejido de transmisión, que sirve de camino para el crecimiento del tubo polínico y como una fuente de nutrimentos ( Foster y Gifford, 1974 ).

#### 4.4. Ciclo reproductivo.

El ciclo reproductivo de las angiospermas se caracteriza por una fase haploide corta ( fase gametofítica ) que conduce a la formación de los gametofitos femeninos ( saco embrional ) y masculinos ( granos de polen ), y la unión de los gametos masculino y femenino ( fecundación ), terminando con los estadios iniciales de desarrollo del nuevo esporofito ( embrión ) que ocurren en el tejido parental del esporofito ( Foster y Gifford, 1974; Esau, 1977 ).

#### 4.4.1. Microsporogénesis y microgametogénesis

Las células esporógenas primarias dan origen a los microsporocitos, los cuales inicialmente se encuentran acomodados en forma compacta y están interconectados por plasmodesmos ( Foster y Gifford, 1974; Esau, 1977 ). Durante los estadios iniciales de la profase meiótica una deposición masiva de calosa se forma en la parte externa de los plasmodesmos, las paredes originales se desintegran ( Heslop-Harrison, 1971 ). Durante leptoteno y zigoteno, se desarrolla una cantidad masiva de canales citoplásmicos entre células vecinas, y en algunas especies las interconexiones se extienden a través del tejido esporógeno (Heslop-Harrison, 1964 y 1966; citados por Heslop-Harrison, 1971 ). La formación de éstos canales procede al mismo tiempo que ocurre la síntesis de calosa que rodea a los microsporocitos. Al momento que comienza la mitosis meiótica, las conexiones citoplásmicas son seccionadas, y principia la formación de paredes de calosa entre las esporas aisladas dentro de la tetrada ( Heslop-Harrison, 1971 ). De esta manera, las tetradas de esporas que resultan de las divisiones meióticas se encuentran completamente aisladas de otras tetradas en el mismo lóculo ( Esau, 1977 ). En resumen, durante los estadios iniciales de meiosis se tiene un alto grado de conexiones intercelulares que se mantienen hasta el momento en que termina la meiosis, en que se reduce drásticamente éste nivel de interconexiones celulares ( Heslop-Harrison, 1971 ).

El tapete es la capa interna de la pared del microesporangio la cual está sincronizada con los eventos que ocurren en el tejido esporógeno adyacente ( Echlin, 1971 ). Las células del tapete tienen citoplasma denso antes de la microesporogénesis. El tapete cubre completamente el lóculo y se considera que tiene funciones nutritivas

que participan en la formación de los granos de polen ( Foster y Gifford, 1974; Esau, 1977 ). Se sugiere que todos los nutrimentos que entran al tejido esporógeno deben pasar a través del tapete y ser metabolizados por éste ( Echlin, 1971 ).

Posterior a las divisiones meióticas ocurren dos divisiones mitóticas en las microsporas. La primera división da origen a un núcleo vegetativo y a un generativo y se forma el grano de polen en la condición de dos núcleos (binucleados). En algunas especies, los granos de polen son liberados de las anteras en ésta condición (binucleados); en otras la segunda división mitótica (en la célula generativa) ocurre antes de la dehiscencia de la antera y los granos de polen son liberados en el estadio de tres células (trinucleados) ( Foster y Gifford, 1974 ).

#### 4.4.2. Megasporogénesis y megagametogénesis

El óvulo es el sitio de formación de las megasporas y desarrollo del saco embrionario ( gametofito femenino ). El óvulo consiste de dos partes: la nucela que es el cuerpo central que rodea a las células esporógenas; uno o dos integumentos que circundan la nucela y el funículo que es el pedúnculo que conecta el óvulo con la placenta. Los óvulos varían también con el tamaño de la nucela. Un óvulo con una nucela larga se llama crasinucelado y con una nucela pequeña tenuinucelado ( Esau, 1977 ).

En estadios tempranos de la ontogenia del óvulo, una o varias células internas cerca del ápice de la nucela se elongan y llegan a ser diferentes del resto de las células adyacentes en estructura y reacciones de tinción. Esas células son megasporocitos potenciales. Frecuentemente sólo un simple megasporocito se forma en la nucela. En los óvulos tenuinucelados el megasporocito se origina directamente de

las células hipodermales localizadas en la región apical de la nucela. En óvulos crasinucelados, una célula hipodermal inicial se divide periclinalmente dando origen a una célula parietal externa y a una célula interna esporógena. Esta última funciona como el megasporocito, el cual como consecuencia de divisiones periclinales de la célula parietal queda profundamente embebido dentro de la nucela. Este megasporocito se divide en dos por divisiones meióticas transversales, dando como resultado una tetrada lineal de esporas. Existen tres tipos de desarrollo de sacos embrionales: el monospórico, bispórico y tetraspórico. Uno de los más comunes es el monospórico, representado por el tipo Polygonum; que es al que nos vamos a referir a continuación: en este tipo de saco embrional; las tres megasporas de la tetrada degeneran quedando únicamente viable la espora localizada del lado de la calaza, la cual posteriormente se elonga y por medio de tres divisiones mitóticas sucesivas da origen a un saco embrional de tres núcleos acomodados en cuartetos, cuatro del lado del micrópilo y los cuatro restantes del lado de la calaza. Tres de los núcleos del lado del micrópilo se diferencian en células formando el aparato huevo; el cual consiste del gameto femenino o célula huevo y dos sinérgidas. En el lado opuesto ( lado de la calaza ), tres de los cuatro núcleos diferencian las antipodas: los dos núcleos remanentes, emigran de los extremos opuestos ( lado del micrópilo y de la calaza ) a la parte interna de la célula central. Estos núcleos polares permanecen separados hasta que ocurre la descarga de los gametos masculinos dentro del saco embrional, y se pueden fusionar antes de la fertilización, para formar un núcleo diploide secundario. Este patrón de desarrollo produce un saco embrional con siete células y ocho núcleos. Una de estas células, la central es binucleada ( Foster y Gifford, 1974 ).

#### 4.4.3. Dehiscencia

En un número reducido de especies el polen es liberado a través de una apertura pequeña situada en el lado distal de la antera, que es comunmente designada como dehiscencia poricidal. En la mayoría de las angiospermas la dehiscencia de las anteras ocurre longitudinalmente a lo largo del estomio, que es una hilera situada a cada lado de la antera entre los miembros de un par de esporangios ( Foster y Gifford, 1974 ). La dehiscencia de las anteras, se inicia pocas horas después de la apertura de la flor y ocurre usualmente durante el día, aunque la dehiscencia de las anteras puede ocurrir en flores cerradas (cleistogamia) ( Percival, 1969 ).

Las condiciones ambientales afectan la dehiscencia. La temperatura óptima para la dehiscencia varía entre 18° y 26° C, y se retarda cuando es inferior a 9° C ( Micke y Kester, 1978 ). La lluvia y humedad relativa alta o muy baja pueden inhibir la dehiscencia de las anteras ( Williams, 1970; Micke y Kester, 1978; Kramer y Kozlowski, 1979 ).

#### 4.4.4. Cleistogamia

Este término fué definido inicialmente por Kuhn ( citado por Lord, 1981 ) y se refiere a las flores que se autopolinizan en estadio de yema. Este término es frecuentemente usado para describir especies las cuáles producen flores abiertas ( casmógamas ) y cerradas (cleistógamas ) en las cuáles nunca ocurre anthesis pero desarrollan semillas viables ( Lord, 1981 ).

La cleistogamia ocurre cuando las condiciones ambientales son adversas como la pérdida o exceso de agua, excesiva humedad atmosférica y sequía combinada con calor ( Percival, 1969 ). Además de factores

genéticos (Lord, 1981 ). Este comportamiento floral se presenta en la naturaleza como un mecanismo biológico de protección que permite la formación de algunas semillas, cuando las condiciones ambientales son difíciles; sin embargo, se evita el mecanismo normal de entrecruzamiento por medio de polinización cruzada ( Percival, 1969 ). Esta condición está distribuida ampliamente en las angiospermas y se registró que existe en 56 familias y 287 especies ( Lord, 1981 ), quién clasifica las especies cleistógamas en cuatro categorías:

Cleistogamia preantesis. Consiste en casos donde la polinización ocurre en estadio de yema y es seguido por antesis.

Pseudocleistogamia. Se refiere cuando no ocurren diferencias morfológicas entre las flores cleistógamas y casmógamas.

Cleistogamia completa. Especies en las cuáles solamente se producen flores cleistógamas.

Cleistogamia verdadera. Este se refiere a casos donde el dimorfismo resulta de cambios divergentes de desarrollo en una sola especie o individuo.

#### 4.5. Polinización y mecanismos de polinización.

Polinización se define como la transferencia de granos de polen del centro de producción, situado en los microesporangios de las anteras, a la superficie receptiva del carpelo ( estigma ) (Kapil y Bhatnagar, 1975).

Los agentes ó vectores responsables de la transferencia de los granos de polen en angiospermas se agrupan en dos categorías principales: agentes abióticos, que son factores inanimados de la naturaleza e.g. corrientes de aire, gravedad y agua y agentes bióticos, que incluyen varios tipos de animales polinizadores e.g. insectos, pájaros, murciélagos ( Foster y Gifford, 1974; Percival, 1969 ).

La polinización biótica es más selectiva que la abiótica y se considera como el primer paso para evitar la hibridación caótica. Esta selectividad se atribuye a la especificidad de las relaciones que se desarrollan durante la coevolución entre la planta y polinizadores, que es regulado principalmente por la fidelidad de la preferencia por determinado tipo de flores por los vectores. Esta preferencia se establece principalmente a través de atrayentes (e.g. polen, nectar, color ) (Linskens, 1983; citado por Pimienta, 1986 ). Los vectores bióticos animales pueden ser vertebrados ó invertebrados ( abejas, moscas, mariposas, etc. ) aunque en climas subtropicales se ha registrado una mayor frecuencia de vectores vertebrados ( Armstrong, 1979; citado por Pimienta, 1986 ). Además, cuando los polinizadores son abundantes y constantes la fecundación es más probable, pero se encuentra limitada por los recursos maternos de cada flor ( Lloyd et al. 1980; citado por Allison, 1982 ).

Muchas especies de plantas, incluyendo la sandía, cuentan con insectos o el viento para transferir el polen de la antera a el estigma de la flor ( Proctor y Yeo, 1973; citados por Sedgley y Blesing, 1982 ). Aunque algunas especies de insectos tienen preferencias por cierto tipo de flores, la probabilidad de que un estigma reciba polen de otras especies es, no obstante, muy alta ( Sedgley y Blesing, 1982 ).

La polinización abiótica, se lleva a cabo principalmente por dos agentes climáticos: viento y agua. Es mas común que la polinización abiótica se lleve por el aire, ya que en algunos ambientes naturales, más del 90% de las angiospermas son polinizadas por éste agente (Linskens, 1983; citado por Pimienta, 1986 ). La polinización por el viento no es común en ambientes áridos, aunque es frecuente en poblaciones en que los individuos que se desarrollan en espacios

cerrados y donde la probabilidad de filtración del polen dentro de la vegetación es baja ( Whitehead, 1983; citado por Pimienta, 1986 ). En términos de estrategias reproductivas, la polinización biótica dirigida es la más segura para la combinación de sexos de la misma especie, y la más eficiente en términos de inversión de energía en el sistema reproductivo ( Linskens, 1983; citado por Pimienta, 1986 ).

En algunas especies vegetales el esfuerzo reproductivo es limitado por la disponibilidad del polen. De hecho, en un gran número de especies vegetales cultivadas la productividad es limitada por la intensidad de la polinización cruzada ( Free, 1970; Mc. Gregor, 1976; citado por Pimienta, 1986 ). En especies nativas la información es limitada aunque Biersychudek, ( citado por Pimienta, 1986 ), reporta evidencias experimentales que muestran que también en éstas especies el esfuerzo reproductivo es limitado por la disponibilidad de polen.

Un aspecto importante relacionado con polinización en especies nativas bajo condiciones naturales, es que la densidad de polinización y la pureza de los granos de polen que se depositan en el estigma varían de flor en flor dentro de una misma planta. Las variaciones en ambas aparentemente afectan el esfuerzo reproductivo. Galen y Newport, ( citados por Pimienta, 1986 ), observaron que en flores de poblaciones naturales de *Polemonium viscosum* el porcentaje de óvulos que se transforman en semillas es afectado por la intensidad de la polinización cruzada y la pureza de las mezclas de polen que se depositan en el estigma. En ésta especie la polinización cruzada incrementa la fecundación de óvulos, pero su efecto benéfico se reduce por la combinación de mezcla de polen de diferentes clases. En *Campsis radicans* la depositación previa o simultánea de polen derivado de la autopolinización y de la polinización cruzada reduce el efecto positivo

de la polinización cruzada en el esfuerzo reproductivo. Este efecto depresivo causado por la mezcla de ambos tipos de polen, aparentemente ha contribuido en la evolución de mecanismos que evitan la geitonogamia ( e.g. dicogamia, hercogamia ) ( Bertin y Sullivan, 1988 ).

#### 4.6. Composición del grano de polen.

La composición química del grano de polen varía considerablemente. Los principales constituyentes del polen son: proteínas, grasas, carbohidratos y varias sustancias inorgánicas: minerales ( Todd y Bretherick, 1942; citados por Percival, 1969 ). Análisis químicos comparativos de la composición química de granos de polen en diferentes especies, revelaron que los componentes que presentan menor variación entre especies son, los minerales y las grasas, por el contrario los carbohidratos, proteínas y residuos de fibras son los que presentan mayor variación dentro y entre especies. El contenido de humedad varía también entre especies, encontrándose contenidos superiores al 50% en granos de polen de maíz y 20% en *Pinus*. Las proteínas, usualmente constituyen del 10 al 30% del peso seco del polen, siendo los granos de polen con periodos de viabilidad más cortos (maíz), los que tienen el contenido más alto de proteínas ( Stanley, 1971 ).

La variación en los componentes químicos es debido a diferencias entre especies y a condiciones ambientales. Temperaturas altas y luminosidad baja durante la maduración del grano de polen, reducen el contenido de carbohidratos que se acumulan en los granos de polen. Suministros bajos de microelementos también afectan los niveles de minerales en el grano de polen ( Stanley, 1971 ).

Los principales elementos minerales en la composición del grano de polen son: potasio, fósforo, calcio, fierro, cobre, magnesio, níquel y

zinc. Otros compuestos químicos presentes en los granos de polen son los carotenoides que le dan el color amarillo. Algunas vitaminas como la riboflavina, biotina, ácido pantoténico se encuentran también en los granos de polen. Enzimas como la dehidrogenasa, oxidasas, transferasas, hidrolasas, liasas y ligasas se han encontrado que son activas en el grano de polen de plantas superiores ( Stanley, 1971 ).

#### 4.7. Interacciones polen-estigma.

Las angiospermas comparten con las gimnospermas una forma de fertilización que se denomina sifonogamia, en la que los gametos son entregados directamente en el saco embrional del óvulo a través del tubo polínico. La evolución de ésta forma de transferencia de gametos confiere evidentemente numerosas ventajas, una de las cuales es la regulación de la germinación del grano de polen y el desarrollo de los tubos polínicos a través de los tejidos parentales del esporofito diploide. De esta manera, el estigma y el estilo pueden proporcionar barreras a la invasión de polen extraño y contribuir al aislamiento de las especies, o dentro de especies, y pueden seleccionar entre diferentes clases genéticas de polen y controlar el sistema de reproducción ( Heslop-Harrison, 1978 ). Este sistema de reconocimiento opera entre polen y células papilares localizadas en la superficie del estigma, permitiendo discriminar o seleccionar entre el polen deseado y el no deseado ( Heslop-Harrison, 1975 ).

Investigaciones recientes, han revelado que las proteínas localizadas en la pared celular de los granos de polen, están implicadas en los fenómenos de reconocimiento en la superficie del estigma.

