

1989 - I

REG. No. 081235147

UNIVERSIDAD DE GUADALAJARA

FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS



GERMINACION DE GRANOS DE POLEN Y DESARROLLO DE
TUBOS POLINICOS EN AUTOPOLINIZACIONES Y
POLONIZACIONES CRUZADAS EN ORQUIDEA
(*Bahuinia variegata* L.) PRIMAVERAL.

TESIS PROFESIONAL

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE
LICENCIADO EN BIOLOGIA
P R E S E N T A
MARIA DEL CARMEN RAMIREZ GONZALEZ
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

A mis padres:

Mi eterno agradecimiento por que con su amor y apoyo han visto realizado su esfuerzo para la culminación de mi carrera.

A mis hermanos:

Por creer siempre en mí,
gracias por su apoyo.

A mis maestros y compañeros:

Gracias por sus enseñanzas y apoyo.

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

AL Dr. Eulogio Pimienta B.

Muy especialmente mi gratitud y admiración, por que mediante sus conocimientos enriqueció a cada paso la elaboración de la presente.

A Francisco Vera S.

Mi agradecimiento por que enriqueció con su experiencia desinteresada y apoyo incondicional, la elaboración de la parte matemática de la presente, de cuyo conocimiento me hizo participe; haciéndome posible seguir en la línea de la superación.

Al personal del laboratorio de Fisiología vegetal.

Por sus consejos. En especial a Alejandro M. por sus enseñanzas en el manejo de la microcomputadora, así como por sus consejos y amistad, a él mi profundo agradecimiento.

GERMINACION DE GRANOS DE POLEN Y DESARROLLO DE TUBOS POLINICOS EN
AUTOPOLINIZACIONES Y POLINIZACIONES CRUZADAS EN ORQUIDEA
(Bahinia 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 <u>Bahuinia</u>	5
4.2 La flor	6
4.2.1 Sépalos y pétalos	7
4.2.2 Estambres	7
4.2.3 El carpelo	8
4.3 Ciclo reproductivo	9
4.3.1 Microsporogénesis y Microgametogénesis	9
4.3.2 Megasporogénesis y Megagametogénesis	11
4.3.3 Dehiscencia	12
4.3.4 Cleistogamia	13
4.4. Polinización	14
4.5 Composición del grano de polen	15
4.6 Interacciones polen-estigma	16
4.7 Viabilidad del polen	17
4.8 Receptividad del estigma	18
4.9 Germinación de granos de polen	19
4.10 Desarrollo de tubos polínicos	21
4.11 Redundancia de gametos y selección gametofítica	24
4.12 Fecundación del saco embrional y viabilidad de óvulos	26
4.13 Mecanismos que facilitan el flujo genético	30
4.13.1 Dicogamia	30

	Página
4.13.2 Autoincompatibilidad sexual	30
4.13.3 Incongruencia	33
4.13.4 Heterostilia	33
4.13.5 Hercogamia	34
4.14 Depresión por endogamia	34
4.15 Absición de flor y fruto	35
5. MATERIALES Y METODOS	37
5.1 Tratamientos de polinización	37
5.2 Toma de datos	38
5.2.1 Germinación de granos de polen sobre los estigmas de <u>B. variegata</u>	38
5.2.2 Frecuencia de tubos polínicos en diferentes posiciones del estilo y a diferentes intervalos de tiempo después de la polinización	39
5.2.3 Asentamiento de frutos y semillas	40
5.3 Análisis estadístico	40
6. RESULTADOS	41
6.1 Número promedio de granos de polen germinados sobre los estigmas de <u>B. variegata</u>	42
6.2 Viabilidad de los granos de polen	46
6.3 Número promedio de tubos polínicos en diferentes posiciones del estilo de a diferentes intervalos de tiempo después de la polinización	47
6.4 Porcentaje de estilos con tubos polínicos en la base del estilo de <u>B. variegata</u>	58

6.5 Efecto de la autopolinización y polinización cruzada en el porcentaje de óvulos que forman semillas en vainas de <u>B. variegata</u>	59
6.6 Efecto de la autopolinización y polinización cruzada en el asentamiento de vainas de <u>B. variegata</u>	61
7. DISCUSION	62
8. CONCLUSIONES	68
9. BIBLIOGRAFIA	69

INDICE DE FIGURAS

Figura		Página
1	Germinación de granos de polen en los estigmas de <u>B. variegata</u> en respuesta a los tratamientos de polinización a diferentes intervalos de tiempo	45
2	Frecuencia de tubos polínicos en la posición Estigma-1/4 del estilo de <u>B. variegata</u> a diferentes intervalos de tiempo después de la polinización	54
3	Frecuencia de tubos polínicos en la posición 1/4 - 1/2 del estilo de <u>B. variegata</u> a diferentes intervalos de tiempo después de la polinización	55
4	Frecuencia de tubos polínicos en la posición 1/3 - 3/4 del estilo de <u>B. variegata</u> a diferentes intervalos de tiempo después de la polinización	56
5	Frecuencia de tubos polínicos en la posición 3/4 - Base del estilo de <u>B. variegata</u> a diferentes intervalos de tiempo después de la polinización	57

INDICE DE CUADROS

Cuadro		Página
1	Número promedio de granos de polen germinados sobre los estigmas de <u>B. variegata</u>	44
2	Frecuencia de tubos polínicos en diferentes posiciones del estilo de <u>B. variegata</u> a diferentes intervalos de tiempo después de la polinización	53
3	Porcentaje de estilos con tubos polínicos en la base del estilo de flores de <u>B. variegata</u> , a diferentes intervalos de tiempo después de la polinización	58
4	Relación entre el número de óvulos por flor, y el número y porcentaje de éstos que forman semillas, en <u>B. variegata</u>	60
5	Porcentaje de asentamiento de vainas en tratamientos de autopolinización y polinización cruzada bajo diferentes densidades de polinización	61

RESUMEN

En plantas superiores la evolución de mecanismos fisiológicos (e.g. dicogamia, incompatibilidad sexual) y morfológicos (e.g. heterostilia) se han interpretado como mecanismos que evitan la interacción polen-estigma. Se sugiere que ésta evolución tiene como fin:

- reducir la depresión por endogamia causada por la autopolinización y
- reducir interferencias del polen de la misma planta, debido a que los tubos polínicos desarrollados por autopolinizaciones fecundan los óvulos, pero con frecuencia producen cigotos débiles con baja probabilidad de sobrevivencia, por lo cual frecuentemente producen frutos no vigorosos.

En éste trabajo se evaluó el efecto de cinco tratamientos de polinización en B. variegata, la cual se caracteriza por diferenciar flores que presentan heterostilia del tipo "Pin". Los tratamientos que se evaluarón son: 1) Densidad alta de autopolinización (DAAP); 2) Densidad baja de autopolinización (DBAP); 3) Densidad alta de polinización cruzada (DAPC); 4) Densidad baja de polinización cruzada (DBPC) y 5) Polinización natural (PN). Los experimentos de polinización evaluados en éste estudio se llevarón a cabo en una planta adulta que se encuentra aledaña a la Facultad de Ciencias Químicas de la Universidad de Guadalajara. Las variables que se registrarón son las siguientes:

- Número de granos de polen germinados sobre el estigma a diferentes intervalos de tiempo después de generada la polinización;
- Frecuencia de tubos polínicos en diferentes posiciones del estilo y a diferentes intervalos de tiempo después de la polinización;
- Porcentaje de asentamiento de frutos y
- Promedio de semillas por fruto.

Los resultados registrados al comparar la germinación de granos de polen en el estigma y el desarrollo de tubos polínicos a través del estilo no

revelarán diferencias contrastantes entre los tratamientos de autopolinización y polinización cruzada, aunque se observó un comportamiento de baja germinación de granos de polen y una reducida frecuencia de tubos polínicos en ambos tratamientos. El porcentaje más alto de asentamiento de vainas (65) se registró en el tratamiento DAPC y el menor (35) en el tratamiento de PN. Además el mayor promedio (7.00) de semillas por fruto se registró en el tratamiento DAPC y el menor (3.77) en el tratamiento DAAP. Se concluye que la autopolinización afecta las funciones reproductivas en B. variegata, debido a que con los tratamientos de autopolinización se registró una reducción del porcentaje de óvulos que formaron semillas y un porcentaje menor de amarre de frutos, aunque el grado de germinación y el desarrollo de tubos polínicos no mostraron evidencias contrastantes entre los tratamientos de autopolinización y polinización cruzada. Lo anterior está demostrando un mayor incremento en el esfuerzo reproductivo de esta especie con la polinización cruzada.

1. INTRODUCCION

Existen ciertos mecanismos reproductivos en algunas angiospermas, los cuales evitan la autopolinización y previenen el control sobre la calidad de la progenie (Winsor et al. 1987; Schlichting et al. 1987). Estos mecanismos xenogámicos que ocurren en la monoecia juegan un papel importante en la sobrevivencia de las poblaciones naturales (Winsor et al. 1987). Dentro de éstos mecanismos dos de los más comunes son: la autoincompatibilidad sexual y la heterostilia (Winsor et al. 1987; Schlichting et al. 1987).