Estas proteínas son liberadas de los granos de polen en la superficie del estigma y se asocian con las proteínas superficiales de

la región receptiva del estigma. Cuando interaccionan éstas proteínas dan origen a las reacciones que promueven o inhiben la germinación de los granos de polen. Se ha sugerido que éstas proteínas son del tipo de las glicoproteínas ( Heslop-Harrison, 1978 ).

#### 4.8. Viabilidad del polen.

La viabilidad del polen es afectada por factores ambientales, genéticos, y la condición fisiológica de la planta. Se ha consignado que la viabilidad se reduce cuando provienen de plantas jóvenes, árboles envejecidos, yemas florales débiles, plantas triploides y aberraciones cromosómicas durante la meiosis ( Martínez-Zaporta, 1964; Elliot, 1964; Swanson et al. 1981; Grigg et al. 1988; Polito y Weinban, 1988; citados por Pimienta, 1986 ). Entre los factores ambientales que afectan la viabilidad del polen se encuentran las temperaturas altas y bajas, sequía, fotoperiodo e intensidad de luz ( Kuo et al. 1981; Grigg et al. 1988; citados por Pimienta, 1986 ) y humedad relativa alta ( Klugness et al. 1983; citado por Pimienta, 1986 ). Las temperaturas altas causan división anormal de las células madres del polen y producen polen abortivo. Las enfermedades fungosas y virales causan anomalías en la meiosis, con la consecuente disminución de la viabilidad ( Pimienta, 1987 ).

La sensibilidad del grano de polen a factores ambientales afecta la expresión del esfuerzo reproductivo, lo cual a su vez puede ser un factor importante en la distribución geográfica y ecológica de especies nativas y cultivadas.

El período de tiempo en que un grano de polen es viable es variable entre especies. En especies frutales caducifolias la viabilidad del polen se puede prolongar hasta por diez días en condiciones ambientales

naturales y hasta por más de un año a temperatura baja (  $-40^{\circ}\text{C}$  ) (Pimienta, 1987; Polito y Luza, 1988; citados por Pimienta, 1986 ).

La pérdida de viabilidad de los granos de polen después de su liberación de las anteras, se debe a la desecación del grano de polen al exponerse al ambiente ( Pimienta, 1986 ).

#### 4.9. Receptividad del estigma

La eficiencia biológica de la polinización es definida en parte por la receptividad del estigma y la viabilidad del polen que se deposita en éste. En algunas especies el periodo de dehiscencia de las anteras no coincide con el tiempo en que el estigma es receptivo, como ocurre en las flores que presentan dicogamia. Sin embargo, existen casos en que se presenta sincronización entre ambos eventos, pero las condiciones ambientales prevalecientes pueden afectar la actividad de vectores de polen o bien la receptividad del estigma ( Pimienta, 1986 ).

Entre los factores ambientales que afectan la receptividad del estigma destacan los vientos secos y las temperaturas altas, que provocan la desecación del estigma. La lluvia en su acción directa causa dilución en la secreción estigmática ( Leopold y Kriedmann, 1975 ). Por otro lado, se reporta que la aplicación de nitrógeno prolonga el tiempo en que el estigma es receptivo, aumentando con esto el periodo de germinación de granos de polen, lo cual se refleja en un aumento en la eficiencia de la fecundación de óvulos ( Williams, 1965 ).

#### 4.10. Germinación de granos de polen.

La germinación de los granos de polen ocurre en la superficie receptiva del estigma, que puede ser húmedo o seco ( Foster y Gifford, 1974 ). Los estigmas húmedos se caracterizan por secretar un exudado que

generalmente coincide con la dehiscencia de las anteras. Los principales componentes de éste exudado son: agua, lípidos, fenoles, azúcares y minerales. Entre las funciones atribuidas a éstos componentes destaca el papel que juegan los lípidos y los fenoles. En el caso de los lípidos se sugiere que éstos funcionan como una cutícula líquida que protege a la secreción estigmática y al polen de la desecación. Los compuestos fenólicos ofrecen un proceso selectivo regulador para estimular o inhibir la germinación del polen ( Kapil y Bhatnagar, 1975 ).

Generalmente las superficies estigmáticas son glandulares. Y es común que éstas superficies estén cubiertas por una película externa de proteínas. Aparentemente ésta proteína es de naturaleza hidrofílica y es responsable de la atracción de agua, a través de discontinuidades en la cutícula subyacente; ésto contribuye a la captura e hidratación del grano de polen ( Mattson et al. 1974; citado por Kapil y Bhatnagar, 1975 ).

Poco tiempo después de que arriba el grano de polen al estigma, la superficie glandular (papilas) se colapsan y el citoplasma de éstas células inicia senescencia, liberando su contenido, el cuál estimula la germinación del polen ( Uwate, 1980 ).

La germinación del polen, se inicia con la activación de su metabolismo, ya que ocurren incrementos en la actividad respiratoria, síntesis de proteína y ARN (Leopold y Kriedmann, 1975 ). Estudios ultraestructurales de granos de polen en germinación revelaron que pocos minutos después de la emergencia del tubo polínico, se nota activación de los dictiosomas, lo cual se percibe por la liberación de vesículas cubiertas. Durante el desarrollo del tubo éstas vesículas se desintegran en el ápice del tubo, y se supone que contribuyen en la síntesis de componentes de la membrana y de la pared del tubo polínico en desarrollo

( Uwate, 1980 ). Otra evidencia de la activación del metabolismo, es el incremento en la actividad de diferentes tipos de enzimas hidrolíticas (fosfatasa, ribonucleasas, esterasas, peroxidasas, amilasas, etc. ), en la pared y citoplasma del grano de polen (Gorska-Brylas, 1965; Tewari et al. 1972; Mehan y Malik, 1976 ). La germinación se acompaña de la liberación de esta secreción sobre la superficie glandular; y se ha sugerido que participan activamente en la germinación del polen y en el desarrollo posterior del tubo polínico en el tejido estilar ( Knox y Heslop-Harrison, 1979; Knox, 1971 ).

#### 4.11. Desarrollo de tubos polínicos en el pistilo.

Una característica importante del carpelo de angiospermas es la continuidad que existe entre el tejido del estigma y la región placentar del ovario. Esta continuidad se establece a través del tejido de transmisión; que en algunas especies es del tipo sólido, aunque en un número reducido de especies el estilo es hueco, y en este caso el tejido de transmisión está representado por una epidermis glandular que reviste el canal estilar ( Foster y Gifford, 1974 ).

En los estilos "huecos" el crecimiento de los tubos polínicos es superficial y las secreciones de la epidermis glandular que reviste el canal, sirven para alimentar el tubo polínico durante su desarrollo y tal vez para orientar quimiotrópicamente el crecimiento del tubo hacia el ovario ( Yamada, 1965; Labarca y Lowes, 1974 ). Observaciones histoquímicas del canal estilar de *Lilium longiflorum*, revelaron que este canal está cubierto por una secreción mucilaginoso y material coloidal líquido. Los análisis histoquímicos revelaron que el material coloidal es rico en proteínas, polisacáridos, azúcares reductores y lípidos. Se sugiere que los azúcares son el principal sustrato

respiratorio en los estadios iniciales del crecimiento del tubo polínico, mientras que los estadios subsecuentes, utilizan los restantes materiales de reserva presentes en el material coloidal (Yamada, 1965)

Estudios ultraestructurales han revelado que los tubos polínicos se desarrollan entre canales de substrato que son similares a las paredes celulares primarias que caracterizan a las células del colénquima, y en realidad los tubos, resuelven parte de éstos engrosamientos colenquimatosos, sin causar daño interno al protoplasma de las células del tejido de transmisión ( Jensen y Fischer, 1969; Sassen, 1974; citados por Pimienta, 1986 ). Como recientemente Herrero y Arbeola (1989), han demostrado que el crecimiento del tubo polínico en *Prunus persica* depende de secreciones pistilares secuencialmente sincronizadas.

Las células de la planta en general, tienen una capacidad para discriminar entre propio y no propio ( Clarke y Knox, 1978, citados por Sedgley y Blesing, 1982 ), aún algunas especies soportan el crecimiento de tubos polínicos ajenos en el estigma y el estilo ( Lewis y Crowe, 1958; Knox y Clarke, 1980, citados por Sedgley y Blesing, 1982 ) y ocasionalmente en el ovario ( Lewis y Crowe, 1958; citados por Sedgley y Blesing, 1982 ). Esto parece ser un tanto ineficiente de cómo los tubos polínicos ajenos pueden competir con los tubos de la misma especie, y la polinización interespecífica es generalmente desafortunada en términos de fertilización y asentamiento de fruto, aún entre miembros del mismo género ( Sedgley y Blesing, 1982 ).

Después de que los tubos polínicos han atravesado el estilo se inicia un proceso de degeneración de células que evitan una entrada cercana de pelusa o vellos, una vez que los tubos polínicos han pasado a través del estilo. Este recurso aparte de regular el paso de los tubos

polínicos puede estar involucrado en la prevención de infecciones (Herrero y Arbeola, 1989). Este proceso de senescencia en el estilo termina con la abscisión de la parte floral al igual que otras (sépalos, pétalos, estambres), quedando únicamente el ovario y estructuras apendiculares adheridas al pedicelo o pedúnculo floral (Pimienta, 1990).

El número de tubos polínicos en la base del estilo es mucho mejor predicción del asentamiento de semillas que el número de tubos polínicos en el estigma. La reducción de los polínicos no es afectada por la edad de la flor receptiva (Cruzan, 1989).

El número de tubos polínicos que llegan a la base del estilo depende del origen del polen y parece ser una función de desaceleramiento del número de tubos polínicos presentes en el estigma (Cruzan, 1989).

El desarrollo de los tubos polínicos en el estilo es sensitivo a la fisiología del pistilo como en las polinizaciones en botones o polinizaciones a finales de la estación en algunas plantas (East y Yarnel, 1929; Yasuda, 1930; East, 1934; citado por Bradley y Griggs, 1965), y así mismo por la temperatura que prevalece durante la floración. Por ejemplo en peral los tubos polínicos llegan a la base del estilo en 24 horas cuando la temperatura es de 30°C; 72 horas a 15.5°C y 120 horas a 10°C (Mellenthin *et al.* 1972). En Manzano también, la temperatura afecta la tasa de desarrollo de los tubos polínicos. En esta especie se requiere un período de diez días para que se lleve a cabo la fecundación de los óvulos a 7°C; a 15°C los óvulos se fertilizan en dos días (Williams, 1970).

Esta sensibilidad varía entre especies y es dependiente del origen ecológico de las variedades o especies. Por ejemplo, en aguacate se

reporta que en las condiciones de clima templado prevalientes en los Angeles California, la flor se fecunda en un intervalo de tiempo que fluctua entre 28-44 horas; en contraste con las dos horas requeridas para la fecundación de esa planta en las condiciones tropicales de Trinidad Tobago ( Papademetriou, 1974-75 ).

El tiempo tomado por el tubo polínico para alcanzar el ovario es un factor de considerable importancia en la cosecha de la producción. Si la proporción de crecimiento del tubo es lenta la célula huevo no puede estar en una condición propicia para la fertilización cuando el tubo alcance el óvulo. En estudios preliminares Schroeder, ( citado por Papademetriou, 1974-1975 ), observó que el polen de aguacate germinó a través del estilo a una proporción de 0.139 mm en una hora bajo condiciones de los Angeles.

Un aspecto interesante del crecimiento de los tubos polínicos, es el hecho de que la tasa de crecimiento de los tubos polínicos es mayor cuando crecen del estigma a la base del estilo y se reduce cuando viajan de la base del estilo al micrópilo del óvulo ( Crisoto et al. 1988; Pimienta et al. 1983; Sedgley, 1979; citados por Pimienta 1990 ).

Una parte importante de la fisiología de los tubos polínicos que debe ser considerada, es la síntesis en el tubo polínico de un polisacárido complejo conocido como calosa. El estadio inicial de la formación de calosa ocurre durante la hinchazón del grano de polen antes de la emergencia del tubo. En este estadio, la calosa se deposita como una capa delgada en la superficie interna de la intina, cercana a los poros del grano. Al momento de la emergencia del tubo polínico la pared cercana al ápice del tubo polínico consiste de una lamela externa de pectina y una capa interna compuesta de celulosa y calosa. La calosa no se acumula en el ápice de los tubos polínicos. Cuando se elonga el tubo

polínico, se observa una formación acrópeta de tapones de calosa. La formación de tapones de calosa se observa en tubos creciendo in vitro y en tejidos del estilo (in vivo), se sugiere que la formación de los tapones de calosa sirve para el aislamiento de los gametos que se localizan en el ápice de los tubos polínicos, ayudando de ésta manera a mantener la integridad y a limitar la región a partir de la cuál la célula vegetativa absorbe nutrimentos de los tejidos estilares ( Foster y Gifford, 1974 ).

#### 4.12. Fecundación del saco embrional y viabilidad de óvulos.

Después de que los tubos polínicos alcanzan el ovario, pueden entrar a los óvulos por diferentes rutas. La más común es que el ápice del tubo polínico entre por el micrópilo y empuje a través del tejido nucelar hasta que alcanza el aparato huevo del saco embrional. Este tipo de penetración se designa como "porogámica"; en algunas especies el ápice del tubo penetra por el lado de la calaza del óvulo y continúa su desarrollo a lo largo de la superficie del saco embrional antes de alcanzar el aparato huevo. Este caso se le designa como "calazogamia"; un tercer modo de penetración designado como "mesogamia", consiste en que el ápice del tubo polínico penetra lateralmente por los tegumentos del óvulo para alcanzar el aparato huevo ( Foster y Gifford, 1974 ).

El destino final del tubo polínico es el saco embrional. Cuando llega el saco embrional descarga dos espermias; uno de éstos espermias se une con la célula huevo para formar el cigoto y el segundo espermia se fusiona con los dos núcleos polares de la célula central para formar el endospermo. Estos eventos constituyen la doble fertilización. Antes de que el tubo polínico llegue al saco embrional, se presentan cambios morfológicos y químicos en una de las sinérgidas que conducen a la

degeneración de ésta. Cuando el tubo polínico alcanza el saco embrional, el ápice de éste penetra en el aparato filiforme de la sinérgida que presenta degeneración temprana. Diversos investigadores han sugerido que al degenerar la sinérgida se libera una substancia o substancias que orientan o dirigen el crecimiento del tubo polínico hacia ésta sinérgida alterada ( Jensen, 1973 ).

Algunos investigadores sugieren que las sinérgidas no son indispensables para orientar el crecimiento del tubo polínico, debido a que en algunas especies vegetales se han presentado sacos embrionales que están ausentes las sinérgidas. Por otro lado se menciona que las sinérgidas participan en la diseminación de espermatozoides una vez que el tubo polínico ha penetrado en el saco embrional, ya que en éstas ocurre la apertura o rompimiento del ápice del tubo al entrar en contacto con el citoplasma de las sinérgidas ( Kapil y Bhatnagar, 1975; citado por Pimienta, 1990 ).

Probablemente el evento que presenta mas dificultades para explicar durante el proceso de la fecundación, es el proceso o mecanismo que hace posible la doble fecundación, o la unión de uno de los espermatozoides con la célula huevo y el otro núcleo polar, ya que los espermatozoides no presentan flagelos para moverse libremente una vez que son liberados en la sinérgida ( Pimienta, 1990 ).

La longevidad de los óvulos es un factor importante en las especies vegetales en que la parte de la planta de interés económico es el fruto. En éstas especies la formación del fruto va a depender de la fecundación de los óvulos viables. No obstante que la viabilidad de los óvulos es un factor importante en el asentamiento o "amarre" de fruto, el estudio de las causas que acortan o prolongan la viabilidad de los óvulos ha sido descuidado por un período largo de tiempo ( Pimienta y Polito, 1982 ).

La temperatura del ambiente juega un papel importante en la viabilidad de óvulos; actuando en sentido opuesto que en el desarrollo de tubos polínicos. Por lo general al incrementarse las temperaturas se acelera el desarrollo de los tubos polínicos, sin embargo en el caso de los óvulos las temperaturas altas reducen el período de tiempo en que los óvulos son viables ( Countanceau, 1971; Stosser y Anvari, 1982; Eaton, 1959; Thompson y Liu, 1973; Williams, 1970 ). Por otro lado se ha registrado también que las temperaturas bajas prolongan la viabilidad de los óvulos, sin embargo éstas temperaturas bajas retardan el desarrollo de los tubos polínicos y la fertilización llegando a ser una causa de la reducción en el asentamiento de frutos ( Thompson y Liu, 1973 ). En algunas especies frutales se ha observado que la diferenciación del saco embrional es afectada por las condiciones ambientales que prevalecen durante la floración ( Pimienta y Polito, 1983 ).

En un gran número de especies se carece de información relacionada con la longevidad de los óvulos, no obstante que en algunas especies frutales como manzana y pera se ha registrado una correlación alta entre la longevidad de los óvulos y el rendimiento ( Williams, 1970 ). En manzano, Williams ( 1970 ), registra que la principal limitante en el rendimiento de plantaciones comerciales de manzano, no es la transferencia de polen a los estigmas, sino que éstos desarrollen tubos polínicos que alcancen a los óvulos antes de que ocurra la senescencia de éstos.

Los períodos de longevidad de los óvulos varían de acuerdo a las especies. En cerezo dulce, los óvulos permanecen viables 3 a 4 días después de la polinización y por éste motivo se obtienen porcentajes más altos de "amarre" de frutos, cuando la polinización se efectúa un día después de la anthesis, que las realizadas dos o tres días después de

antesis ( Eaton, 1959; Stosser y Anvari, 1982 ). En el almendro la longevidad de los óvulos puede prolongarse hasta nueve días después de antesis (Pimienta y Polito, 1982 ). En manzano, se prolonga de siete a nueve días en "flores débiles" y de doce a trece días en "flores vigorosas" ( Williams, 1965 ).

Las observaciones preliminares, relacionadas con la viabilidad de óvulos, revelaron el efecto positivo de nitrógeno y la viabilidad de óvulos ( Dorsey, 1929; Howlett, 1937 ). Observaciones posteriores realizadas por Williams (1965), han reforzado éstas ideas. Este autor encontró que en árboles de manzano que recibieron aplicaciones de nitrógeno en verano, desarrollaron flores más "vigorosas", que en los árboles en los que no se aplicó nitrógeno en verano. En estas flores clasificadas como "vigorosas", se observó que la receptividad del estigma y la longevidad de los óvulos era mayor que en las flores clasificadas como "débiles".

#### 4.13. Abscisión de flor y fruto

Estudios realizados por Stephenson (1981); sugieren que la cantidad de flores caídas es dependiente de las condiciones climáticas adversas, la cantidad de recursos disponibles de la planta y anomalías genéticas.

Además la polinización intensa, el número de granos de polen viables depositados sobre el estigma receptivo (Silander y Primack, 1977; citados por Allison, 1982), la cantidad de óvulos fecundados, anomalías genéticas y la depredación por insectos influyen la producción de semillas ( Stephenson, 1981 ).

Muchas plantas maduran fruto de solo una fracción de sus flores polinizadas. Los frutos pueden ser abortados por falta de polinización,

depredación por vertebrados e invertebrados, condiciones climáticas adversas, poco desarrollo de óvulos, inactividad de las partes fotosintéticas de la planta y anomalías genéticas ( Bertin, 1982 ).

#### 4.14. Incompatibilidad sexual.

La incompatibilidad sexual ha sido definida por Brewbaker (1957), como la "inhabilidad de una planta que produce gametos funcionales de formar semillas cuando es autopolinizada". En plantas superiores particularmente en angiospermas se conocen cerca de un centenar de familias que presentan el fenómeno de incompatibilidad sexual. Por medio del sistema de incompatibilidad sexual, el estigma y el estilo crean barreras que evitan la invasión de polen y contribuyen al aislamiento de las especies, o dentro de especies, y de ésta manera controlan los sistemas de hibridación ( Heslop-Harrison, 1978 ).

Existen dos tipos de incompatibilidad, el gametofítico y el esporofítico. En el sistema esporofítico de incompatibilidad, el comportamiento del grano de polen es determinado por el genotipo del esporofito. La reacción de incompatibilidad o rechazo del gametofito masculino ( grano de polen ) ocurre en la superficie del estigma, por medio de la inhibición de la germinación del grano de polen o impedir la penetración en el tejido del estigma del tubo polínico en los casos que ocurre germinación. Las especies que presentan incompatibilidad esporofítica se caracterizan por producir granos de polen trinucleados y los estigmas son secos ( Nettancourt, 1977; Helop-Harrison, 1978; Linskens, 1982 ).

En el sistema gametofítico de incompatibilidad, el comportamiento de los granos de polen está determinado por el propio genotipo del grano de polen ( Heslop-Harrison, 1978 ). La inhibición del gametofito

masculino ocurre en el tejido estilar ( Linskens, 1982 ). Este sistema de incompatibilidad, es común en la mayoría de las especies frutales caducifolias ( Afify, 1933; Roy, 1938; Weeks y Latimer, 1939; Modlibowska, 1945; Socias et al. 1976; Pimienta et al. 1983 ) y se caracterizan por producir granos de polen binucleados y poseer estigma húmedo ( Nettancourt, 1977 ); registrándose una amplia variedad de expresiones morfológicas de incompatibilidad, siendo las más comunes las siguientes anormalidades: inhibición del crecimiento de los tubos polínicos en el estilo, que se acompaña por el abultamiento del ápice, ramificaciones laterales y formación de tapones largos de calosa (Afify, 1933; Roy, 1938; Weeks y Latimer, 1939; Modlibowska, 1945; Anvary y Stosser, 1978 ).

Las reacciones de reconocimiento en ambos sistemas de incompatibilidad son el resultado de las interacciones de proteínas localizadas en el grano de polen y el tejido del estilo (Heslop-Harrison, 1978; Linskens, 1982 ).

Los genes que gobiernan la autoincompatibilidad comúnmente actúan influyendo en la velocidad del crecimiento del tubo polínico. En cruzamientos compatibles el tubo polínico crece con rapidez, pero en cruzamientos incompatibles lo hacen tan lentamente que no alcanzan el saco embrionario, antes de que en éste ocurra senescencia, y la oostera haya cesado de ser receptiva ( Cronquist, 1984 ).

Sabemos que la incompatibilidad es compleja en muchas plantas debido a que pueden involucrar locis múltiples, interacciones o locis como competición, dominancia o epistasis existiendo total o parcial autoincompatibilidad y cambios temporales de incompatibilidad entre poblaciones. Estas interacciones pueden aumentar la aborción de frutos en muchas plantas ( Futuyama, 1983 ).

Stucky y Beckmann (1982) encontraron que *Ipomea pandurata* es predominantemente autopolinizada, sin embargo también ocurre la polinización cruzada. Esta planta presenta en algunas poblaciones poca formación de semilla o la esterilidad de éstas. Observaciones realizadas en el estilo y estigma indican que no germinan los granos de polen que proceden de autopolinización, además la relación polen/óvulo (p/o), morfología floral, producción de nectar y patrones de forrajeo de los insectos, sugieren que *Ipomea pandurata* es una especie obligada para realizar la polinización cruzada ( Stucky y Beckmann, 1982 ).

#### 4.15. Incongruencia

La incongruencia es una barrera de fertilización entre individuos que están menos relacionados, como en el caso que éstos pertenezcan a especies o géneros biológicos diferentes. Esta previene las mezclas interespecíficas por medio de mecanismos fisiológicos.

Las bases genéticas y fisiológicas de la incongruencia; no son completamente entendidas. Estudios preliminares han revelado que no es necesaria la síntesis de ARN y proteínas en el pistilo para crear la barrera de incongruencia ( Linskens, 1983 ).

## 5. METODOLOGIA

### 5.1. Descripción del material vegetativo.

Se utilizaron plantas adultas de Orquídea ( *Bahinia variegata* ) primaveral y de *Spathodea campanulata*, que se encuentran creciendo en los jardines aledaños a la Facultad de Ciencias Químicas de la Universidad de Guadalajara. La edad de las plantas de *B. variegata* es de aproximadamente 30 años y la de *S. campanulata* no fué posible determinar.

Las plantas de *S. campanulata* se utilizaron como fuente de polen que se empleó para los tratamientos de polinización críptica o incongruente que se aplicaron en las flores de *B. variegata*.

### 5.2. Mecanismos de polinización

Para este estudio se utilizaron plantas de *B. variegata* que se encuentran en los jardines de la Facultad de Ciencias Químicas en las cuales se realizaron análisis que consistieron en observaciones visuales de las flores durante el período de floración. Estas observaciones se realizaron a intervalos de tiempo de dos horas, empezando a las 8 a.m. y terminando a las 4 p.m.

La variable que se registró fué la siguiente:

- a) Registro de los insectos a las flores.

### 5.3. Tratamientos de polinización.

Se utilizó una planta de *B. variegata* que se encuentra localizada en los jardines de la Facultad de Ciencias Químicas.

En la planta de *B. variegata* se realizaron los siguientes tratamientos de polinización:

1) Polinización natural (PND).- Se permitió la polinización natural de 30 botones florales seleccionados en estadios similares de desarrollo, un día antes de su apertura floral.

2) Polinización incongruente 100% (PI).- Se polinizaron manualmente 30 botones florales con polen colectado de plantas de diferente especie, hasta que el estigma se observó ligeramente amarillo.

3) Autopolinización 100% (DAAP).- 30 botones florales fueron polinizados manualmente con su propio polen, hasta que el estigma se observó totalmente amarillo y se notó el abultamiento del exceso de polen en él.

4) Polinización incongruente (50%) + Autopolinización (50%). (PI + AP).- Se pesó la misma cantidad de polen incongruente (*S. campanulata*) y de polen propio (*S. variegata*) y se mezclaron ambos. Esta mezcla se aplicó manualmente en los estigmas de 30 botones florales. La depositación manual se realizó hasta que el estigma se observó ligeramente amarillo.

5) Polinización incongruente (primero) + Autopolinización (después) (PI/AP).- Se polinizaron manualmente 30 botones florales utilizando primero el polen incongruente y posteriormente su propio polen hasta que el estigma se observó ligeramente amarillo.

6) Autopolinización (primero) + Polinización incongruente (después) (AP/PI).- Se polinizaron manualmente 30 botones florales utilizando primero su propio polen y posteriormente el polen incongruente hasta que el estigma se observó ligeramente amarillo.

Después de realizados los tratamientos de polinización se colectaron cinco botones florales a diferentes intervalos de tiempo ( 5.

12, 24, 48, 72 y 96 horas ), a los cuales se les disectó el estilo. Los estilos se conservaron a temperaturas bajas en el congelador de un refrigerador doméstico.

Los estilos se sometieron al método de ablandamiento descrito por Jefferies y Belcher (1971) que consiste en colocar los estilos en una solución de carbonato de sodio al 5% durante una hora; se extrae ésta solución con una pipeta Pasteur y se agrega otra solución de carbonato de sodio al 1% y se llevan a la autoclave por un periodo de tres minutos.

Con el fin de evaluar el desarrollo de los tubos polínicos los estilos ablandados se tiñeron con azul lacmoide utilizando el método descrito por Cheadle et al. (1953).

Se evaluaron para todos los tratamientos las siguientes variables:

- a) Número promedio de óvulos por flor.
- b) Porcentaje de óvulos normales.
- c) Porcentaje de óvulos abortivos.
- d) Número promedio de semillas por fruto.
- e) Número de frutos que alcanzaron la madurez fisiológica.

#### 5.4. Análisis estadístico.

Se utilizó el diseño experimental de bloques completamente al azar, la unidad experimental es una flor. Los datos obtenidos se sometieron al análisis de varianza y cuando se encontraron estadísticamente significativas se aplicó la prueba de comparación de medias de Tukey y se usaron métodos estadísticos descritos por Little y Hills (1987) y Chou (1975).

## 6. RESULTADOS.

La literatura reporta que el análisis de varianza (ANDEVA) se basa en dos supuestos importantes que es recomendable verificar que se cumplan antes de realizar el ANDEVA. Los supuestos son los siguientes:

- 1) La variable que se va a comparar debe distribuirse normalmente.
- 2) Las varianzas dentro de los diferentes grupos deben ser homogéneas.

Cuando los datos no concuerden con éstas suposiciones pueden transferirse mediante diversas formas, como la transformación logarítmica, o la transformación de la raíz cuadrada, de manera tal que resulten adecuados para poder llevar a cabo el análisis de varianza, y consecuentemente que los cambios en el análisis provocados por la transformación no sean considerables ( Little y Hills, 1985 ).

En los datos obtenidos en este trabajo se comprobó que las varianzas no eran homogéneas por lo que se procedió a transferir los datos mediante la aplicación de la transformación de la raíz cuadrada previa a la evaluación de los análisis de varianza realizados en éste estudio.

### 6.1. Germinación de granos de polen.

La evaluación de la germinación de los granos de polen en el estigma a diferentes intervalos de tiempo después de realizados los tratamientos de polinización reveló significancia estadística entre los diferentes intervalos de tiempo (Cuadro 1 y Figura 1).

El análisis de varianza (ANDEVA) para la germinación de granos de polen en el estigma a las 5 horas después de realizada la polinización indicó diferencias estadísticas entre tratamientos (Tabla 1, apéndice). La prueba de comparación de medias (Tukey,  $P=0.05$ ) reveló que en el tratamiento DAAP se presentó la mayor germinación de granos de polen y la menor en el tratamiento de PI; aunque estadísticamente DAAP es similar a los tratamientos AP + PI, y superior al resto de tratamientos (AP/PI, PN y PI) los cuales presentaron el menor nivel de significancia estadística.

El análisis de varianza (ANDEVA) para la evaluación de la germinación de granos de polen en el estigma a las 12 horas después de la polinización reveló que existen diferencias estadísticas entre tratamientos (Tabla 2, apéndice). La prueba de comparación de medias (Tukey,  $P=0.05$ ) indicó que la más alta germinación de granos de polen se registró en los tratamientos de DAAP, PI/AP y AP/PI que muestran el mismo nivel de significancia estadística y que son superiores a los tratamientos PN, AP+PI y PI, los cuales presentaron el menor nivel de significancia estadística.

El análisis de varianza (ANDEVA) para la germinación de granos de polen en el estigma 24 horas después de la polinización, reveló diferencias estadísticas entre tratamientos (Tabla 3, apéndice). La prueba de comparación de medias (Tukey,  $P=0.05$ ) indicó que la mayor

germinación de granos de polen se encontró en el tratamiento de DAAP el cual es estadísticamente similar al tratamiento PI/AP, y superior a los tratamientos de PN, AP+PI, AP/PI y PI que presentaron el nivel de significancia menor.

El análisis de varianza (ANDEVA) para la germinación de granos de polen en el estigma a las 48 horas después de realizada la polinización indicó diferencias estadísticas entre tratamientos (Tabla 4, apéndice). Por otra parte, la prueba de comparación de medias reveló que en el tratamiento AP/PI se presentó la mayor germinación de granos de polen y la menor en el tratamiento PI; aunque estadísticamente AP/PI es similar a los tratamientos DAAP, PI/AP y PN, los cuales son superiores a los tratamientos AP+PI y PI que presentaron el menor nivel de significancia estadístico.

El análisis de varianza (ANDEVA) para la germinación de granos de polen en el estigma a las 72 horas después de la polinización mostró diferencias estadísticas entre tratamientos (Tabla 5, apéndice). Por otro lado la prueba de comparación de medias reveló que el mayor número de granos de polen germinados se encontró en los tratamientos DAAP, PI/AP y AP/PI, los cuales presentaron el mayor nivel de significancia estadística y son superiores a los tratamientos AP+PI, PN y PI que son inferiores y que presentaron el menor nivel de significancia estadística.