La autoincompatibilidad sexual es definida como la inhabilidad de una planta que produce gametos funcionales, de formar semillas cuando es autopolinizada (Brewbaker, 1957; citado por Pimienta, 1987). En plantas superiores por medio del sistema de autoincompatibilidad el estigma y el estilo crean barreras que evitan la invasión de polen extraño contribuyendo al aislamiento de especies, y de ésta manera se controla la hibridación (Heslop-Harrison, 1978). Y la heterostilia es un fenómeno en el cual ciertas especies de plantas poseen dos o tres clases de individuos, cuyos estilos tienen diferente longitud, al grado que varía también la de los estambres o la altura de inserción de los mismos (Font-Quer, 1985). La heterostilia se divide en dos tipos: distilia y tristilia. En taxas distilios, una forma tiene estilos largos y estambres cortos (heterostilia tipo Pin), mientras las otras flores tienen una posición inversa, es decir, estilos cortos y estambres largos (heterostilia tipo Thrum) (Wyatt, 1983; Ayala y Kiger, 1984).

Los mecanismos antes descritos tienen la función aparente de evitar la autopolinización, en plantas donde la depresión por endogamia baja la calidad de la progenie en el campo (Bertin y Sullivan, 1988).

En éste estudio se pretende evaluar el efecto de la autopolinización, la polinización cruzada artificial y la densidad de polinización, en el grado de germinación de granos de polen, el desarrollo de tubos polínicos y en algunos productos de reproducción sexual en Orquídea (B. variegata) primaveral, ya que las flores en ésta especie presentan heterostilia del tipo "pin" la cual aparentemente es una modificación morfológica que evita la autopolinización, debido a que cuando ocurre ésta se presenta depresión por endogamia de acuerdo a los resultados obtenidos por Muñoz (1990), por lo que es de esperarse que la autopolinización reduzca el esfuerzo reproductivo en ésta especie y la polinización cruzada lo incremente debido a que con ésta última es mayor la compatibilidad sexual.

2. OBJETIVO.

Evaluar la germinación de los granos de polen y el desarrollo de tubos polínicos en flores de B. variegata, polinizadas con su propio polen (autopolinización), y con polen de plantas de la misma especie pero de diferente origen ecológico (polinización cruzada).

3. HIPOTESIS.

Si el esfuerzo reproductivo en *B. variegata* se reduce con la autopolinización, cabe esperar que la polinización cruzada incremente en mayor grado este esfuerzo reproductivo debido a que es mayor la compatibilidad sexual.

4. REVISION DE LA LITERATURA.

4.1. Descripción del género Bahuinia.

Bahuinia 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 elongado, presentan 5 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 mas semillas, oblongas o lineales, con dos brácteas curvas o elásticas de consistencia membranosa a coriácea; semillas compresas orbiculares u ovaladas (Mc. Vaugh, 1987).

Alrededor de la mitad de las especies de Bahuinia de Norteamérica, sus flores en un sentido amplio presentan de 5 a 10 estambres fértiles, en el resto de las especies la progresión hacia flores unisexuales es fuerte. En B. cokii 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 este árbol en las calles al igual que en Autlán, Coalcomán, Purucho, y solo se ha observado esta planta en

condición cultivada, sin embargo Hinton ha observado que algunos de éstos escapan del cultivo. El período de floración de estas plantas ocurre durante los meses de invierno (Mc. Vaugh,1987).

Son árboles de más de 10 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 2.5 cm. de largo, 5 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 estipite es de 1.5 a 2.5 cm. de longitud y sus estilos son de 5 a 8 mm (Mc. Vaugh,1987).

4.2. 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 microesporógenos y los carpelos, considerados como megasporógenos. Al conjunto de estambres se le conoce como el 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 megasporofilo 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, 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, 1988).

4.2.1. Sépalos y pétalos.

Los sépalos y los pétalos tienen parecido a las hojas en su estructura interna. Consisten de parénquima fundamental, con sistema vascular más o menos ramificado y epidermis. Además comunmente se encuentran células que contienen cristales, lactíferos, 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 las vacuolas (flavonoides, principalmente antocianinas) (Esau, 1977).

4.2.2. Estambres.

El tipo más común de estambres en angiospermas consiste de una antera que se divide en sacos 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, del 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 primaria parietal subepidermal y una capa esporógena primaria interna. Las células de la capa esporógena primaria se dividen para dar origen a los microesporofitos diploides. Posteriormente en estos microesporofitos diploides ocurre meiosis, formándose tetrádas de microsporas haploides, las que finalmente por medio de divisiones mitóticas dan origen a los granos de polen. Las células de la capa parietal interna, 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 microsporangios (Foster y Gifford, 1974).

4.2.3. 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 unos de otros (gineceo apocárpico) o unidos (gineceo sincárpico). El carpelo está comunmente formado de una parte inferior fértil (el ovario) y una parte 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" o "secos". Los estigmas "húmedos" se caracterizan por secretar un exudado en el cual los principales componentes son: agua, fenoles, azúcares y minerales (Martín y Brewbaker, 1971; Kapil y Bhatnagar, 1975). Los estigmas "secos" carecen de este exudado (Esau, 1977). El estigma "húmedo" es

esencialmente glandular. Las células epidermales del estigma se encuentran comúnmente elongadas formando las papilas, tricomas cortos o tricomas largos ramificados. El tejido del estigma esta 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 fuente de nutrimentos (Foster y Gifford, 1974).

4.3. 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 embrionario) y masculino (grano de polen), y la unión de los gametos masculino y femenino (fecundación), terminando con los estadios iniciales del desarrollo del nuevo esporofito (embrión) que ocurre en el tejido parental del esporofito (Foster y Gifford, 1974; Esau, 1977).

4.3.1. 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, 1976). 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 las células vecinas, y en algunas especies las interconexiones se extienden a través del tejido esporógeno (Heslop-Harrison, 1964, 1966; citados por Heslop-Harrison, 1971). La formación de estos canales procede al mismo tiempo que ocurre la

síntesis de calosa que rodea a los microsporocitos. Al momento que empieza la mitosis meiótica, las conexiones citoplásmicas son seccionadas, y principia la formación de paredes de calosa entre las esporas aisladas dentro de la tétrada (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 este nivel de interconexiones celulares (Heslop-Harrison, 1971).

El tapete es la capa interna de la pared del microsporangio, 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 microsporogénesis. 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 de pasar a través del tapete o 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 esta condición de dos células o 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 o trinucleados (Foster y Gifford, 1974).

4.3.2 Megasporogénesis y megagametogénesis.

El óvulo es el sitio de formación de las megasporas y desarrollo del saco embrional (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 autogenia 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 divisiones meióticas transversales, dando como resultado una tetráda lineal de esporas. Existen tres tipos de desarrollos de sacos embrionales: el monosporico, bispórico y tetrasporico. Uno de los

más comunes es el monosporico, representado por el tipo polygonum; que es al que nos vamos a referir a continuación: en éste tipo de saco embrional, las tres megasporas de la tetráda degeneran quedando únicamente viable la espora localizada del lado de la calaza, la cual posteriormente se elonga y por medio de tres divisines mitóticas sucesivas da origen a un saco embrional de ocho 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 antípodas: los dos núcleos remanentes, emigran de los extremos opuestos (lado del micrópilo y de la calaza) a la parte interna de la central. Estos núcleos polares permanecen separados hasta que ocurre la descarga de los gametos masculinos dentro del saco embrional, o 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 éstas células, la central es binucleada (Foster y Gifford, 1974).

4.3.3. 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 comúnmente designada como dehiscencia poricidal. En la mayoría de las angiospermas, la dehiscencia en 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).

4.3.4. 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 cuales producen flores abiertas (casmógamas) y cerradas (cleistógamas) en las cuales nunca ocurre antesis 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 seguida por antesis.

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

Cleistogamia completa. Especies en las cuales 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 .

4.4. Polinización

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

Los agentes o 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 (Linskens, 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). 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).

En algunas especies vegetales el esfuerzo reproductivo es limitado por la disponibilidad del polen. De hecho un gran número de especies vegetales cultivadas la productividad es limitada por la intensidad de polinización cruzada (Free, 1970; Mc Gregor, 1976; citado por Pimienta, 1986). En especies nativas la información es limitada aunque Biersychudek (1981) citado por Pimienta (1986), reportó 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 ambos aparentemente afectan el esfuerzo reproductivo. Galen y Newport (1988) citados por Pimienta (1990), observaron que en flores de poblaciones naturales de Palaemonium 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 mezclas 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).

4.5. 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 períodos 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 lígasas se han encontrado que son activas en el grano de polen de plantas superiores (Stanley, 1971).

4.6. 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 ésta 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).

4.7. 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, fotoperíodo e intensidad de luz (Kuo et al. 1981; Grigg et al. 1988; citados por Pimienta, 1986). Se menciona que la humedad relativa alta reduce la viabilidad del polen, debido a que la humedad aumenta la respiración de éstos (Klunness et al. 1983). 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 las 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 (-4° 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).

4.8. 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 período 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 Kriedemann, 1975). Por otro lado, se reporta que la aplicación de nitrógeno prolonga el tiempo en que el estigma es receptivo, aumentando con esto el período de germinación de granos de polen, lo cual se refleja en un aumento en la eficiencia de la fecundación de óvulos (Williams, 1965).

4.9. Germinación de granos de polen

La germinación de los granos de polen, representa un fenómeno interesante en biología de la polinización y asume un significado crítico en la productividad de plantas cultivadas y silvestres. Los granos de polen no germinan por que son inviábiles, o bien las

condiciones ambientales, o la condición fisiológica del estigma no reúne las condiciones adecuadas para su germinación (Pimienta, 1990).