El análisis de varianza (ANDEVA) para la germinación de granos de polen en el estigma a las 96 horas después de la polinización indicó diferencias estadísticas entre tratamientos (Tabla 6, apéndice). Por otra parte, la prueba de comparación de medias (Tukey,  $P=0.05$ ) reveló que la mayor germinación de granos de polen se encontró en el tratamiento AP+PI y la menor en el tratamiento PI; aunque

estadísticamente AP+PI es similar a los tratamientos DAAP, PI/AP y AP/PI, y éstos son superiores a los tratamientos PN y PI los cuales presentaron el menor nivel de significancia estadística.

En los tiempos de observación mencionados previamente, se encontró que el menor número de granos de polen germinados se presentó en los tratamientos PN y PI.

Cuadro 1. Número promedio de granos de polen germinados sobre los estigmas de B. variegata, registrados a diferentes intervalos de tiempo después de la polinización.

Tratamiento <sup>1</sup>	Número promedio de granos de polen germinados					
	Horas después de la polinización					
	5	12	24	48	72	96
DAAP	2.95 a*	4.04 ab	4.62 a	3.52 ab	4.06 ab	4.27 ab
AP + PI	2.01 ab	1.31 cde	2.50 cd	1.73 e	3.07 bcd	4.49 a
PI/AP	1.14 abc	2.54 abc	4.09 ab	3.17 abc	3.74 abc	3.99 abc
AP/PI	0.70 bcd	4.40 a	1.44 cde	3.71 a	4.69 a	3.60 abcd
PN	0.70 bcde	1.54 cd	2.52 c	2.94 abcd	2.26 de	2.71 cde
PI	0.70 bcdef	0.70 cdef	1.24 cdef	0.98 ef	1.11 ef	1.17 f

\* Prueba de Tukey, P = 0.05.

<sup>1</sup> Los tratamientos son descritos en materiales y métodos.

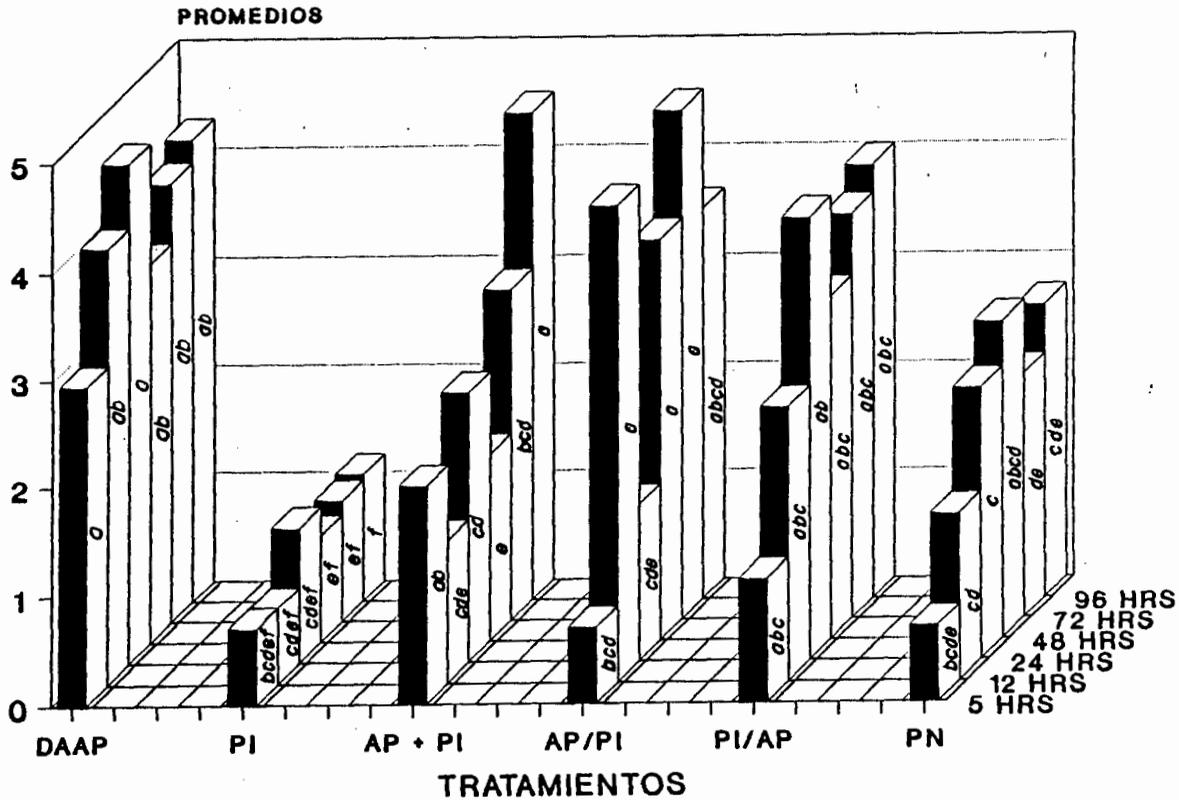


Figura 1. Número de granos de polen germinados en los estigmas de *B. variegata* registrados a diferentes intervalos de tiempo después de la polinización.

## 6.2. Frecuencia de tubos polínicos en diferentes posiciones del estilo a varios intervalos de tiempo después de la polinización.

La evaluación del desarrollo de la frecuencia de tubos polínicos en diferentes posiciones del estilo e intervalos de tiempo después de realizados los tratamientos de polinización reveló la existencia de significancia estadística entre tratamientos (Cuadro 2 y figuras 2, 3, 4 y 5).

Los análisis de varianza (ANDEVA) para la frecuencia de tubos polínicos en la porción Estigma -  $1/4$  a las 5, 12, 24, 48, 72 y 96 horas después de la polinización no mostraron diferencias significativas entre los tratamientos.

El análisis de varianza (ANDEVA) para la frecuencia de tubos polínicos en la porción  $1/4 - 1/2$  del estilo a las 12 horas después de la polinización mostró diferencias estadísticas entre tratamientos (Tabla 7, apéndice). Por otra parte, la prueba de comparación de medias (Tukey,  $P=0.05$ ), para la evaluación realizada a las 12 horas en el cuarto superior ( $1/4 - 1/2$ ) del estilo, reveló que los tratamientos de polinización mixta o combinada presentaron la frecuencia mas alta de tubos polínicos, aunque se nota que ésta frecuencia es mayor en el tratamiento PI/AP; aunque estadísticamente es similar a los dos tratamientos de polinización mixta (AP/PI y AP+PI). En menor frecuencia en ésta posición se encontró el tratamiento de PI, que muestra también el menor nivel de significancia estadística..

Los análisis de varianza (ANDEVA) para la frecuencia de tubos polínicos en la porción  $1/4 - 1/2$  del estilo a las 24 y 48 horas después de la polinización no indicaron diferencias estadísticas entre tratamientos.

El análisis de varianza (ANDEVA) para el número o frecuencia de tubos polínicos en la porción media superior de estilo (  $1/4 - 1/2$  ) a las 72 horas después de la polinización reveló diferencias estadísticas entre tratamientos ( Tabla 8, apéndice ). Por otro lado, la prueba de comparación de medias (Tukey,  $P=0.05$ ), reveló que la mayor frecuencia de tubos polínicos en esta posición y tiempo se encontró en el tratamiento de AP+PI y el menor con el tratamiento de DAAP; aunque estadísticamente el tratamiento de AP+PI es idéntico a los tratamientos AP/PI, PI/AP, PN y PI pero supera al de DAAP.

El análisis de varianza (ANDEVA) para la frecuencia de tubos polínicos en la porción  $1/4 - 1/2$  del estilo a las 96 horas después de realizada la polinización indicó diferencias estadísticas entre tratamientos (Tabla 9, apéndice). Por otro lado, la prueba de comparación de medias (Tukey,  $P=0.05$ ) reveló que la frecuencia mas alta de tubos polínicos se presentó en el tratamiento AP+PI y la menor en el de PI; aunque estadísticamente el tratamiento AP+PI es similar a los tratamientos de PN, PI/AP, AP/PI y DAAP, y superior al tratamiento de PI.

Los análisis de varianza (ANDEVA) para la frecuencia de tubos polínicos en la porción  $1/2 - 3/4$  del estilo a las 5 y 12 horas después de la polinización no señalaron diferencias entre tratamientos.

El análisis de varianza (ANDEVA) para la frecuencia de tubos polínicos en la porción  $1/2 - 3/4$  del estilo a las 24 horas después de los tratamientos de polinización indicó diferencias significativas entre tratamientos (Tabla 10, apéndice). Por otro lado, la prueba de comparación de medias (Tukey,  $P=0.05$ ), reveló que la autopolinización alta (DAAP) presentó la mayor frecuencia de tubos polínicos en esta posición y en el tratamiento de PI se encontró la menor; aunque

estadísticamente el tratamiento DAAP es similar a los tratamientos PI/AP, AP/PI, AP+PI y PN, los cuales son superiores al tratamiento de PI que presentó menor nivel de significancia estadística.

El análisis de varianza (ANDEVA) para la frecuencia de tubos polínicos en la porción  $1/2 - 3/4$  del estilo a las 48 horas después de los tratamientos de polinización indicó diferencias significativas entre tratamientos (Tabla 11, apéndice). La prueba de comparación de medias (Tukey,  $P=0.05$ ) indicó que el tratamiento de PN presentó la frecuencia más alta de tubos polínicos en esta posición y la menor frecuencia se observó en el tratamiento PI; aunque estadísticamente el tratamiento de PN es similar a los tratamientos de DAAP, PI/AP, AP+PI y éstos son superiores a los tratamientos de AP/PI y PI los cuales presentaron el menor nivel de significancia estadística.

El análisis de varianza (ANDEVA) para la frecuencia de tubos polínicos en la porción  $1/2 - 3/4$  del estilo a las 72 horas después de la polinización indicó diferencias estadísticas entre los tratamientos (Tabla 12, apéndice). Por otra parte, la prueba de comparación de medias (Tukey,  $P=0.05$ ), reveló que la frecuencia más alta de tubos polínicos en esta posición se presentó en el tratamiento de AP+PI, y la menor frecuencia se presentó en el tratamiento de PI, aunque estadísticamente AP+PI es similar a los tratamientos PN, PI/AP, AP/PI y DAAP, y superior al tratamiento PI el cual es estadísticamente inferior a los demás.

El análisis de varianza (ANDEVA) para la frecuencia de tubos polínicos en la porción  $1/2 - 3/4$  del estilo a las 96 horas después de realizada la polinización indicó diferencias estadísticas entre tratamientos (Tabla 13, apéndice). Por su parte, la prueba de comparación de medias (Tukey,  $P=0.05$ ), reveló semejanza estadística

entre los tratamientos AP+PI, PN, PI/AP, AP/PI y DAAP, los cuales son superiores al tratamiento de PI en el que se registró la menor frecuencia de tubos polínicos por lo que es estadísticamente inferior al resto de tratamientos.

Los análisis de varianza (ANDEVA) para la frecuencia de tubos polínicos en la porción 3/4 - Base del estilo a las 5 y 12 horas después de la polinización no presentaron diferencias significativas entre tratamientos.

Al evaluar la frecuencia de tubos polínicos en la porción 3/4-Base del estilo a las 24 horas después de la polinización se encontró diferencia significativa entre tratamientos según el análisis de varianza (ANDEVA) (Tabla 14, apéndice). Por otra parte, la prueba de comparación de medias (Tukey,  $P=0.05$ ), reveló que la frecuencia más alta de tubos polínicos en ésta posición se registró en los tratamientos DAAP y PI/AP que muestran el mismo nivel de significancia estadística y que son superiores al resto de tratamientos AP+PI, AP/PI, PN y PI.

La evaluación de la frecuencia de tubos polínicos en la posición 3/4 - Base del estilo a las 48 horas después de la polinización reveló que existen diferencias estadísticas entre tratamientos (Tabla 15, apéndice). Por otro lado, la prueba de comparación de medias indicó que la frecuencia más alta de tubos polínicos en ésta posición y tiempo se registró en los tratamientos AP+PI, PI/AP, PN, DAAP y AP/PI, los cuales presentaron el mismo nivel de significancia estadística, y la menor frecuencia se presentó en el tratamiento PI el cual es estadísticamente inferior a los demás.

El análisis de varianza (ANDEVA) para la frecuencia de tubos polínicos en la posición 3/4 - Base del estilo a las 72 horas después de la polinización no indicó diferencias estadísticas entre tratamientos.

El análisis de varianza (ANDEVA) para la frecuencia de tubos polínicos en la posición 3/4 - Base del estilo a las 96 horas después de la polinización, reveló diferencias estadísticas entre tratamientos (Tabla 16, apéndice). Por otro lado, la prueba de comparación de medias (Tukey,  $P=0.05$ ), reveló que la frecuencia más alta de tubos polínicos en ésta posición se observó en el tratamiento PN y la menor frecuencia en el tratamiento PI; aunque estadísticamente el tratamiento de PN es similar a los tratamientos AP+PI, PI/AP y DAAP, pero superior a los tratamientos AP/PI y PI que presentaron el menor nivel de significancia estadística.

Cuadro 2. Frecuencia de tubos polínicos en diferentes posiciones del estilo de *B. variegata* a diferentes intervalos de tiempo después de la polinización.

5 horas después de la polinización					12 horas después de la polinización			
Posición de los tubos polínicos en el estilo								
Tratamiento	E - 1/4	1/4 - 1/2	1/2 - 3/4	3/4 - B.E.	E - 1/4	1/4 - 1/2	1/2 - 3/4	3/4 - B.E.
DAAP	0.0	0.0	0.0	0.0	1.21 a*	0.70 bcd	0.0	0.0
AP + PI	0.0	0.0	0.0	0.0	1,34 a	1.28 abc	0.0	0.0
PI/AP	0.0	0.0	0.0	0.0	0.93 a	1.39 a	0.0	0.0
AP/PI	0.0	0.0	0.0	0.0	1.46 a	1.31 ab	0.0	0.0
PN	0.0	0.0	0.0	0.0	1.10 a	0.70 bcde	0.0	0.0
PI	0.0	0.0	0.0	0.0	1.18 a	0.70 bcdef	0.0	0.0

24 horas después de la polinización					48 horas después de la polinización			
Posición de los tubos polínicos en el estilo								
Tratamiento	E - 1/4	1/4 - 1/2	1/2 - 3/4	3/4 - B.E.	E - 1/4	1/4 - 1/2	1/2 - 3/4	3/4 - B.E.
DAAP	1.04 a*	1.57 a*	1.86 a	1.68 a	1.11 a*	1.85 a*	1.91 ab	1.87 abcd
AP + PI	1.15 a	1.33 a	1.55 abcd	0.70 c	0.80 a	1.97 a	1.81 abcd	2.14 a
PI/AP	0.70 a	1.46 a	1.85 ab	1.50 ab	0.93 a	2.00 a	1.85 abc	2.05 ab
AP/PI	1.11 a	1.57 a	1.65 abc	0.70 cd	0.70 a	1.67 a	1.54 bcde	1.81 abcde
PN	1.01 a	1.56 a	1.27 abcde	0.70 cde	1.08 a	1.56 a	2.15 a	2.04 abc
PI	1.08 a	1.89 a	0.70 ef	0.70 cdef	1.14 a	1.69 a	1.44 bcdef	0.70 f