La germinación de los granos de polen se lleva a cabo 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 proteína. Aparentemente ésta proteína es de naturaleza hidrofílica y es responsable de la atracción de agua, a través de discontinuidades en la cutícula subyacente; esto 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 inicia senescencia, liberando su contenido, el cual 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 Kriedemann, 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 (fosfatasas, ribonucleasas, estererasas, peroxidadas, 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 ésta 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, 1969; Knox, 1971).

4.10. 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 éste 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 Loewus, 1973). Observaciones

histoquímicas del canal estilar de Lilium longiflorum, revelaron que éste 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 en los estadios subsecuentes, utiliza 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 sustrato, que son similares a las paredes celulares primarias que caracterizan a las células de colénquima, y en realidad los tubos, disuelven parte de éstos engrosamientos colenquimatosos, sin causar daño interno al protoplasma de la 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.

Después de que los tubos polínicos han atravesado el estilo se inicia un proceso de degeneración de células que evita una entrada cercana de pelusa o vellos, una vez que los tubos polínicos han pasado a través del estilo. Este recurso a parte 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 ésta parte floral al igual que otras (sépalos, pétalos, estambres), quedando únicamente el ovario y estructuras apendiculares adheridas al pedicelo o pedúnculo floral (Pimienta, 1986).

El desarrollo de los tubos polínicos 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 Yarnell, 1929; Yasuda, 1930; East, 1934 b; citados por Bradley y Griggs, 1963), y así mismo por la temperatura que prevalece durante la floración. Por ejemplo en el 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 ésta especie se requiere de un periodo de 10 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 prevaleciente en los Angeles California, la flor se fecunda en un intervalo de tiempo que fluctúa 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, 1974-1975).

Las diferencias en la tasa de crecimiento de los tubos polínicos originadas por la temperatura, son probablemente parte de la explicación, por que algunas especies son consideradas autoestériles en algunas localidades y autofértiles en otras y probablemente han contribuido en la diferenciación de mecanismos precigóticos de aislamiento reproductivo (Pimienta, 1990).

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 del 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 (1954) citado por Papademetriou (1974-1975) observó que el polen "el fuerte" germinó a través del estilo a una proporción de 0.139mm 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 éste 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 cual la célula vegetativa absorbe nutrimentos de los tejidos estilares (Foster y Gifford, 1974).

4.11. Redundancia de gametos y selección gametofítica

Redundancia de gametos o la producción de más espermatozoides que los que pueden ser utilizados en la fecundación de células sexuales femeninas, es un fenómeno común en plantas y animales (Cohen, 1975). En angiospermas, la producción de gametofitos masculinos es relativamente alta. El número de óvulos es también variable, aunque ésta variación está relacionada con estrategias de adaptación y aparentemente no es influenciada por los mecanismos de polinización, como en el caso del polen (Vasek y Weng, 1988; citados por Pimienta, 1990).

En los últimos diez años ha surgido una corriente de investigación, en la cual se ha pretendido explicar el significado biológico y evolutivo de la redundancia de microgametofitos en angiospermas. La idea fundamental para éstos trabajos parte del hecho de que la estructura morfológica del gineceo de angiospermas, acoplada con mecanismos eficientes de polinización, favorecen la depositación de densidades altas de polen en el estigma, los cuales al germinar y desarrollar tubos polínicos en el estilo, da como resultado competencia, que supuestamente es la base para establecer un tamizado o selección de gametofitos masculinos, que van a fecundar los óvulos, de tal manera que los tubos polínicos que crecen más rápido, son los que tienen más probabilidad de fecundar el óvulo (s). Se argumenta que los embriones que se forman a partir de óvulos fecundados por los tubos polínicos más rápidos, son más vigorosos y con mayor adaptabilidad al ambiente (Mulcahy, 1979; Lee, 1984).

Como resultado de las aportaciones de diferentes investigaciones orientadas al entendimiento del significado biológico de la redundancia de gametos, se han combinado cuatro evidencias que fundamentan la

importancia y relevancia de la selección de microgametofitos en angiospermas. La primera se apoya en evidencias que han demostrado que una gran porción del genoma del microgametofito se expresa durante la germinación del grano de polen y el desarrollo del tubo polínico (Willing y Mascarenhas, 1984). Segundo, el genotipo del microgametofito determina, en parte la velocidad de germinación y la tasa de crecimiento del tubo polínico (Sari-Gorla et al. 1975). Tercero, 60-80 % de los genes expresados en el microgametofito, son también expresados en el ciclo de vida del esporofito (Willing y Mascarenhas, 1984). Finalmente bajo condiciones de niveles altos de depositación de polen en los estigmas, se reduce la fecundación al azar de los óvulos, debido a que se incrementa la probabilidad de que los óvulos sean fecundados por tubos polínicos con mayor vigor o tasa de crecimiento (Marshall y Ellstrand, 1986).

Un aspecto importante en redundancia de gametos es que polinizaciones compatibles con alta densidad de polinización incrementan, el porcentaje de óvulos que se fecundan y transforman en semillas, debido a que se prolonga la viabilidad de los óvulos. En contraste en polinizaciones incompatibles se acorta el periodo en que los óvulos son viables (Pimienta y Polito, 1983; Luis y Pimienta, 1985).

Las diferencias principales entre las polinizaciones compatibles e incompatibles, son que en ésta última es menor la tasa de germinación de granos de polen y el número de tubos polínicos que se desarrollan en el estilo. Estas diferencias en la actividad de los microgametofitos en el estigma y estilo es probable que se reflejen en diferencias en la activación del ovario, como ha sido reportado que ocurre en Petunia hybrida (Linskens, 1973; citado por Pimienta, 1990 -), y probablemente explique el por que en las polinizaciones compatibles se retarde la

senescencia de los óvulos y permite que los tubos polínicos lleguen a los óvulos antes de que hayan iniciado la senescencia y perdido su viabilidad (Pimienta, 1990)

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 penetre 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 al 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 endosperma. 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 la sinérgidas no son indispensables para orientar el crecimiento del tubo polínico, debido a que en algunas especies vegetales se han presentado sacos embrionales en 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 más dificultades para explicar durante el proceso de 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 frutos, 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 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 del polen a los estigmas, sino que éstos desarrollan tubos polínicos que alcancen a los óvulos antes de que ocurra la senescencia de éstos.

Los periodos de longevidad de los óvulos varían de acuerdo a las especies. En cerezo dulce los óvulos permanecen viables tres o cuatro 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 antesis, que las realizadas dos o tres días después de la antesis (Eaton, 1959; Stosser y Anvari, 1982). En manzano, se prolonga de 7 a 9 días en "flores débiles" y de 12 a 13 días en "flores vigorosas" (Williams, 1965).

Las observaciones preliminares relacionadas con la viabilidad de óvulos, revelaron el efecto positivo de nitrógeno en 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 éstas 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. Mecanismos que facilitan el flujo genético

Las plantas monoicas para incrementar el flujo genético pueden seguir diferentes estrategias, como:

Dicogamia

Autoincompatibilidad

Heterostilia

Incongruencia

Hercogamia

La incompatibilidad sexual es el principal mecanismo que favorece la polinización cruzada en angiospermas (Heslop-Harrison, 1983).

4.13.1. Dicogamia

La dicogamia involucra una separación temporal de las funciones masculinas y femeninas (estambres y pistilos). Este mecanismo fué descrito por Koelreuter, y Sprengel independientemente descubre éste fenómeno y menciona que existen dos tipos de dicogamia. La dicogamia andrógina donde primero ocurre la dehiscencia de las anteras y luego la receptividad del estigma y la dicogamia ginandra donde las flores tienen primero un comportamiento femenino y después masculino (Delevoryas, 1981; Wyatt, 1983; Cronquist, 1984).

4.13.2. Autoincompatibilidad sexual

Es definida como la inhabilidad de una planta que produce gametos funcionales de formar semillas cuando se autopoliniza (Brewbaker, 1957). En plantas superiores por medio del sistema de autoincompatibilidad el estigma y el estilo crean barreras que evitan la invasión de polen extraño contribuyendo al aislamiento de las especies o dentro de especies, de ésta manera se controla la 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; Heslop-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; 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 anomalías: 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; Anvari 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 en 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 osfera haya cesado de ser receptiva (Cronquist, 1984).

Sabemos que la incompatibilidad es compleja en muchas plantas debido a que pueden involucrar locis múltiples, interacciones de genes 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 (Futuyma, 1983).

Se ha reportado que en algunas especies como en Trifolium pratense L. considerada incompatible en algunas condiciones produce semillas propias (Kendall y Taylor, 1969). Esto mismo ha sido reportado para algunas variedades de manzano como la "Cox's Orange Pippin ", que aunque se consideran autoincompatibles (Modlibowska, 1945), en algunas condiciones producen cosechas comerciales bajo autopolinización. Esto se

debe a que se presenta el fenómeno de pseudocompatibilidad (Williams y Maier, 1977). Este fenómeno de pseudocompatibilidad se atribuye a la modificación poligénica de genes inhibiendo activamente a los genes *s*, confiriendo una ineficiencia de los mecanismos de incompatibilidad (Atwood, 1942; Mather, 1943; Denward, 1963; Takashi, 1973; citados por Henny *et al.* 1977).

4.13.3. 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, ésta 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 la síntesis de ARN y proteínas en el pistilo para crear la barrera de incongruencia (Linskens, 1983).

4.13.4 Heterostilia

La heterostilia es un fenómeno en el cual ciertas especies de plantas poseen dos o tres clases de individuos cuyos estilos tienen diferente longitud al grado que varía también la de los estambres o la altura de inserción de los mismos (Delevoryas, 1981; Cronquist, 1984; Font-Quer, 1985). Su frecuencia es baja y ocurre en el 10% de las familias de plantas. En algunas familias se presenta de manera continua, como las familias que habitan en los trópicos (Wyatt, 1983).

Existen dos tipos de heterostilia: distilia y trístilia. En taxas distilios, una forma tiene estilos largos y estambres cortos (heterostilia tipo Pin), mientras las otras flores tienen una posición

inversa esto es estilos cortos y estambres largos (heterostilia tipo Thrum), donde como Darwin lo había postulado sólo se realizan cruza compatibles entre éstas dos formas (Wyatt, 1983; Ayala y Kiger, 1984).

4.13.5 Hercogamia

El término hercogamia fué acuñado por Axell y más tarde Delpino estableció cuatro grados de hercogamia: hercogamia absoluta, cuando es absolutamente imposible la autopolinización de la flor. En éste caso son los animales los que acarrean polen de otras flores o de otras plantas. Hercogamia accidental o fortuita, es también necesaria la intervención de los animales para la polinización, pero sin excluir la posibilidad de que accidentalmente se produzca la autogamia. Hemihercogamia que presupone un estadio floral primario con hercogamia absoluta y un estado secundario en que si por falta de visitantes no se realizó la polinización, se facilita la autogamia por el desarrollo ulterior de los estambres. Criptohercogamia es cuando los insectos visitantes u otros animales pueden llevar el polen al estigma de la propia flor o a otra flor (Font-Quer, 1985).

4.14. Depresión por endogamia

Muchas de las especies vegetales son hermafroditas y además son capaces de autopolinizarse, de forma que la reproducción unipaterna por autogamia constituye un método normal de reproducción (Dobzchanski, et al. 1983). En éstas plantas que se reproducen normalmente por autofecundación, la depresión por endogamia o consanguinidad no ocurre por que la selección natural conserva los alelos recesivos deletéreos en frecuencias mucho más bajas, que en poblaciones que se aparean aleatoriamente. En organismos normalmente autofecundados, la homocigosis

es muy alta; los alelos recesivos deletéreos son eliminados por la selección natural cuando se hacen homocigotos. Sin embargo, la depresión por consaguinidad de animales y plantas que normalmente no son consaguíneos, se debe porque los alelos deletéreos recesivos presentes principalmente en los loci heterocigotos se hacen homocigotos (Ayala y Kiger, 1984).

Castillo (1986), menciona que la progenie de éstas plantas tienen genes homocigotos recesivos para rasgos letales ó deletéreos evitando los efectos de depresión causada por la endogamia, efectos que pueden variar y manifestarse de numerosas maneras como: menor producción de semilla, menor germinación, viabilidad, sobrevivencia, menor peso de semilla, menor crecimiento o capacidad competitiva entre las plantas con la endogamia, también puede presentarse el albinismo, disminución de la longevidad o disminución de la producción de flores (Castillo, 1986). Además Ayala y Kiger (1984) agregan que ésta depresión usualmente conduce a la reducción de la eficiencia biológica, que acarrea la detereorización de los atributos importantes tales como fertilidad, el vigor y la resistencia a las enfermedades.

4.15. Abscisión de flor y fruto

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

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

Muchas plantas maduran fruto de sólo una fracción de sus flores polinizadas. Los frutos pueden ser abortados por falta de polinización, predación por vertebrados e invertebrados, condiciones climáticas adversas, poco desarrollo de óvulos, inactividad de las partes fotosintéticas de la planta y anomalías genéticas (Bertin, 1982).

5 MATERIALES Y METODOS

Se utilizó una planta adulta de Orquídea (Bahuinia variegata, L.) primaveral de aproximadamente 30 años de edad que se encuentra en la Facultad de Ciencias Químicas de la Universidad de Guadalajara y otra planta de la misma especie que se encuentra creciendo en condición natural en la Barranca de Colimilla, que se encuentra en el municipio de Ixtlanuacan, Jalisco.

En la planta de los jardines de la Facultad de Ciencias Químicas se llevaron a cabo los experimentos de polinización que se evaluarán en éste trabajo, y de la planta de la Barranca de Colimilla se colectó únicamente polen que se utilizó en dos de los tratamientos de polinización.

En el árbol que se encuentra en la Facultad de Ciencias Químicas se llevó a cabo la selección de ramas que presentarán un número relativamente alto de flores cercanas a la apertura, con el fin de aplicar los tratamientos en una población floral en el que se obtuviera la mayor uniformidad posible en el desarrollo fisiológico de los botones florales.

Previo a la aplicación de los tratamientos de polinización se colectó polen para determinar su viabilidad utilizando el método de la gota suspendida, usando diferentes concentraciones, de sacarosa y ácido bórico que se combinaron por medio de un arreglo factorial de tratamientos. Las concentraciones de sacarosa fueron : 0, 5, 10, 15 y 20% y de ácido bórico : 0, 100 y 200 ppm.

5.1. Tratamientos de polinización

Se evaluarán los siguientes tratamientos de polinización:

1. Autopolinización con densidad alta de polen (DAAP). 30 botones

florales fueron emasculados y se polinizaron manualmente con su propio polen frotando sobre el estigma sus mismas anteras dehiscentes hasta que se observó totalmente amarillo y también se notó el abultamiento de polen en él.

2. Autopolinización con densidad baja de polen (DBAP). 30 botones florales se emascularon y se autopolinizaron manualmente con su propio polen frotando sus mismas anteras dehiscentes hasta que el estigma quedó ligeramente amarillo.

3. Polinización cruzada con densidad alta de polen (DAPC). 30 botones florales se emascularon y se polinizaron manualmente con polen de plantas provenientes de la Barranca de Colimilla, utilizando una varilla de vidrio hasta que el estigma quedó completamente amarillo y se notó el abultamiento de polen en él.

4. Polinización cruzada con densidad baja de polen (DBPC). 30 botones florales se emascularon y se polinizaron manualmente con polen de plantas de la Barranca de Colimilla, utilizando una varilla de vidrio hasta que el estigma quedó ligeramente amarillo.

5. Polinización natural (PN). Se permitió la polinización natural de 30 flores seleccionadas previamente en el estadio de botón floral cercano a la apertura.

5.2. Toma de datos

Después de la aplicación de los tratamientos de polinización se registrarán los siguientes datos :

5.2.1. Germinación de granos de polen sobre el estigma de B. variegata.

Se registrarán los promedios de germinación de los granos de polen sobre el estigma, a diferentes intervalos de tiempo después de realizada

la polinización (5, 12, 24, 48, 72 y 96 horas). La evaluación de los granos de polen germinados se realizó por medio de la tinción del grano y el tubo polínico que emerge de éstos con la tinción de azul lacmoide, modificada del método descrito por Cheadle et al. (1953).

5.2.2. Frecuencia de tubos polínicos en diferentes posiciones del estilo y a diferentes intervalos de tiempo después de la polinización.

Con el fin de evaluar la frecuencia de tubos polínicos, después de realizados los tratamientos de polinización, se colectaron 5 botones florales de cada uno de los tratamientos a diferentes intervalos de tiempo (5, 12, 24, 48, 72 y 96 horas). Los estilos fueron disectados de los botones florales, y se conservaron en tubos de ensaye a temperatura baja (-18° C) en el congelador de un refrigerador doméstico. La evaluación de los tubos polínicos se realizó haciendo una modificación al método de ablandamiento descrito por Jefferies y Belcher (1971), los estilos se colocaron en una solución acuosa de 5% de carbonato de sodio durante una hora, con el fin de alcalinizar el tejido. Después ésta solución acuosa fué extraída utilizando una pipeta Pasteur, y los estilos fueron lavados con agua destilada para después agregar otra solución acuosa de 1% de carbonato de sodio, con el fin de ablandarlos en una autoclave por un período de tres minutos. Posteriormente los estilos ablandados fueron teñidos con azul lacmoide utilizando el método descrito por Cheadle et al. (1953); y para analizar la frecuencia de tubos en las diferentes porciones del estilo, se dividió éste en cuatro partes empezando en el ápice del pistilo (estigma) y terminando en la base del estilo.

5.2.3. Asentamiento de frutos y semillas

Para determinar el porcentaje de asentamiento de frutos (vainas) y semillas para cada uno de los tratamientos de polinización se registrarón las siguientes variables :

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

5.3. 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 significativos se aplicó la prueba de comparación de medias de Tukey usando métodos estadísticos descritos por Little y Hills (1987) , Chou (1975) y Reyes (1983).

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 transformarse 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 éste trabajo se comprobó que las varianzas no eran homogéneas por lo que se procedió a transformar los datos mediante la aplicación de la transformación de la raíz cuadrada previo a la realización de los análisis de varianza.

6.1 Número promedio de granos de polen germinados sobre los estigmas de B. variegata.

El número promedio de granos de polen germinados sobre el estigma de B. variegata a diferentes intervalos de tiempo después de la polinización son presentados en el cuadro 1 y en la Figura 1.