72 horas después de la polinización					96 horas después de la polinización			
Posición de los tubos polínicos en el estilo								
Tratamiento	E - 1/4	1/4 - 1/2	1/2 - 3/4	3/4 - B.E.	E - 1/4	1/4 - 1/2	1/2 - 3/4	3/4 - B.E.
DAAP	1.08 a*	1.44 bcdef	1.89 abcde	2.17 a*	1.08 a*	1.44 abcde	1.89 abcde	2.47 abcd
AP + PI	1.26 a	2.21 a	2.30 a	2.58 a	1.53 a	2.05 a	2.45 a	2.61 abc
PI/AP	1.21 a	1.96 abc	2.15 abc	2.40 a	0.98 a	1.81 abc	2.16 abc	2.61 ab
AP/PI	1.08 a	2.09 ab	2.28 ab	2.48 a	1.78 a	1.74 abcd	1.92 abcd	2.11 bcde
PN	1.08 a	1.77 abcd	1.98 abcd	2.18 a	1.01 a	1.90 ab	2.44 ab	3.10 a
PI	0.90 a	1.56 abcde	1.44 def	1.96 a	1.27 a	1.18 cdef	1.67 cdef	1.02 f

\* Medias agrupadas con la misma letra dentro de columnas no difieren estadísticamente (Prueba de Tukey, P = 0.05)

1. E - 1/4 = Estigma a un cuarto del estilo 2. 3/4 - B.E. = Tres cuartos a la base del estilo.

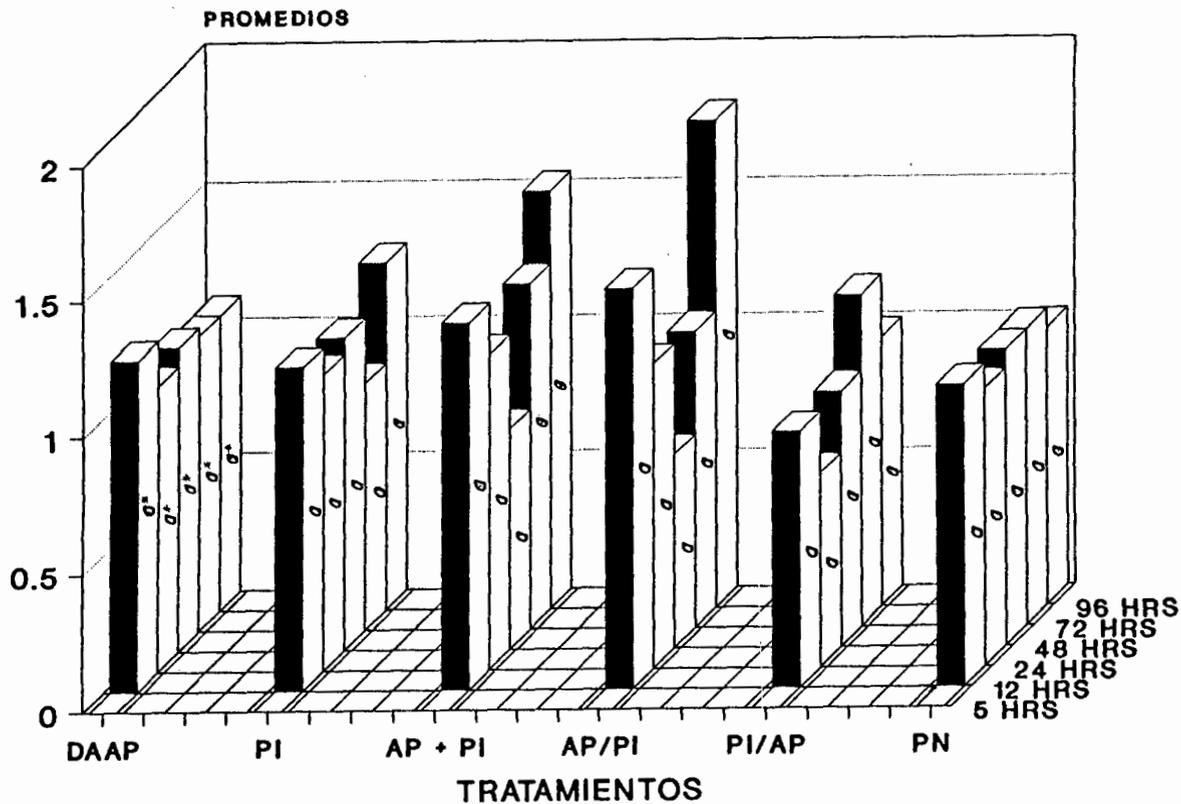


Figura 2. Frecuencia de tubos polínicos en la posición E-1/4 del estilo de *B. variegata* a diferentes intervalos de tiempo después de la polinización.

\* Medias agrupadas con la misma letra en cada columna no difieren estadísticamente (Prueba de Tukey,  $P = 0.05$ ).

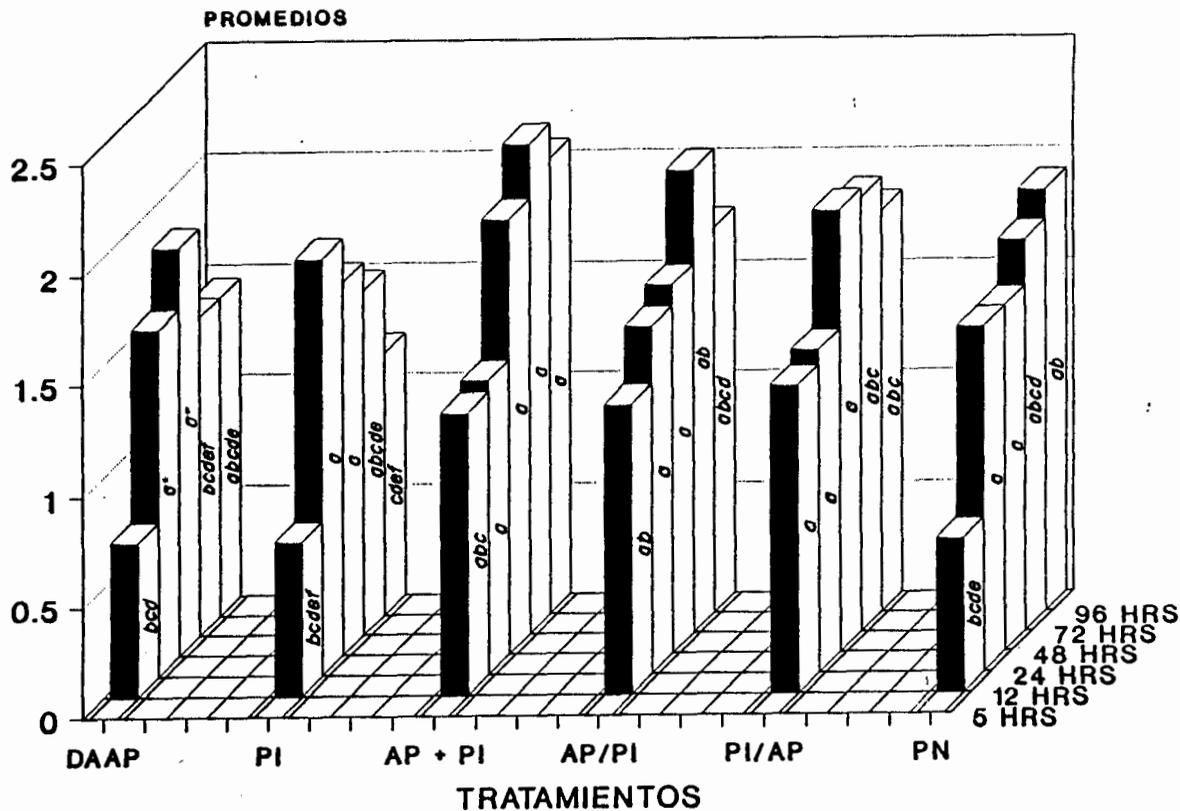


Figura 3. Frecuencia de tubos polínicos en posición 1/4 - 1/2 del estilo de *B. variegata* a diferentes intervalos de tiempo después de la polinización.

\*Medias agrupadas con la mismo letra en cada columna no difieren estadísticamente. (Prueba de Tukey,  $P = 0.05$ ).

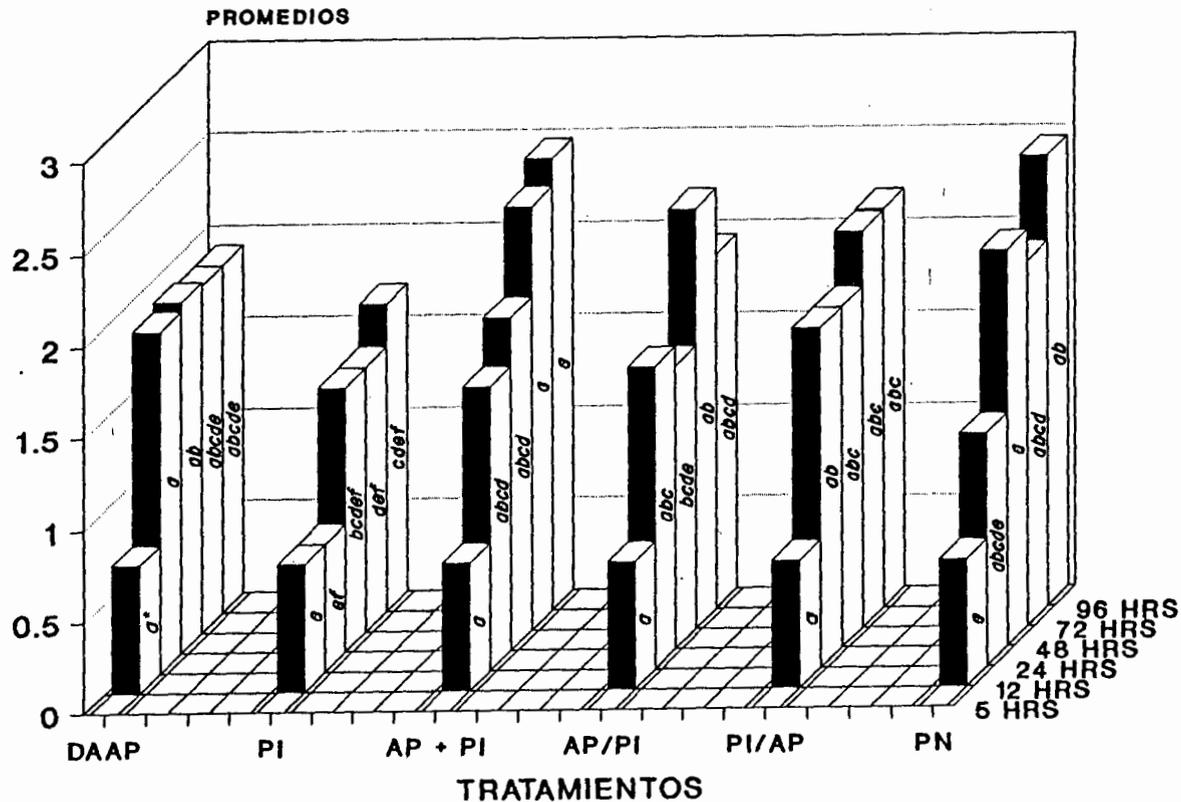


Figura 4. Frecuencia de tubos polínicos en la posición 1/2 - 3/4 del estilo de *B. variegata* a diferentes intervalos de tiempo después de la polinización.

\*Medias agrupadas con la misma letra dentro de columnas no difieren estadísticamente (Prueba de Tukey,  $P = 0.05$ ).

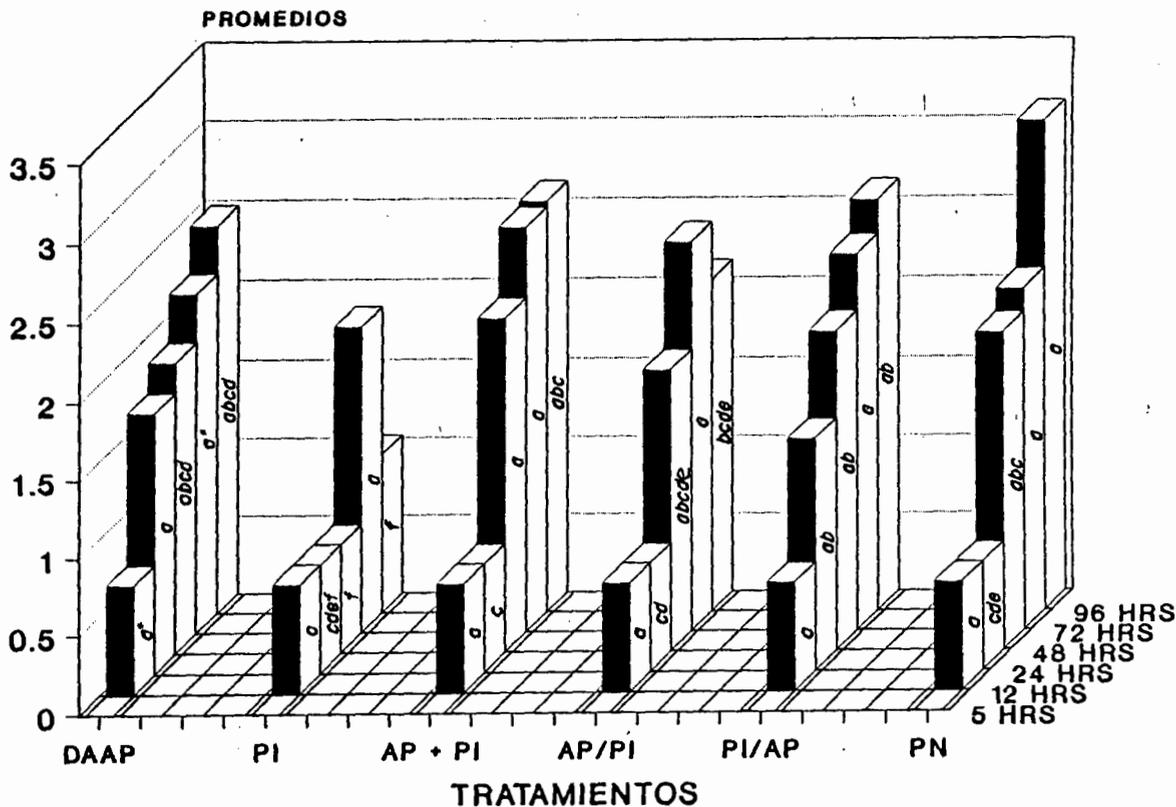


Figura 5. Frecuencia de tubos polínicos en la posición 3/4 - Base del estilo de *B. variegata* a diferentes intervalos de tiempo después de la polinización.

\* Medias agrupadas con la misma letra en cada columna no difieren estadísticamente (Prueba de Tukey,  $P = 0.05$ ).

6.3. Porcentaje de estilos con tubos polínicos en la base del estilo de *B. variegata*.

La evaluación del porcentaje de estilos con tubos polínicos en la base en los diferentes tratamientos de polinización y a diferentes intervalos de tiempo ( 5, 12, 24, 48, 72 y 96 horas ) nos reveló diferencias entre tratamientos (Cuadro 3). Durante los dos primeros tiempos de observación (5 y 12 horas), no se registraron tubos polínicos en la base del estilo en los diferentes tratamientos evaluados. Los primeros estilos con tubos polínicos en su base se encontraron a partir de las 24 horas y únicamente en los tratamientos de DAAP y PI/AP; siendo mayor el porcentaje en la DAAP (100%). A partir de las 48 horas todos los tratamientos, con excepción de PI, mostrarán tubos polínicos en la base de los estilos. A las 72 horas en todos los tratamientos evaluados se encontró el 100% de los estilos con tubos polínicos en su base.

Cuadro 3.- Porcentaje de estilos con tubos polínicos en la base del estilo de *B. variegata* en los diferentes tratamientos de polinización

TRATAMIENTOS	Horas después de la polinización				
	5	12	24	48	72
DAAP	0	0	100%	80%	100%
PI	0	0	0	0	100%
AP+PI	0	0	0	100%	100%
AP/PI	0	0	0	100%	100%
PI/AP	0	0	60%	100%	100%
PN	0	0	0	100%	100%

6.4. Relación entre el número de óvulos por flor y el número y porcentajes de éstos que forman semillas, bajo diferentes tratamientos de polinización congruente e incongruente en *B. variegata*.