El análisis de varianza (ANDEVA) para el número de granos de polen germinados sobre los estigmas a las 5 horas después de la polinización reveló diferencias estadísticas entre tratamientos (Tabla 1, apéndice). La prueba de comparación de medias (Tukey 0.05), indicó que la frecuencia más alta de granos de polen germinados sobre los estigmas en éste tiempo se registró en el tratamiento de DAPC y la menor en el tratamiento de PN, aunque estadísticamente el tratamiento de DAPC presenta el mismo nivel de significancia que el tratamiento de DAAP, pero supera al resto de los tratamientos, DBPC, DBAP y PN.

Al evaluar el número de granos de polen germinados en el estigma a las 12 horas después de la polinización se encontró diferencia significativa entre tratamientos (Tabla 2, apéndice). La prueba de comparación de medias (Tukey 0.05) reveló que la mayor frecuencia de granos de polen germinados en éste tiempo se presentó en el tratamiento de DAAP y la menor en el tratamiento de PN, aunque estadísticamente el tratamiento de DAAP es similar a los tratamientos de DBAP y DAPC, pero supera a los dos restantes tratamientos, DBPC y PN.

La evaluación del número de granos de polen germinados en el estigma a las 24 horas después de realizada la polinización indicó que existen diferencias estadísticas entre tratamientos según el análisis de varianza (ANDEVA) (Tabla 3, apéndice). La prueba de comparación de medias (Tukey, 0.05) reveló que en éste tiempo se observó semejanza estadística entre los tratamientos DAAP, DBAP y DAPC los cuales son

superiores a los tratamientos de DBPC y PN en los que se registró la menor frecuencia de granos de polen y son estadísticamente inferiores al resto de tratamientos.

El análisis de varianza (ANDEVA) para el número de granos de polen germinados sobre los estigmas a las 48 horas después de la polinización mostró diferencias estadísticas entre tratamientos (Tabla 4, apéndice). La prueba de comparación de medias Tukey ($P=0.05$) reveló que la frecuencia más alta de granos de polen germinados en éste tiempo se presentó en el tratamiento de DBAP y la menor en el tratamiento de DBPC, aunque estadísticamente el tratamiento de DBAP muestra el mayor nivel de significancia y supera al resto de tratamienos.

En la evaluación realizada a las 72 horas no se registrarón diferencias significativas entre los tratamientos.

La evaluación de la frecuencia de granos de polen germinados en el estigma a las 96 horas después de realizada la polinización reveló que existen diferencias estadísticas entre tratamientos según el análisis de varianza (ANDEVA) (Tabla 5, apéndice). La prueba de comparación de medias Tukey ($P=0.05$) reveló en éste tiempo semejanza estadística entre los tratamientos DAAP, DBAP, DBPC y PN que son superiores al tratamiento de DBPC el cual presenta la menor frecuencia de granos de polen germinados y es estadísticamente inferior al resto de tratamientos.

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	Número promedio de granos de polen germinados					
	Horas después de la polinización					
	5	12	24	48	72	96
DAAP	2.91 ab	3.03 a	3.25 a	3.09 b	3.10 a*	3.66 ab
DBAP	2.23 cd	2.73 ab	3.17 ab	4.47 a	2.73 a	4.13 a
DAPC	3.21 a	2.11 abc	2.49 abc	2.45 bcd	2.40 a	3.12 abcd
DBPC	2.34 bc	1.68 bcd	1.80 cde	1.80 cde	2.18 a	2.46 bcde
PN	0.70 e	0.90 de	1.91 bcd	2.64 bc	3.24 a	3.22 abc

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

† Los tratamientos son descritos en materiales y métodos.

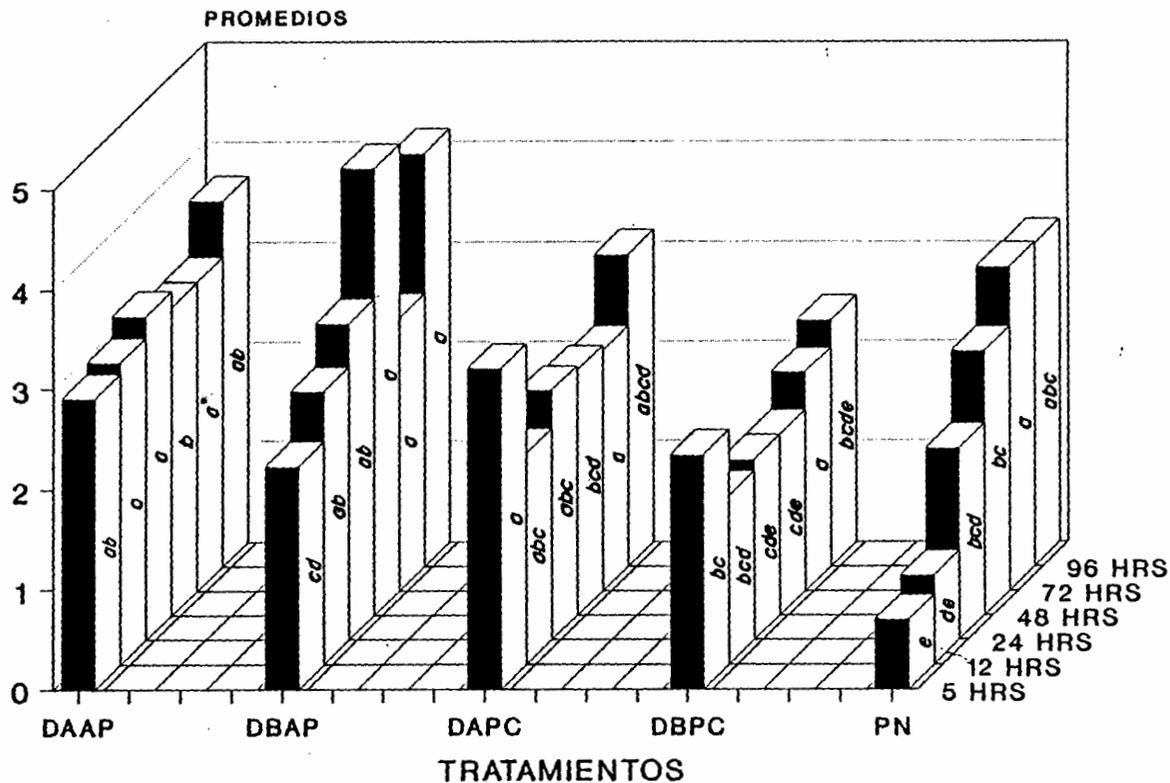


Figura 1. Germinación de granos de polen en los estigmas de *B. variegata* en respuesta a los tratamientos de polinización a diferentes intervalos de tiempo.

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

6.2. Viabilidad de los granos de polen

No se registró germinación de granos de polen en ninguno de los medios de germinación en los cuales se combinaron las diferentes concentraciones de sacarosa y ácido bórico. Se observó, que en la mayoría de los tratamientos los granos de polen presentaron hinchazón y algunos de ellos reventaron derramando su contenido citoplasmático.

6.3. Número promedio de tubos polínicos en diferentes posiciones del estilo de B. variegata a diferentes intervalos de tiempo después de la polinización.

Las frecuencias de tubos polínicos en diferentes posiciones del estilo a diferentes intervalos de tiempo después de la polinización, son presentados en el Cuadro 2 y en las Figuras 2 a 5.

El análisis de varianza (ANDEVA) para la frecuencia de tubos polínicos en la porción Estigma - 1/4 del estilo, a las 5 y 12 horas después de la polinización no indicó diferencias significativas entre tratamientos.

Al evaluar la frecuencia de tubos polínicos en la porción Estigma - 1/4 del estilo a las 24 horas después de realizada la polinización se encontró diferencia significativa entre tratamientos ($P= 0.05$), según el análisis de varianza (ANDEVA) (Tabla 6, apéndice). La prueba de comparación de medias (Tukey, $P= 0.05$) indicó que en ésta posición y tiempo la mayor frecuencia de tubos polínicos se encontró en el tratamiento de DAAP, y la menor en el tratamiento DBAP, aunque el tratamiento DAAP supera estadísticamente a los demás tratamientos, DBAP, DAPC, DBPC y PN, los cuales presentan el mismo nivel de significancia estadística, pero son inferiores al tratamiento DAAP.

Al evaluar la frecuencia de tubos polínicos en la porción Estigma - 1/4 del estilo a las 48 horas después de generada la polinización, no se encontró diferencia estadística entre tratamientos, según el análisis de varianza.

La evaluación de la frecuencia de tubos polínicos en la porción Estigma - 1/4 del estilo a las 72 horas después de la polinización indicó diferencias estadísticas entre tratamientos, según el análisis de

varianza (ANDEVA) (Tabla 7, apéndice). La prueba de comparación de medias (Tukey 0.05) indicó que la frecuencia más alta de tubos polínicos en éste tiempo y posición se observó en el tratamiento de PN y la menor frecuencia en el tratamiento de DBPC, aunque estadísticamente el tratamiento de PN es similar a los tratamientos de autopolinización (DAAP y DBAP), los cuales superan a los tratamientos de polinización cruzada (DAPC y DBPC) que son estadísticamente inferiores a los restantes tratamientos.

El análisis de varianza (ANDEVA) para la frecuencia de tubos polínicos en la porción Estigma - 1/4 del estilo a las 96 horas después de la polinización indicó diferencias estadísticas entre tratamientos (Tabla 8, apéndice). La prueba de comparación de medias indicó que en ésta posición y tiempo la mayor frecuencia de tubos polínicos se registró en el tratamiento de PN, y la menor en el tratamiento DBPC, aunque el tratamiento de PN es similar estadísticamente a los tratamientos de autopolinización (DAAP y DBAP) y al de DAPC, pero supera al tratamiento DBPC.

La evaluación de la frecuencia de tubos polínicos en la porción 1/4 - 1/2 del estilo, a las 5 y 12 horas después de generada la polinización reveló que no existen diferencias estadísticas entre tratamientos, según el ANDEVA.

Al evaluar la frecuencia de tubos polínicos en la porción 1/4 - 1/2 del estilo, a las 24 horas después de la polinización se encontró diferencia significativa entre los tratamientos según el análisis de varianza (Tabla 9, apéndice). La prueba de comparación de medias (Tukey 0.05) reveló que en ésta posición y tiempo la mayor frecuencia de tubos polínicos se registró en el tratamiento DAAP y la menor en el de DBPC, aunque el tratamiento DAAP es estadísticamente superior a los demás

tratamientos, DBAP, DBPC, DAPC y PN los cuales presentan semejanza estadística similar, pero son inferiores al tratamiento DAAP.

El ANDEVA para la frecuencia de tubos polínicos en la porción $1/4 - 1/2$ del estilo, a las 48, 72 y 96 horas después de la polinización no reveló diferencias significativas entre los tratamientos.

Al evaluar la frecuencia de tubos polínicos en la posición $1/2-3/4$ del estilo a las 5 horas después de la polinización no se encontró diferencia estadística entre tratamientos, según el análisis de varianza.

La evaluación de la frecuencia de tubos polínicos en la porción $1/2 - 3/4$ del estilo a las 12 horas después de la polinización reveló que existen diferencias estadísticas entre tratamientos ($P=0.05$), según el análisis de varianza (ANDEVA) (Tabla 10, apéndice). La prueba de comparación de medias (Tukey 0.05), reveló que en ésta posición y tiempo la mayor frecuencia de tubos polínicos se registró en el tratamiento de DBAP y la menor en el de PN, aunque el tratamiento DBAP, supera estadísticamente a los demás tratamientos, DAAP, DAPC, DBPC y PN, los cuales presentan el mismo nivel de significancia estadística, pero son inferiores al tratamiento DBAP.

Al evaluar la frecuencia de tubos polínicos en la posición $1/2-3/4$ del estilo, a las 24 horas después de generada la polinización se encontró diferencia significativa entre tratamientos de acuerdo al análisis de varianza (Tabla 11, apéndice). La prueba de comparación de medias (Tukey 0.05), reveló que en ésta posición y tiempo se encontró semejanza estadística entre los tratamientos DBAP y PN que superan estadísticamente al resto de tratamientos; en segundo término se encontró el tratamiento DAPC y con el menor nivel de significancia se encontraron los tratamientos DAAP y DBPC.

El análisis de varianza (ANDEVA) para la frecuencia de tubos polínicos en la posición $1/2 - 3/4$ del estilo a las 48 horas después de generada la polinización no reveló diferencia significativa entre tratamientos.

La evaluación de la frecuencia de tubos polínicos en la porción $1/2 - 3/4$ del estilo a las 72 horas después de realizada la polinización reveló que existen diferencias estadísticas entre tratamientos, de acuerdo al análisis de varianza (Tabla 12, apéndice). La prueba de comparación de medias (Tukey 0.05) indicó que en ésta posición y tiempo la frecuencia más alta de tubos polínicos se presentó en los tratamientos de autopolinización (DAAP y DBAP) y en el de PN que muestran el mismo nivel de significancia estadística, y la menor frecuencia se presentó en los tratamientos de polinización cruzada (DAPC y DBPC), aunque estadísticamente estos tratamientos son inferiores al tratamiento DBAP.

El análisis de varianza (ANDEVA) (Tabla 13, apéndice) para la frecuencia de tubos polínicos en la posición $1/2 - 3/4$ del estilo a las 96 horas después de la polinización reveló diferencia significativa entre tratamientos ($P=0.05$). La prueba de comparación de medias (Tukey 0.05) reveló que la frecuencia más alta de tubos polínicos en ésta posición y tiempo se registró en el tratamiento DAAP y la menor en el tratamiento DBPC; aunque estadísticamente el tratamiento DAAP es similar a los tratamientos de DBAP y PN, pero superior a los tratamientos de polinización cruzada.

Al evaluar la frecuencia de tubos polínicos en la posición $3/4$ -Base del estilo, a las 5 y 12 horas después de generada la polinización no se encontró diferencia significativa entre los tratamientos de acuerdo con el ANDEVA.

La evaluación de la frecuencia de tubos polínicos en la porción 3/4 - Base del estilo, a las 24 horas, después de la polinización reveló que existen diferencias estadísticas entre tratamientos ($P=0.05$), según el ANDEVA (Tabla 14, apéndice). La prueba de comparación de medias (Tukey 0.05) reveló que en esta posición y tiempo el tratamiento DBAP presentó la mayor frecuencia de tubos polínicos y la menor se encontró en el tratamiento DBPC, aunque estadísticamente el tratamiento DBAP muestra el mayor nivel de significancia estadística y supera al resto de los tratamientos, DAAP, DAPC, DBPC y PN.

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 no existen diferencias estadísticas entre tratamientos, de acuerdo al análisis de varianza.

Al evaluar la frecuencia de tubos polínicos en la porción 3/4-Base del estilo, a las 72 horas después de la polinización se encontró diferencia significativa entre tratamientos, según el análisis de varianza (Tabla 15, apéndice). La prueba de comparación de medias indicó en esta posición y tiempo semejanza estadística entre los tratamientos DAAP, DBAP y PN que presentan el mismo nivel de significancia, y la menor frecuencia se presentó en los tratamientos de polinización cruzada (DAPC y DBPC), aunque estadísticamente éstos tratamientos son inferiores al tratamiento DBAP.

El análisis de varianza (ANDEVA) para la frecuencia de tubos polínicos en la porción 3/4 - Base del estilo, a las 96 horas después de realizada la polinización reveló diferencias estadísticas entre tratamientos, (Tabla 16, apéndice). La prueba de comparación de medias (Tukey 0.05) reveló semejanza estadística entre los tratamientos DAAP, DBAP, DAPC y PN que presentan el mismo nivel de significancia

estadística, aunque la frecuencia más alta de tubos polínicos se presentó en el tratamiento de DAAP el cual supera significativamente al tratamiento de DBPC.

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

Tratamiento	5 horas después de la polinización				12 horas después de la polinización			
	Posición de los tubos polínicos en el estilo							
	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	2.02 a*	1.76 a*	1.13 b	0.70 a*
DBAP	0.0	0.0	0.0	0.0	1.69 a	2.01 a	2.35 a	0.87 a
DAPC	0.0	0.0	0.0	0.0	1.68 a	1.43 a	0.90 bc	0.70 a
DBPC	0.0	0.0	0.0	0.0	1.68 a	1.26 a	0.90 bcd	0.70 a
PN	0.0	0.0	0.0	0.0	1.74 a	1.72 a	0.87 bcde	0.70 a

Tratamiento	24 horas después de la polinización				48 horas después de la polinización			
	Posición de los tubos polínicos en el estilo							
	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	2.91 a	3.12 a	0.90 d	0.80 bc	1.63 a*	2.40 a*	2.79 a*	2.67 a*
DBAP	1.08 bcde	1.96 bc	2.20 a	2.33 a	1.20 a	2.29 a	2.21 a	2.11 a
DAPC	1.86 b	2.10 b	1.43 c	0.80 bcd	1.15 a	1.75 a	2.37 a	1.84 a
DBPC	1.43 bc	1.48 bcde	0.80 de	0.70 de	1.28 a	1.73 a	2.20 a	2.09 a
PN	1.33 bcd	1.96 bcd	2.15 ab	1.45 b	1.77 a	2.24 a	2.42 a	2.32 a

Tratamiento	72 horas después de la polinización				96 horas después de la polinización			
	Posición de los tubos polínicos en el estilo							
	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	1.76 abc	2.26 a*	2.67 ab	2.79 ab	1.71 ab	2.36 a*	3.37 a	3.82 a
DBAP	2.28 ab	2.59 a	2.82 a	3.02 a	1.57 abc	2.49 a	2.68 abc	2.98 abc
DAPC	1.31 bcd	1.79 a	1.91 bcd	2.19 bcd	1.32 abcd	1.60 a	2.46 bcd	2.70 abcd
DBPC	0.98 de	1.50 a	1.72 cde	1.88 de	1.18 bcde	1.57 a	1.88 cde	2.00 bcde
PN	2.41 a	2.53 a	2.61 abc	2.72 abc	2.46 a	2.74 a	2.94 ab	3.11 ab

* 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.