La evaluación del promedio de óvulos por flor y el número y el porcentaje de óvulos que formaron semillas entre los diferentes tratamientos (Cuadro 4) nos señaló que el promedio más alto de semillas por fruto se presentó en el tratamiento DAAP y el menor en el tratamiento PI; tenemos después al tratamiento de polinización natural (PN) seguido de las polinizaciones con mezclas de polen. En el porcentaje de óvulos que formaron semillas se observa la misma tendencia, donde el mayor se encontró en el tratamiento DAAP (35.51), seguido de la polinización natural (30.44); después tenemos a los tratamientos con mezclas de polen los cuales si los analizamos juntos tenemos un promedio de 20.59 y por último el tratamiento de PI (2.30).

Cuadro 4.- Relación entre el número de óvulos por flor, y el número y porcentajes de éstos que forman semillas, en *S. variegata*.

TRATAMIENTOS	Promedio de óvulos por flor	Promedio de semillas por fruto	Porcentaje de óvulos que formaron semillas
DAAP	10.84	3.85	35.51
PI		0.25	2.30
AP+PI		2.75	25.36
AP/PI		2.15	19.83
PI/AP		1.80	16.60
PN		3.30	30.44

6.5. Porcentaje de asentamiento de frutos bajo diferentes tratamientos de polinización congruente e incongruente en *B. variegata*.

La evaluación del porcentaje de asentamiento de frutos en los diferentes tratamientos se presenta en el Cuadro 5. El porcentaje mayor se observó en el tratamiento DAAP (50%) seguido por el tratamiento de PN (45%), AP+PI (40%); PI/AP (40%); AP/PI (35%) y con el menor porcentaje (5%) en el tratamiento de PI.

Cuadro 5.- Porcentaje de asentamiento de frutos bajo diferentes tratamientos de polinización congruente e incongruente en *B. variegata*.

Tratamientos	Número de vainas	Porcentaje de asentamiento de frutos
DAAP	10	50
PI	1	5
AP + PI	8	40
AP/PI	7	35
PI/AP	8	40
PN	9	45

6.6. Frecuencia de la visita de polinizadores a las flores de *B. variegata* en diferentes intervalos de tiempo.

Al realizar la evaluación de los polinizadores más frecuentes en las flores de *B. variegata* se pudo observar tanto a himenópteros (abejas, abejorros, avispas), lepidópteros (mariposas) y apodiformes (colibríes). (Figura 6). Durante las primeras horas de la mañana (8:00 - 10:00 a.m.) las colibríes fueron las más abundantes, entre las 10:00 a.m. y las 12:00 p.m., se acrecentó la frecuencia de los abejorros (*Bombus* sp ) y las abejas (*Apis* sp), disminuyendo en las siguientes horas. Tanto las mariposas (lepidópteros) como las avispas (vespídos) se observaron en menor proporción que los demás.

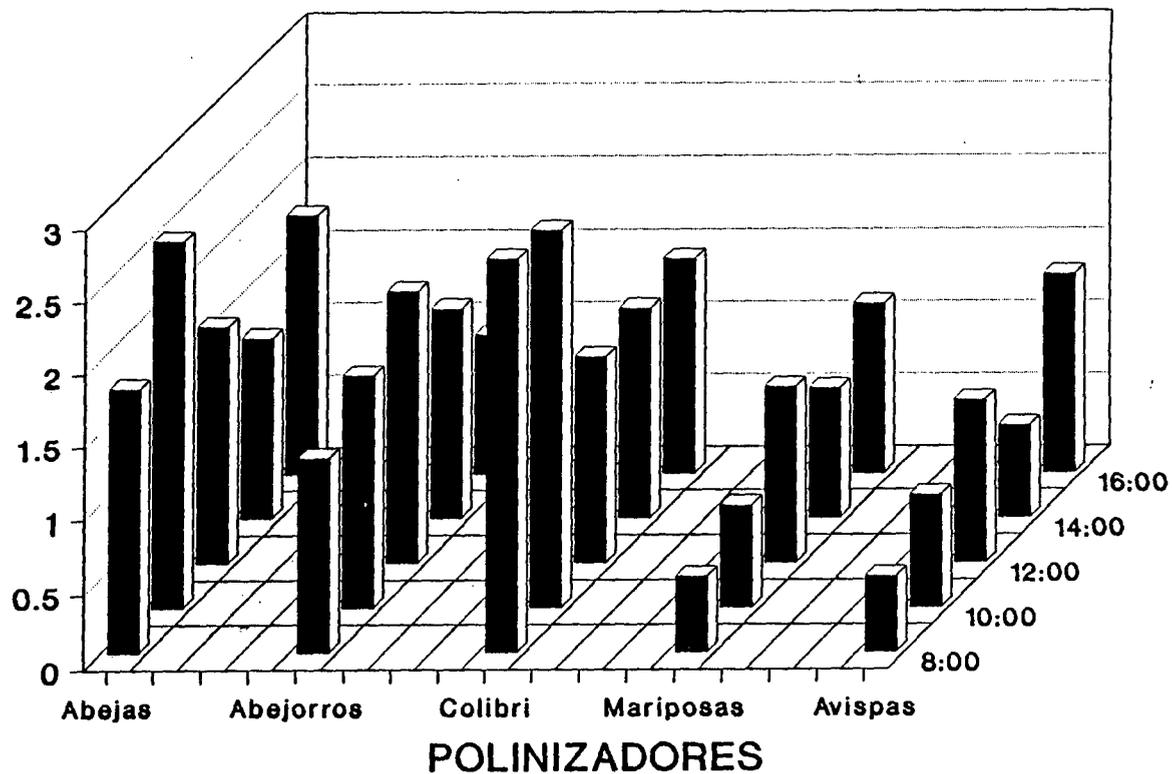


Figura 6. Frecuencia de polinizadores a las flores de *B. variegata* registrado a diferentes intervalos de tiempo.

## 7. DISCUSION.

La diferenciación de las angiospermas, fue acompañada por el desarrollo de mecanismos de polinización y se considera que éste es el primer filtro que funcionó para mantener la individualidad de las especies (Linskens, 1982; citado por Pimienta, 1990). Después de la revisión de la literatura, Waser (citado por Randall e Hilu, 1990), propuso que la competencia es el mecanismo que pudo haber llevado en mucho, a la diversidad de hoy en la morfología de la flor y los períodos de floración. Pleasants (citado por Randall e Hilu, 1990), citó a la competencia por la polinización como una importante fuerza directa a la fenologías de floración dentro de asociaciones de plantas e indicó que las comunidades pudieron ser estructuradas como resultado de interacciones con polinizadores. Las abejas (Apis sp.), abejorros (Bombus sp.), colibríes (Capodiformes), y en menor proporción mariposas (Lepidópteros) y avispas (Vespidos) fueron los polinizadores más frecuentes que se encontraron en las flores de *B. variegata*.

En adición a los mecanismos de polinización las angiospermas desarrollaron una fase intermedia, previa a la fecundación del gametofito femenino que empieza con la germinación del grano de polen en el estigma; continúa con el desarrollo del tubo polínico en el estilo y finaliza con la penetración al óvulo, en donde se fecunda el gametofito femenino (Pimienta, 1990). Esta fase intermedia, previo a la fecundación contribuye al control del sistema reproductivo en angiospermas, debido a que el estigma y el estilo pueden proporcionar barreras que contribuyen al aislamiento entre especies o dentro de las especies (Heslop-Harrison, 1978).

Los mecanismos de control reproductivo que se expresan durante la fase progámica en combinación con los mecanismos de polinización funcionan como filtros para mantener la individualidad de las especies. de otra manera la evolución de especies vegetales habría tomado otro camino, ya que en poblaciones silvestres la polinización es variable en cuanto a que en los estigmas se depositan en forma natural polen de géneros y especies diferentes al receptor. De no existir mecanismos de control reproductivo la hibridación natural sería caótica (Linskens, 1982). De hecho, observaciones sobre la depositación de granos de polen en los estigmas de especies silvestres, han mostrado que la densidad y la pureza de los granos que se depositan en el estigma varían de flor en flor dentro de una misma planta. Diferentes autores han encontrado que las variaciones en la densidad de polinización y la pureza de polen afectan el esfuerzo reproductivo (Galen y Newport, 1988; Bertin y Sullivan, 1988). Bertin y Sullivan (1988), mencionan que el efecto depresivo o reducción en el esfuerzo reproductivo causado por la depositación simultánea de mezcla de polen de diferentes especies, ha contribuido a la evolución de mecanismos que evitan la geitonogamia (e.g. dicogamia, hercogamia, heterostilia).

En este trabajo se evaluó el efecto de polinizaciones congruentes, es decir con polen de la misma especie e incongruente, con polen derivado de un género no relacionado, y la aplicación combinada de polen congruente e incongruente. Esta evaluación se llevó a cabo a través del registro de la germinación de granos de polen, desarrollo de tubos polínicos en el estilo y el asentamiento de vainas y semillas, en flores de *Bahuvia variegata*, que manifiesta heterostilia del tipo "Pin", que es una característica morfológica que evita la autopolinización (geitonogamia) y favorece la xenogamia o fecundación

cruzada. Además se evaluó la variabilidad en la morfología de granos de polen que se depositaron en los estigmas. Esta última evaluación reveló la existencia de variabilidad en la densidad y pureza de los granos de polen que se depositan en los estigmas de *B. variegata*, es decir que en condiciones naturales de polinización en los estigmas de ésta especie se deposita polen derivado de otras especies .

Cuando ocurre éste fenómeno de mezclas de polen de diferente origen, se ha encontrado que se presentan problemas de competencia por espacio físico en los estigmas, y por espacio del tejido de transmisión del estilo (Randall e Hilu, 1990); aunque también operan mecanismos fisiológicos de reconocimiento tanto en el estigma como en el estilo. Se considera que hay dos barreras que operan durante la fase progámica para controlar el sistema reproductivo, una de ellas son el complejo de genes barrera que se activa durante la interacción de polen y estigma. Estos genes pueden generar una reacción de inhibición en el caso de que se deposite polen incompatible o incongruente o viceversa, lo cual se refleja en la inhibición de la germinación de los granos de polen. Sin embargo en algunos casos la reacción de rechazo de polen impropio (incompatible o incongruente) puede ocurrir también en el estilo o incluso en el óvulo.

Cruzan (1990), menciona que el éxito de fertilización del polen de un donante puede ser modificado dependiendo en que otro polen esté presente en el estigma. Esto podría pasar a causa de las interacciones entre los tipos de polen. Además, Thomson (citado por Cruzan, 1990) reportó un muy bajo porcentaje de germinación del polen en estigmas jóvenes en *Erythronium grandiflorum* y especuló que éste efecto se debe probablemente a las bajas cantidades de exudado estigmático presente.

En el caso de éste trabajo la germinación de granos de polen bajo los diferentes tratamientos evaluados mostró que existe variabilidad en el número de granos de polen que germinaron en el estigma.

Estos números fueron mayores cuando se autopolinizó la flor con su propio polen y cuando éste polen se combinó con polen incongruente; aunque es importante hacer notar que el número menor de granos de polen germinados se encontró en el tratamiento de polinización incongruente. Aunque es importante mencionar que en todos los tratamientos se registró una pobre germinación de granos de polen, lo cuál no se pudo diferenciar si fué debido a que un porcentaje alto de granos de polen son inviables, ya que no se tuvo respuesta de germinación in vitro, o bien el fenómeno de rechazo en el estigma para el propio polen o el polen ajeno es alto.

En contraste con las diferencias en los números de granos de polen que germinaron en el estigma, llama la atención de que a pesar de que a las 5 y 12 horas después de la polinización en el tratamiento de DAAP se registró uno de los números más altos de germinación, por el contrario a las 12 horas presentaba un número bajo de tubos polínicos en el cuarto superior del estilo. En el resto de tiempos en que se registró la frecuencia de tubos polínicos en el estilo se encontró que con excepción del tratamiento de PI, el resto de los tratamientos mostraron frecuencias similares de tubos polínicos en el estilo; es decir que el desarrollo de los tubos polínicos derivado del propio polen de la flor no fué afectado cuando, éste se desarrollo con polen impropio o incongruente. Lo anterior nos permite concluir que si bien el estigma y el estilo mostraron cierto grado de rechazo del polen y tubos polínicos derivados de polen incongruente, éste fenómeno fué menor cuando se combinaron ambos tipos de polen y aparentemente no se detectaron diferencias claras, en cuanto a rechazo de polen derivado tanto de

polinizaciones congruentes como incongruentes.

Sin embargo, al evaluar los porcentajes de estilos con tubos polínicos en la base del estilo a diferentes intervalos de tiempo después de la polinización se encontró que la mayor tasa de crecimiento de tubos polínicos fué en el tratamiento de autopolinización (DAAP) y cuando se polinizó primero con polen propio (AP) y encima de éste se colocó polen impropio (PI), lo cuál está revelando que el polen propio tiene mayor compatibilidad. Una menor tasa de desarrollo de tubo polínico se registró en el tratamiento de polinización incongruente (PI), aunque este retraso o menor tasa de crecimiento de sus tubos polínicos fué de únicamente 48 horas, ya que finalmente a las 72 horas después de la polinización el 100% de los estilos mostraron tubos polínicos en su base.

Llama la atención también el hecho de que en ninguno de los tratamientos de polinización evaluados se registraron deformaciones en los tubos polínicos que son características cuando el estilo presenta reacciones de rechazo tales como: abultamiento del ápice, depositación de tapones largos de calosa, ramificaciones laterales etc. que han sido reportadas en estilos de otras especies cuando operan los fenómenos de rechazo (Heslop-Harrison, 1978).

Lo anterior nos permite sugerir que el fenómeno de rechazo de la polinización incongruente probablemente se expresa en los óvulos, como se ha reportado que ocurre en polinizaciones incompatibles en cerezo (Anvari y Stosser, 1978) y en cacao, en que la reacción de incompatibilidad o rechazo ocurre en los óvulos, lo cual coloca a *B. variegata* como una especie mas que presenta barreras en el ovario, que participen directamente en el proceso de rechazo de polen impropio (Nettancourt, 1977).

La diferencia más notable entre tratamientos se registró cuando se evaluó el efecto de éstos en el esfuerzo reproductivo. Los porcentajes más bajos de asentamiento de frutos se encontraron en el tratamiento de PI (5%) y en el que primero se depositó en el estigma polen incongruente (PI) y arriba de éste polen congruente (AP).

En el resto de tratamientos en que el propio polen (AP) tuvo contacto directo con el estigma al momento de la polinización mostraron porcentajes mayores de asentamiento de frutos.

También es importante mencionar que en el tratamiento en que se colocó primero el polen incongruente (PI) y arriba de éste el congruente (AP) no se afectó significativamente el porcentaje de asentamiento de vainas, a pesar de que el polen incongruente se colocó en una posición física desfavorable. En este caso se esperaría que el polen congruente por estar colocado en una posición desfavorable en el estigma presentara germinación tardía, lo cual probablemente explique el porque presenta un menor porcentaje de asentamiento de vainas, ya que es poco probable que el asentamiento de éstas se atribuya a tubos polínicos derivados de polen incongruente (PI), ya que cuando éste se aplicó solo tuvo un porcentaje relativamente bajo de flores que se transformaron en vainas.

Tendencia similar se observó con el porcentaje de óvulos que se transformaron en semillas, en que el menor número de óvulos que formaron semillas se registró en el tratamiento de PI. Lo anterior, sin embargo revela que en *B. variegata* la incongruencia no es una barrera de fertilización eficiente que evite el flujo genético entre especies o géneros distantes como ocurrió en éste trabajo, por lo que se puede concluir que ante la falta de esta barrera de incongruencia no se puede mantener fácilmente la identidad de esta especie en condiciones

naturales o poblaciones silvestres, en que potencialmente se tenga un amplio flujo genético por compartir polinizadores comunes con especies en que coincide la fenología de floración.

Al no tener desarrollados mecanismos fisiológicos de aislamiento reproductivo en ésta especie, se esperaría que ésta planta en condiciones naturales recurra a otro tipo de mecanismo de aislamiento, para mantener su identidad como especie. Sin embargo, aparentemente el control de los sistemas reproductivos que operan durante la fase progámica desempeñan un papel importante como barreras genéticas para el intercambio o flujo genético entre poblaciones (Linskens, 1982).

## 8. CONCLUSIONES

Las observaciones de la depositación de granos de polen en los estigmas de *Bahinia variegata* revelaron que los estigmas de las flores son cubiertos por una combinación de granos de polen tanto propios como ajenos lo que origina una variación en la calidad y el tipo de polen.

El esfuerzo reproductivo en *B. variegata* se vió afectado al variar la pureza del polen depositado en el estigma, debido a que el porcentaje de óvulos que se transformaron en semillas fué mínimo en el tratamiento de polinización incongruente, en comparación con los tratamientos de mezclas de polen y el de autopolinización.

La germinación de granos de polen en los diferentes tratamientos evaluados se mostró que fué muy escasa, lo que aparentemente se debió a que un porcentaje alto de granos de polen son inviábiles o bien a que existe cierto rechazo a nivel del estigma para los granos de polen ajenos.

En el estilo se observó un cierto grado de rechazo para los tubos polínicos incongruentes disminuyendo éste cuando se aplicó una combinación de polinización congruente e incongruente, lo cual nos revela que el polen propio tiene una mayor compatibilidad.

El hecho de que no se encontraran diferencias significativas en la frecuencia y tasa de crecimiento de tubos polínicos en polinizaciones congruentes e incongruentes, aunado a que el esfuerzo reproductivo fué menor en la polinización incongruente, nos permite suponer que las barreras de incongruencia que evitan la fecundación se localizan en el óvulo.

## BIBLIOGRAFIA

- Afify, A. 1933. Pollen tube growth in diploid and polyploid fruits. J. Pom. and Hort. Sci. 11: 113-119.
- Allison, A. Snow, 1982. Pollination intensity and potential seed set in *Passiflora vitifolia*. Oecologia (Berl), 55: 231-237.
- Anvari, F.S. and R. Stosser. 1978. Fluoreszenzmikroskopische untersuchungen des pollenschlauchwachstums und des zustands der samenantagen bei sauerkirschen. Mitt Klosterneuburg. 28: 23-30.
- Bertin, I. R. 1982. Floral biology, hummingbird pollination and fruit production of trumpet creeper (*Campsis radicans*, Bignonaceae). Amer. J. Bot. 69(1): 122-134.
- Bertin, I. R. and Sullivan, 1988. Pollen interference and criptic self-fertility in *Campsis radicans*. Amer. J. Bot. 75(8): 1140-1147.
- Bradley, V. M. and W. H. Griggs. 1963. Morphological evidence of incompatibility in *Olea europea* L. Phytomorphology 13(2): 141-156.
- Brewbaker, J. L. 1957. Pollen cytology and incompatibility systems in plants. J. Hered. 48: 271-277.
- Cheadle, V. I., E. M. Gifford and K. Esau. 1953. A staining combination for phloem and contiguous tissues. Stain Technol. 28(2): 49-53.
- Chou, Y. L. 1987. Análisis estadístico. Editorial Interamericana. Octava reimpresión. México 808 p.
- Countanceau, M. 1971. Fruticultura. Oikos-Tau, S.A. Barcelona, España. 608 p.
- Cronquist, A. 1984. Introducción a la botánica. Segunda edición, Editorial CECSA. México. D.F. 848 p.
- Cruzan, M. B. 1989. Pollen tube attrition in *Brithronium grandiflorum*. Amer. J. Bot. 76(4):562-570.

- Cruzan, M. B. 1990. Pollen-Pollen and pollen-style interactions during pollen tube growth in *Brithronium grandiflorum* (Liliaceae). Amer. J. Bot. 77(1):116-122.
- Dorsey, J. M. 1929. The relation between embryo-sac development and the set fruit of apple. Proc. Amer. Soc. Hort. Sci. 26:56-61.
- Eaton, G. W. 1959. A study of the megagametophyte in *Prunus avium* and its relation to fruit setting. Can. J. Plant. Sci. 39:466-476.
- Echlin, P. 1971. The role of the tapetum during microsporogenesis of angiosperms. In: Pollen development and physiology J. Heslop-Harrison (ed). Appleton Century-Crofts. New York, pp. 41-61.
- Esau, J. 1965. Plant anatomy (2nd. ed.). Willey and Sons, Inc. New York. 767 p.
- Esau, J. 1977. Anatomy of seed plants. 2nd. ed. John Willey and Sons, New York. 550 p.
- Font-Quer, 1985. Diccionario de botánica. Editorial Labor S.A. 571 p.
- Foster, A. S. and E. M. Gifford. 1974. Comparative morphology of vascular plants. 2nd. ed. W. H. Freeman and Company. 751 p.
- Futuyma, D. J. 1986. Evolutionary biology. Sinauer Associates Inc. Publishers. Sunderland. Massachusetts. 600 p.
- Galen, C. and M. E. A. Newport. 1988. Pollination quality, seed set, and flower traits in *Polemonium viscosum* : complementary effects of variation in flower scent and size. Amer. J. Bot. 75:900-905.
- Gentry, A. H. 1982. Fascículo 24. Flora de la Veracruz, Bignonaceae. INIREB. pp. 176-178.
- Gorska-Brylas, A. 1965. Hydrolases in pollen grains and pollen tubes. Acta. Soc. Bot. Pol. 34, 589-604.
- Grant, V. 1989. Especiación vegetal. Editorial Limusa. pp. 139-163.

- Herrero, M. and H. G. Dickinson. 1980. Pollen tube growth following compatible and incompatible intraespecific pollination in *Petunia hybrida*. *Planta*. 148. 217-221.
- Herrero, M. and A. Arbeola. 1989. Influence of the pistil on pollen tube kinetics in Peach (*Prunus persica*). *Amer. J. Bot.* 76(10):1441-1447.
- Heslop-Harrison, J. 1971. The cytoplasm and its organelles during meiosis. In: pollen development and physiology. J. Heslop-Harrison (ed). Appleton Century-Crofts. New York. pp. 16-31.
- Heslop-Harrison, J. 1975. Male gametophyte selection and the pollen-stigma interaction. In: gamete competition in plants and animals. D. L. Mulcahy (ed). North-Holland Publish Co., Amsterdam. pp. 177-190.
- Heslop-Harrison, J. 1978. Genetics and physiology of angiosperm incompatibility systems. *Proc. Roy. Soc. London. D. B.* 202: 73-92.
- Howlett, F.S. 1937. Factors affecting the rate and course development of the female gametophyte in apple. *Pro. Amer. Soc. Hort. Sci.* 35. 105-110.
- Jefferies, J. C. and A. R. Belcher. 1971. A fluorescent brightener used for pollen tube identification in vivo. *Stain Technol.* 49: 199-202.
- Jensen, W. A. 1973. Fertilization in flowering plants. *Bioscience*. p. 21-27.
- Kapil, N. R. y Bhatnagar. 1975. A fresh look at the process of double fertilization in angiosperms. *Phytomorphology*. 25: 334-368.

- Knox, R. B. 1971. Pollen wall proteins: localization, enzymic and antigenic activities during development in *Gladiolus* (Iridaceae). *J. Cell. Sci.* 9:209-237.
- Knox, R. B. and J. Heslop-Harrison. 1969. Cytochemical localization of enzymes in the wall of the pollen grain. *Nature, Lond.* 223, 92-4.
- Kramer, P. J. and T. T. Kozlowski. 1979. *Physiology of woody plants.* Academic Press. San Francisco. 811 p.
- Labarca, C. and F. Loewus. 1973. The nutritional role of pistil exudate in pollen tube wall formation in *Lilium longiflorum*. *Plant. Physiol.* 52, 87-92.
- Leopold, A. C. and P. E. Kriedemann. 1975. *Plant growth and development.* 2nd. ed. N. Y. : Mc. Graw. Hill. 545 p.
- Linskens, F. H. 1982. Pollination processes: Understanding fertilization and limits to the hybridization. *Strategies on plant reproduction BARC. Symposium G., W. J. Meudt (ed).* Allenheld Osmond, Publishers Granada pp. 35-49.
- Little, T. M. y F. J. Hills. 1987. *Métodos estadísticos para la investigación en la agricultura. Séptima reimpression.* Editorial Trillas, México. pp. 270.
- Lord, E. M. 1981. Cleistogamy: A tool for the study of floral morphogenesis, function and evolution. *Bot. Rev.* 47: 421-449.
- Martin, W. F. and J. L. Brewbaker. 1971. The nature of stigmatic exudate and its role in pollen germination. In: *Pollen development and physiology.* J. Heslop-Harrison (ed): 267-276.
- Mc-Vaugh, 1987. *Flora novo galiciana. A descriptive account of the vascular plants of western Mexico. Vol. 5 Leguminosae.*
- Mehan, M. and C. P. Malik. 1976. Studies on the physiology of pollen tube growth. *Acta Histochem.* 56, 80-85.

- Mellenthin, M. V., C. V. Wang and S. Y. Wang. 1972. Influence of temperature on pollen tube growth and initial fruit development in "ed" anjov Hort. Science. 7(6): 557-559.
- Micke, W. C. and D. Kester. 1978. Bud development, pollination and fertilization. In: W. C. Micke and D. Kester (eds). Almond Orchard Management. 4092. Div. Agr. Sci-Univ. of California, Berkeley.
- Modlibowska, I. 1945. Pollen tube growth and embryo sac development in apple and pears. J. Pom. and Hort. Sci. 21: 57-89.
- Nettancourt, D. 1977. Incompatibility in angiosperms Springer-Verlag. Berlin, 230 p.
- Papademetriou, K. M. 1974-1975. Pollen tube growth in avocados (*Persea americana* Mill.). Calif. Avoc. Soc. Yearbook, 99-107.
- Percival, S. M. 1969. Floral biology. 2nd. ed. Pergamon Press. London 243 p.
- Pimienta, E. B. and V. S. Polito. 1982. Ovule abortion in "Nonpareil" almond (*Prunus dulcis* (Mill) W. A. Webb). Amer. J. Bot. 69(6):913-920.
- Pimienta, E. B. and V. S. Polito. 1983. Embryo sac development in almond (*Prunus dulcis* (Mill) W. A. Webb). as affected by cross-self-and Nonpollination. Am. Bot. 51, 469-479.
- Pimienta, E. B. et al. 1983. Pollen tube growth in cross and self-pollinated "Nonpareil" almond. J. Amer. Soc. Hort. Sci. 108(4): 543-547.
- Pimienta, E. B. 1986. Fase progámica en angiospermas. Tercer Seminario Maximino Martínez. La aplicación de la citogenética en el conocimiento biológico de los recursos vegetales en México. pp. 55-84.

- Pimienta, E. B. 1987. Polinización y fecundación en frutales perenes. Tema didáctico número 4. Instituto Nacional de investigaciones Forestales y Agropecuarias SARH. México. 27 p.
- Pimienta, E. B. 1990. Fase progámica en angiospermas. *Ciencia* 41(4): 319-332.
- Randall, J. L. and K. W. Hilu. 1990. Interference through improper pollen transfer in mixed stands of *Impatiens capensis* and *I. pallida* (Balsaminaceae). *Amer. J. Bot.* 77(7):939-944.
- Roy, B. 1938. Studies on pollen tube growth in *Prunus*. *J. Pom. and Hort. Sci.* 16(4): 320-328.
- Sedgley, M. and M. A. Blesing. 1982. Foreign pollination of the stigma of water melon [*Citrullus lanatus* (thunb) Matsun and Nakai]. *Bot. Gaz.* 143(2): 210-215.
- Socias and Company, R. O. E. Kester, and M. V. Bradley. 1976. Effects of temperature and genotype on pollen tube growth in some self-incompatible and self-compatible almond cultivars. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* 101(5):490-493.
- Stanley, R. G. 1971. Pollen chemistry and tube growth in: pollen development and physiology. Heslop-Harrison (ed). Appleton-Century-Crofts. New York. pp. 131-170.
- Stephenson, A. G. 1981. Flower and fruit abortion: approximate causes and ultimate functions. *Ann. Rev. Ecol. Syst.* 18:253-279.
- Stosser, R. and S. F. Anvari. 1982. On the senescence of ovules in cherries. *Scientia Horticulture.* 18:29-38.
- Stucky, J. M. and R. L. Beckmann. 1982. Pollination biology self-incompatibility and self-fertility in *Ipomea pandurata* (L). G. F. W. Meyer (Convolvulaceae). *Amer. J. Bot.* Vol. 69(6):1022-1031.

- Tewari, H. B., C. P. Malik and P. P. Sood. 1972. Histochemical studies on the distribution of 5-nucleotidase in the germinating pollen grains of *Eschscholzia californica* CHAM. *Biologia Plantarum*. 14(4): 269-272.
- Thompson, M. M. and L. J. Liu. 1973. Temperature, fruit set, and embryo sac development in "Italian" Prune. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* 98(2): 193-197.
- Uwate, J. W. 1980. Ultrastructural aspects of pollen tube and pistillate tissue development in sweet cherry *Prunus avium* L. P. H. Q. University of California, Davis.
- Weeks, W. and L. P. Latimer. 1939. Incompatibility of early McIntosh and Cortland apples. *Proc. Amer. Soc. Hort. Sci.* 36: 248-286.
- Williams, R. R. 1965. The effect of summer nitrogen applications on the quality of apple blossom. *J. Hort. Sci.* 40: 31-41.
- Williams, R. R. 1970. Factors affecting pollination in fruit trees In: *Physiology of the tree crops* L. C. Luckwill and C. V. Cutting (eds). Academic Press, Inc. London. p. 193-208.
- Yamada, Y. 1965. Studies on the histological and cytological changes in the tissue of pistil after pollination. *Jap. J. Bot.* 19(3), 69-82.

## APENDICE I

### GLOSARIO

- Alogamia.** Fenómeno que tiene efecto cuando el polen llega al estigma procedente de otra flor, tanto si ésta pertenece al mismo pie como si corresponde a otro ejemplar de la misma especie.
- Antesis.** Momento de abrirse el capullo floral.
- Autoincompatibilidad.** Estado de una planta que teniendo los gámetas bien conformados y viables, no puede ser fecundada por su propio polen a causa de alguna acción inhibitoria ejercida en general por los tejidos del estilo.
- Autopolinización.** Polinización por medio del polen de la propia flor, tanto si se produce espontáneamente como si intervienen factores externos, por ejemplo, los insectos. Sin. de autogamia.
- Bráctea.** Llámase bráctea cualquier órgano foliáceo situado en la proximidad de las flores y distinto por su forma, tamaño, y consistencia, color, etc., de las hojas normales y de las que, transformadas constituyen al cáliz y la corola.
- Calosa.** Sustancia distinta de la celulosa y la pectina, que impregna temporalmente algunas membranas y constituye el callo de los tubos cribosos. Poliholósido ( $C_6H_{10}O_5$ ), que está formado solamente por moléculas de glucosa y que se encuentra en algunas células vegetales.
- Dehiscencia.** Fenómeno a favor del cual un órgano cualquiera se abre espontáneamente llegando la oportunidad.
- Dicógama.** Dicese de la planta, de la flor, etc., cuando en ésta no llegan a sazón a un mismo tiempo los estambres y el pistilo.

Diploide. Dícese del número zigótico de cromosomas ( $2n$ ), por oposición al número gamético o haploide ( $n$ ).

Endogamia. Dícese de la heterogamia cuando los gametas proceden de un tronco común, o de un mismo individuo.

Esporofito. En las plantas con alternación de generaciones, la generación que presenta esporas asexuales. Se opone a gametofito.