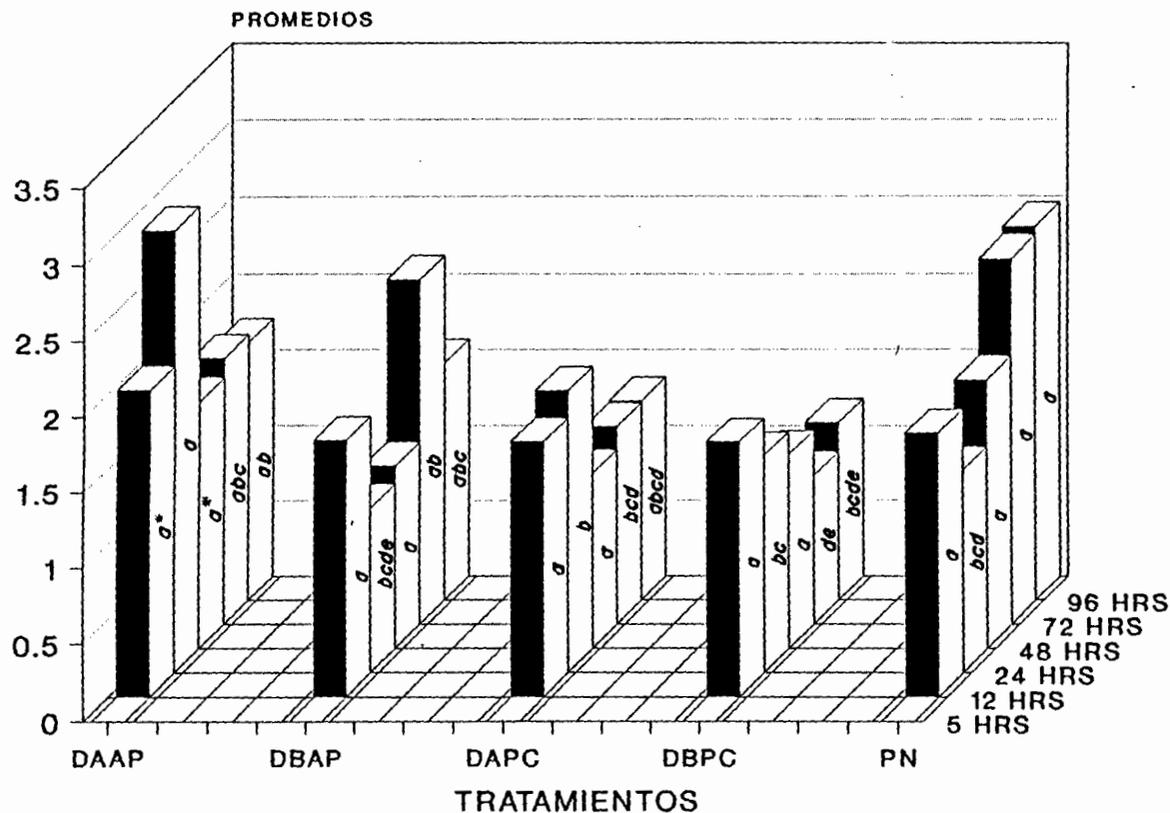


Figura 2. Frecuencia de tubos polínicos en posición E-1/4 del estilo de *B. variegata* a diferentes intervalos de tiempo después de la polinización.

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

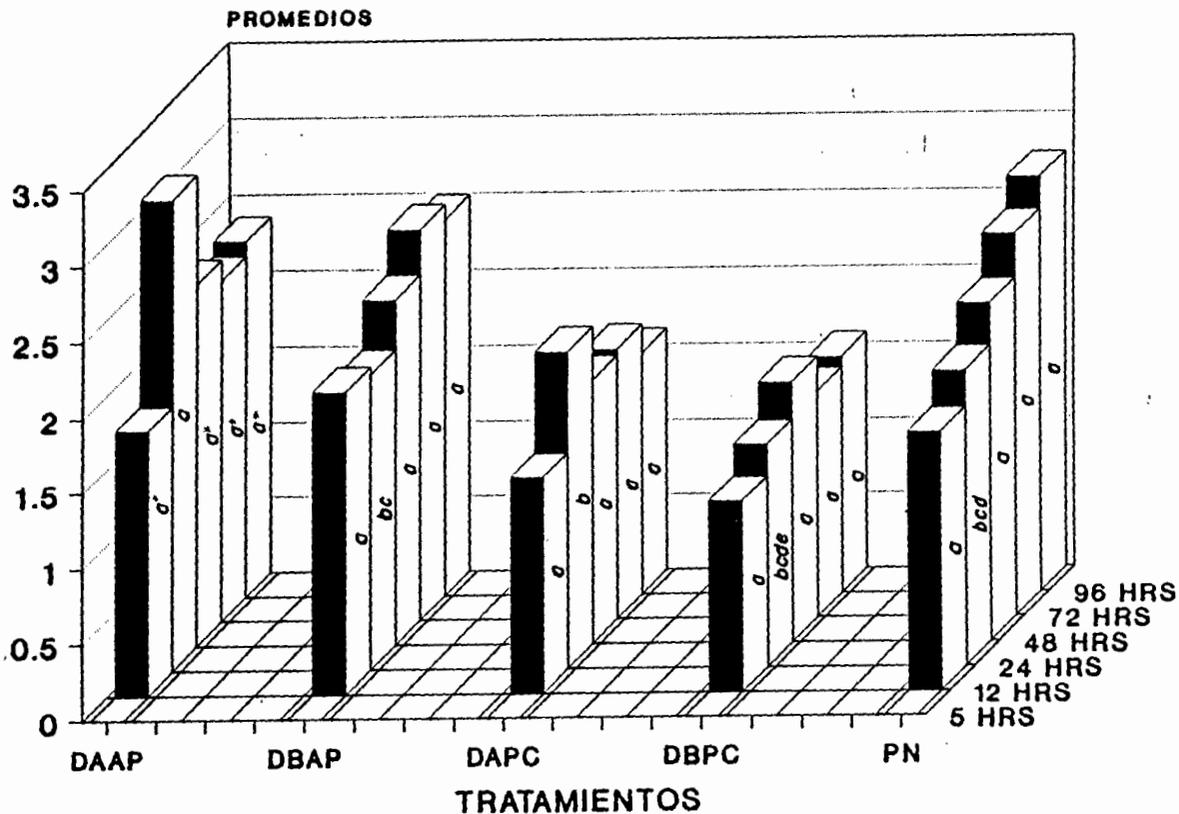


Figura 3. Frecuencia de tubos polínicos en la posición 1/4 - 1/2 del estilo de *B. variegata* a diferentes intervalos de tiempo después de la polinización.

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

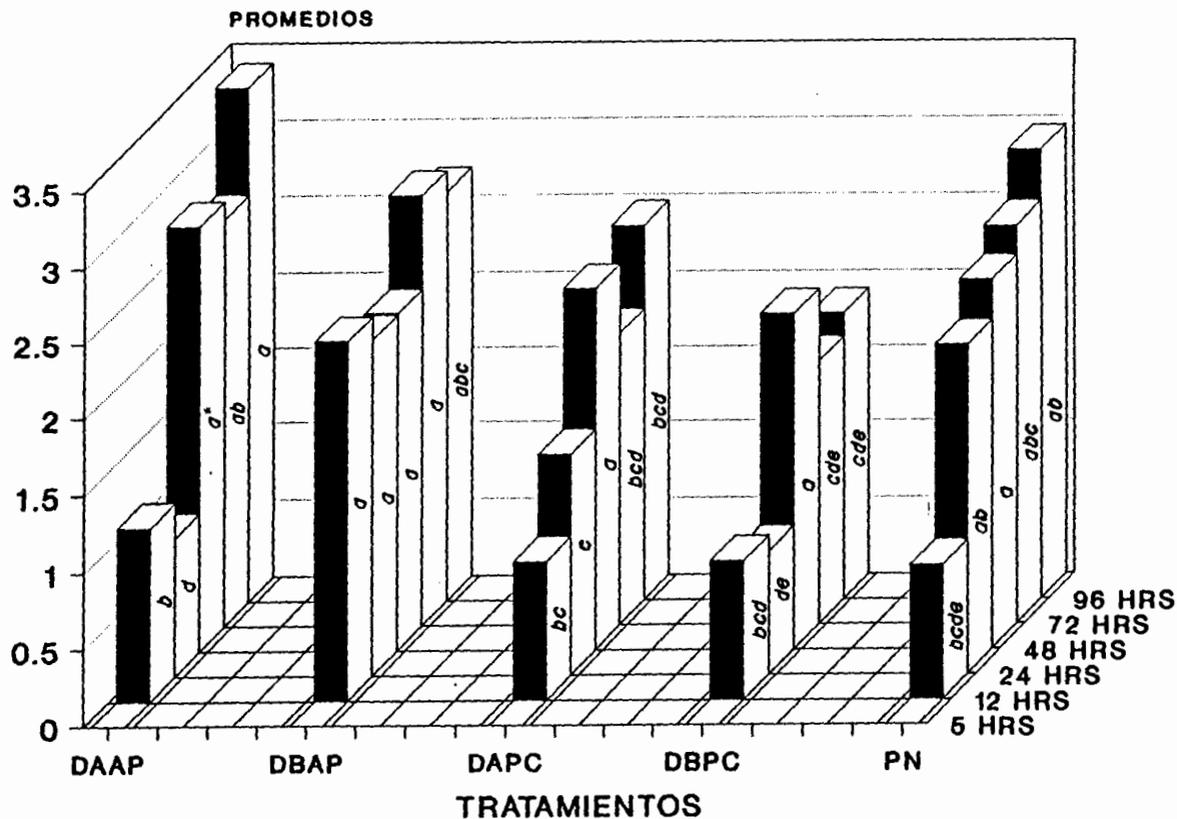


Figura 4. Frecuencia de tubos polínicos en la posición 1/2 - 3/4 del estilo de *B. variegata* a diferentes intervalos de tiempo después de la polinización.