Estigma. Porción apical de la hoja carpelar, de forma muy variada, las más veces provista de células papilares, y de la cual rezuma en muchos casos un humor azucarado y pegajoso. El estigma es adecuado para retener el polen y para que germine en él.

Estilo. En el gineceo parte superior del ovario, prolongada en forma de estilete que remata en uno o varios estigmas.

Fecundación. Unión íntima de dos células sexuales, hasta confundirse sus núcleos respectivos y, en mayor o menor grado, sus citoplasmas.

Gametofito. Generación de células haploides, que termina produciendo células reproductoras sexuales, los gametas.

Geitonogamia. Aplíquese a la planta o a la polinización alógama cuando el polen procede de una flor del mismo individuo.

Haploide. Dícese del organismo o de la fase de su ciclo de desarrollo, etc., cuyas células tienen el número de cromosomas reducido a una serie, como los gametas.

Hercogamia. Dícese de las plantas, flores, etc., cuando en éstas existen dispositivos especiales que impiden la autogamia.

Heterostilia. Fenómeno en virtud del cual ciertas especies de plantas poseen dos o tres clases de individuos cuyos estilos tienen diferente longitud, al paso que varía también la de los

estambres, o la altura de inserción de los mismos.

Ovario. En la reproducción sexual heterógama, el gámeto femenino, mayor que el masculino e inmóvil.

Polinizar. Llegar o hacer que llegue el polen desde la antera en que se ha formado hasta el estigma o hasta la abertura micropilar si se trata de una gimnosperma.

Senescencia. Acción y efecto de envejecer. Tratándose de una especie, dicese que es senescente cuando da muestras de poca vitalidad, presenta áreas disyuntas y escasa capacidad para poblar nuevos territorios .

Tubo polínico. Célula vegetativa tubular que se forma a expensas del contenido del grano de polen cuando éste se halla en la cámara polínica de las gimnospermas o en el estigma de las angiospermas.

Xenogamia. Copulación de dos gámetos de origen diferente cuyos núcleos no están próximamente emparentados.

APENDICE II

Tabla 1. Análisis de varianza de la germinación de granos de polen registrados a las 5 horas después de la polinización.

TABLA DE ANALISIS DE VARIANZA PARA DISEÑO EN BLOQUES AL AZAR

FUENTE DE VARIACION	SUMAS DE CUADRADOS	GRADOS DE LIBERTAD	CUADRADOS MEDIOS	VALORES F	PROBAB ASOCIADA
DEBIDA A TRATS.	22.629	5	4.526	3.9345	0.012047
DEBIDA A BLOQUES	1.864	4	0.466	0.4051	0.804096
RESIDUAL	23.005	20	1.150		
TOTAL	47.498	29			
MEDIA TOTAL	1.34800				

Tabla 2. Análisis de varianza de la germinación de granos de polen registrados a las 12 horas después de la polinización.

TABLA DE ANALISIS DE VARIANZA PARA DISEÑO EN BLOQUES AL AZAR

FUENTE DE VARIACION	SUMAS DE CUADRADOS	GRADOS DE LIBERTAD	CUADRADOS MEDIOS	VALORES F	PROBAB ASOCIADA
DEBIDA A TRATS.	57.719	5	11.544	5.2394	0.003389
DEBIDA A BLOQUES	11.085	4	2.771	1.2578	0.318930
RESIDUAL	44.065	20	2.203		
TOTAL	112.870	29			
MEDIA TOTAL	2.42533				

Tabla 3. Análisis de varianza de la germinación de granos de polen registrados a las 24 horas después de la polinización.

TABLA DE ANALISIS DE VARIANZA PARA DISEÑO EN BLOQUES AL AZAR

FUENTE DE VARIACION	SUMAS DE CUADRADOS	GRADOS DE LIBERTAD	CUADRADOS MEDIOS	VALORES F	PROBAB ASOCIADA
DEBIDA A TRATS.	46.994	5	9.399	13.2778	0.000045
DEBIDA A BLOQUES	4.090	4	1.023	1.4446	0.255554
RESIDUAL	14.157	20	0.708		
TOTAL	65.241	29			
MEDIA TOTAL	2.73867				

Tabla 4. Análisis de varianza de la germinación de granos de polen registrados a las 48 horas después de la polinización.

TABLA DE ANALISIS DE VARIANZA PARA DISEÑO EN BLOQUES AL AZAR

FUENTE DE VARIACION	SUMAS DE CUADRADOS	GRADOS DE LIBERTAD	CUADRADOS MEDIOS	VALORES F	PROBAB ASOCIADA
DEBIDA A TRATS.	29.382	5	5.876	26.8566	0.000003
DEBIDA A BLOQUES	4.088	4	1.022	4.6713	0.008097
RESIDUAL	4.376	20	0.219		
TOTAL	37.847	29			
MEDIA TOTAL	2.67967				

Tabla 5. Análisis de varianza de la germinación de granos de polen registrados a las 72 horas después de la polinización.

---

TABLA DE ANALISIS DE VARIANZA PARA DISEÑO EN BLOQUES AL AZAR

FUENTE DE VARIACION	SUMAS DE CUADRADOS	GRADOS DE LIBERTAD	CUADRADOS MEDIOS	VALORES F	PROBAB ASOCIADA
DEBIDA A TRATS.	42.551	5	8.510	11.5539	0.000084
DEBIDA A BLOQUES	0.451	4	0.113	0.1530	0.956998
RESIDUAL	14.731	20	0.737		
TOTAL	57.734	29			
MEDIA TOTAL	3.15867				

---

Tabla 6. Análisis de varianza de la germinación de granos de polen registrados a las 96 horas después de la polinización.

---

TABLA DE ANALISIS DE VARIANZA PARA DISEÑO EN BLOQUES AL AZAR

FUENTE DE VARIACION	SUMAS DE CUADRADOS	GRADOS DE LIBERTAD	CUADRADOS MEDIOS	VALORES F	PROBAB ASOCIADA
DEBIDA A TRATS.	38.922	5	7.784	10.4873	0.000130
DEBIDA A BLOQUES	1.566	4	0.391	0.5274	0.719424
RESIDUAL	14.846	20	0.742		
TOTAL	55.334	29			
MEDIA TOTAL	3.37433				

---

Tabla 7. Análisis de varianza de la frecuencia de tubos polínicos registrados en la posición 1/4 - 1/2 del estilo, a las 12 horas después de la polinización.

---

TABLA DE ANALISIS DE VARIANZA PARA DISEÑO EN BLOQUES AL AZAR

FUENTE DE VARIACION	SUMAS DE CUADRADOS	GRADOS DE LIBERTAD	CUADRADOS MEDIOS	VALORES F	PROBAB. ASOCIADA
DEBIDA A TRATS.	3.033	5	0.607	4.2038	0.009086
DEBIDA A BLOQUES	0.841	4	0.210	1.4571	0.251819
RESIDUAL	2.886	20	0.144		
TOTAL	6.759	29			
MEDIA TOTAL	1.01633				

---

Tabla 8. Análisis de varianza de la frecuencia de tubos polínicos registrados en la posición 1/4 - 1/2 del estilo, a las 72 horas después de la polinización.

---

TABLA DE ANALISIS DE VARIANZA PARA DISEÑO EN BLOQUES AL AZAR

FUENTE DE VARIACION	SUMAS DE CUADRADOS	GRADOS DE LIBERTAD	CUADRADOS MEDIOS	VALORES F	PROBAB. ASOCIADA
DEBIDA A TRATS.	2.263	5	0.453	2.1472	0.101042
DEBIDA A BLOQUES	3.420	4	0.855	4.0561	0.014362
RESIDUAL	4.216	20	0.211		
TOTAL	9.900	29			
MEDIA TOTAL	1.84133				

---

Tabla 9. Análisis de varianza de la frecuencia de tubos polínicos registrados en la posición  $1/4 - 1/2$  del estilo, a las 96 horas después de la polinización.

TABLA DE ANALISIS DE VARIANZA PARA DISEÑO EN BLOQUES AL AZAR

FUENTE DE VARIACION	SUMAS DE CUADRADOS	GRADOS DE LIBERTAD	CUADRADOS MEDIOS	VALORES F	PROBAB ASOCIADA
DEBIDA A TRATS.	2.540	5	0.508	2.8033	0.044248
DEBIDA A BLOQUES	0.597	4	0.149	0.8233	0.527256
RESIDUAL	3.624	20	0.181		
TOTAL	6.760	29			
MEDIA TOTAL	1.69267				

Tabla 10. Análisis de varianza de la frecuencia de tubos polínicos registrados en la posición  $1/2 - 3/4$  del estilo, a las 24 horas después de la polinización.

TABLA DE ANALISIS DE VARIANZA PARA DISEÑO EN BLOQUES AL AZAR

FUENTE DE VARIACION	SUMAS DE CUADRADOS	GRADOS DE LIBERTAD	CUADRADOS MEDIOS	VALORES F	PROBAB ASOCIADA
DEBIDA A TRATS.	4.867	5	0.973	4.4305	0.007225
DEBIDA A BLOQUES	0.530	4	0.132	0.6027	0.667753
RESIDUAL	4.394	20	0.220		
TOTAL	9.791	29			
MEDIA TOTAL	1.48300				

Tabla 11. Análisis de varianza de la frecuencia de tubos polínicos registrados en la posición 1/2 - 3/4 del estilo, a las 48 horas después de la polinización.

TABLA DE ANALISIS DE VARIANZA PARA DISEÑO EN BLOQUES AL AZAR

FUENTE DE VARIACION	SUMAS DE CUADRADOS	GRADOS DE LIBERTAD	CUADRADOS MEDIOS	VALORES F	PROBAB ASOCIADA
DEBIDA A TRATS.	1.662	5	0.332	3.3528	0.022995
DEBIDA A BLOQUES	0.259	4	0.065	0.6520	0.634688
RESIDUAL	1.982	20	0.099		
TOTAL	3.903	29			
MEDIA TOTAL	1.78800				

Tabla 12. Análisis de varianza de la frecuencia de tubos polínicos registrados en la posición 1/2 - 3/4 del estilo, a las 72 horas después de la polinización.

TABLA DE ANALISIS DE VARIANZA PARA DISEÑO EN BLOQUES AL AZAR

FUENTE DE VARIACION	SUMAS DE CUADRADOS	GRADOS DE LIBERTAD	CUADRADOS MEDIOS	VALORES F	PROBAB ASOCIADA
DEBIDA A TRATS.	2.584	5	0.517	3.5154	0.019099
DEBIDA A BLOQUES	1.713	4	0.428	2.9135	0.046950
RESIDUAL	2.940	20	0.147		
TOTAL	7.236	29			
MEDIA TOTAL	2.01167				

Tabla 13. Análisis de varianza de la frecuencia de tubos polínicos registrados en la posición 1/2 - 3/4 del estilo, a las 96 horas después de la polinización.

TABLA DE ANALISIS DE VARIANZA PARA DISEÑO EN BLOQUES AL AZAR

FUENTE DE VARIACION	SUMAS DE CUADRADOS	GRADOS DE LIBERTAD	CUADRADOS MEDIOS	VALORES F	PROBAB ASOCIADA
DEBIDA A TRATS.	2.510	5	0.502	2.8976	0.039438
DEBIDA A BLOQUES	0.118	4	0.030	0.1706	0.948704
RESIDUAL	3.465	20	0.173		
TOTAL	6.094	29			
MEDIA TOTAL	2.09267				

Tabla 14. Análisis de varianza de la frecuencia de tubos polínicos registrados en la posición 3/4 - Base del estilo, a las 24 horas después de la polinización.

TABLA DE ANALISIS DE VARIANZA PARA DISEÑO EN BLOQUES AL AZAR

FUENTE DE VARIACION	SUMAS DE CUADRADOS	GRADOS DE LIBERTAD	CUADRADOS MEDIOS	VALORES F	PROBAB ASOCIADA
DEBIDA A TRATS.	5.385	5	1.077	11.6758	0.000080
DEBIDA A BLOQUES	0.671	4	0.168	1.8172	0.164530
RESIDUAL	1.845	20	0.092		
TOTAL	7.901	29			
MEDIA TOTAL	0.99733				

Tabla 15. Análisis de varianza de la frecuencia de tubos polínicos registrados en la posición 3/4 - Base del estillo, a las 48 horas después de la polinización.

---

TABLA DE ANALISIS DE VARIANZA PARA DISEÑO EN BLOQUES AL AZAR

FUENTE DE VARIACION	SUMAS DE CUADRADOS	GRADOS DE LIBERTAD	CUADRADOS MEDIOS	VALORES F	PROBAB ASOCIADA
DEBIDA A TRATS.	7.245	5	1.449	9.2503	0.000232
DEBIDA A BLOQUES	0.251	4	0.063	0.4001	0.807552
RESIDUAL	3.133	20	0.157		
TOTAL	10.629	29			
MEDIA TOTAL	1.77033				

---

Tabla 16. Análisis de varianza de la frecuencia de tubos polínicos registrados en la posición 3/4 - Base del estillo, a las 96 horas después de la polinización.

---

TABLA DE ANALISIS DE VARIANZA PARA DISEÑO EN BLOQUES AL AZAR

FUENTE DE VARIACION	SUMAS DE CUADRADOS	GRADOS DE LIBERTAD	CUADRADOS MEDIOS	VALORES F	PROBAB ASOCIADA
DEBIDA A TRATS.	12.607	5	2.521	8.5807	0.000330
DEBIDA A BLOQUES	0.674	4	0.169	0.5735	0.887677
RESIDUAL	5.877	20	0.294		
TOTAL	19.157	29			
MEDIA TOTAL	2.32333				

---



**UNIVERSIDAD DE GUADALAJARA**

FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS

Sección .....

Expediente .....

Número .....

C. MARIA GUADALUPE PULIDO AVILA  
P R E S E N T E . . -

Manifestamos a usted que con esta fecha ha sido aprobado el tema de Tesis POLINIZACION CRIPTICA EN ORQUIDEA (Bahuinia variegata, L.) PRIMAVERAL, Para obtener la Licenciatura en Biología.

Al mismo tiempo le informo que ha sido aceptado como -- Director de dicha Tesis el Dr. Eulogio Pimienta Barrios.

A T E N T A M E N T E  
"PIENSA Y TRABAJA "  
"AÑO LIC. JOSE GPE. ZUNO HERNANDEZ"  
Guadalajara, Jal., Junio 11 de 1991  
EL DIRECTOR



FACULTAD DE  
CIENCIAS BIOLÓGICAS

M. EN C. CARLOS BEAS ZARATE

EL SECRETARIO



M. EN C. MARTIN PEDRO TENA MEZA

c.c.p. Dr. Eulogio Pimienta Barrios. - Dir. de Tesis  
c.c.p. El expediente de la Alumna. -

'gp99

Al contestar este oficio citese fecha y número



# UNIVERSIDAD DE GUADALAJARA

FACULTAD DE CIENCIAS  
COORDINACION DE INVESTIGACION

Expediente .....

Número .....

M. EN C. CARLOS BEAS ZARATE  
DIRECTOR DE LA FACULTAD DE  
CIENCIAS BIOLÓGICAS  
UNIVERSIDAD DE GUADALAJARA  
P R E S E N T E.

Por medio de la presente, manifiesto a Usted que una vez revisada la Tesis "Polinización críptica en Orquídea (*Bahinia variegata* L.) primaveral", presentada por la C. María Guadalupe Pulido Avila, pasante de la Lic. en Biología y habiendo realizado las observaciones pertinentes, considero que cumple con los requisitos establecidos por la Facultad de Ciencias Biológicas a su digno cargo y no teniendo inconveniente para que se imprima solicito a Usted permita se realicen los trámites para el examen correspondiente.

Sin otro particular aprovecho la ocasión para enviarle un cordial saludo y reiterarle mi consideración más distinguida.

A T E N T A M E N T E

Guadalajara, Jal. 24 de Junio de 1991.

Dr. Eulogio Pimienta Barrios  
Director de Tesis

Al contestar este oficio ofrese fecha y número