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

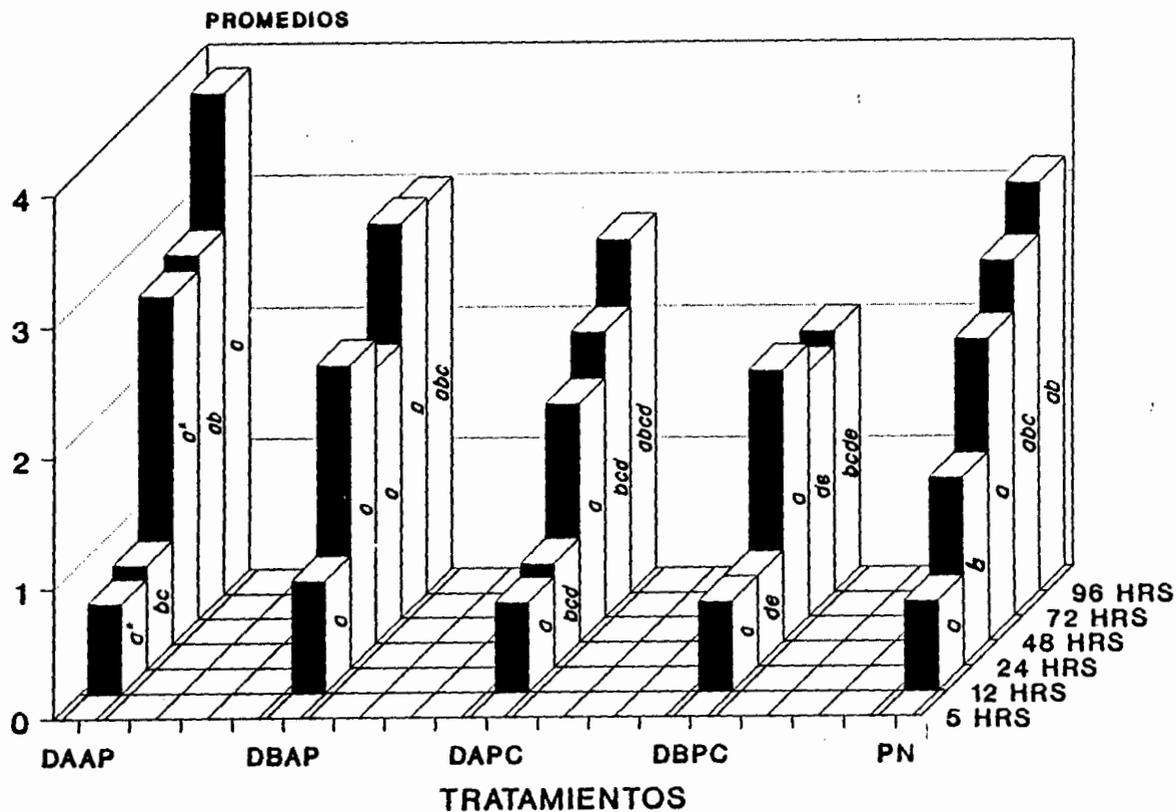


Figura 5. Frecuencia de tubos polínicos en la posición 3/4 - Base del estilo de *B. variegata* a diferentes intervalos de tiempo después de la polinización.
 *Medias agrupadas con la misma letra dentro de las columnas no difieren estadísticamente (Prueba de Tukey, $P = 0.05$).

5.4. Porcentaje de estilos con tubos polínicos en la base del estilo de Bahinia variegata.

La evaluación del porcentaje de estilos con tubos polínicos en la base del estilo de B. variegata se presenta en el cuadro 3.

Los primeros tubos polínicos en la base del estilo fueron observados 12 horas después de realizada la polinización, aunque únicamente se registrarán éstos en el tratamiento de DBAP.

A las 24 horas después de la polinización se observarán estilos con tubos polínicos en la base en los tratamientos de autopolinización (DAAP 20% y DBAP 100%) y en el de DAPC (80%); en el tratamiento de DBPC no se observarán estilos con tubos polínicos en la base. El porcentaje más alto de estilos con tubos polínicos en la base del estilo se registró en el tratamiento de DBAP (100%), seguido en orden descendente por los tratamientos de DAPC (80%), PN (60%) y DAAP (20%).

A partir de las 48 horas se encontró que el 100% de los estilos presentarán tubos polínicos en la base, en todos los tratamientos tanto de autopolinización como de polinización cruzada y polinización natural.

Cuadro 3. - Porcentaje de estilos con tubos polínicos en la base del estilo de flores de B. variegata, a diferentes intervalos de tiempo después de la polinización.

Tratamiento	Horas después de la polinización			
	5	12	24	48
DAAP	0	0	20%	100%
DBAP	0	20%	100%	100%
DAPC	0	0	80%	100%
DBPC	0	0	0	100%
PN	0	0	60%	100%

6.5. Efecto de la autopolinización y polinización cruzada en el porcentaje de óvulos que forman semillas, en vainas de B. variegata.

Con el fin de obtener una relación del porcentaje de óvulos que se fecundan y desarrollan semillas, se procedió a realizar observaciones del número promedio de semillas que se forman por vaina en ambas polinizaciones (autopolinización y polinización cruzada) y en la polinización natural, así como el número promedio de óvulos por flor. (Cuadro 4).

La evaluación del número promedio de semillas por fruto entre los diferentes tratamientos, indicó que el promedio más alto de semillas se presentó en el tratamiento de DAPC (7.00); seguido por el tratamiento de DBPC (4.88), después tenemos el tratamiento de PN (4.42), y con los menores promedios de semillas tenemos a los tratamientos de autopolinización primero el de DBAP (3.87), y por último el de DAAP (3.77).

En general, el porcentaje de óvulos que formaron semillas fué mayor en el tratamiento de DAPC (64.75); seguido por el tratamiento DBPC (45.14); después tenemos al tratamiento de PN (40.88), y con los menores porcentajes tenemos primero al tratamiento de DBAP (35.80) y por último al tratamiento de DAAP (34.87); por consiguiente el número de óvulos no fecundados fué mayor en los tratamientos de autopolinización.

Cuadro 4. Relación entre el número de óvulos por flor y el número y porcentajes de éstos que formaron semillas, en

B. variegata.

Tratamiento	Promedio de óvulos por flor	Promedio de semillas por fruto	Porcentaje de óvulos que formaron semillas
DAAP	10.81	3.77	34.87
DBAP		3.87	35.80
DAPC		7.00	64.75
DBPC		4.88	45.14
PN		4.42	40.88

5.6 Efecto de la autopolinización y polinización cruzada en el asentamiento de vainas en B. variegata.

El porcentaje de asentamiento de vainas fué menor en los tratamientos de autopolinización (DAAP, 45% y DBAP, 40%) que en los de polinización cruzada (DAPC, 65% y DBPC, 45%) y en el de polinización natural (35%). (Cuadro 5).

Cuadro 5.- Porcentaje de asentamiento de vainas en tratamientos de autopolinización, y polinización cruzada bajo diferentes densidades de polinización.

Tratamientos	Número de vainas	Asentamiento de vainas (%)
DAAP	9	45
DBAP	8	40
DAPC	13	65
DBPC	9	45
PN	7	35

7. DISCUSION

Algunas angiospermas poseen mecanismos reproductivos morfológicos y fisiológicos que causan la separación en tiempo y espacio de las funciones masculinas y femeninas (Bertin y Sullivan, 1988). Dentro de éstos mecanismos uno de los más comunes es la heterostilia, que se expresa por que en las flores los estilos y los estambres tienen diferente longitud. En el caso de la especie sujeta a estudio en éste trabajo, se presenta la heterostilia del tipo distilia ("Pin"), que se caracteriza por diferenciar flores con estilos largos y estambres cortos; éstas diferencias en la posición de estambres y estilo dificulta la autopolinización natural, y de acuerdo a algunos autores tiene como función principal prevenir la depresión por endogamia (Nettancourt, 1977).

En éste trabajo se evaluó en forma comparativa el efecto de la autopolinización y polinización cruzada artificial variando en ambas la densidad de polinización, con el fin de probar la hipótesis de trabajo que postula que el "esfuerzo reproductivo" en B. variegata se reduce con la autopolinización y se incrementa con la polinización cruzada, debido a que en ésta última es mayor el grado de compatibilidad sexual. La anterior hipótesis fué avalada por el hecho de que en ésta especie se presenta heterostilia del tipo distilia ("Pin"), que se supone que es una modificación morfológica que evita la autopolinización ya que cuando ocurre ésta se presenta depresión por endogamia de acuerdo a los resultados obtenidos por Muñoz (1990).

Sin embargo, los resultados obtenidos no revelaron diferencias contrastantes entre los tratamientos de autopolinización y polinización cruzada al menos al comparar la germinación de granos de polen y el

desarrollo de tubos polínicos en el estilo, ya que un patrón de comportamiento indicado por una baja germinación de granos de polen y una reducida frecuencia de tubos polínicos en el estilo fué común para ambos tipos de tratamientos.

La única diferencia notable entre la autopolinización y la polinización cruzada fué el hecho de que en el tratamiento de densidad alta de polinización cruzada se registraron los porcentajes más altos de óvulos que se transformaron en semillas y los más altos de asentamiento de vainas. Esto es indicador de un mayor grado de compatibilidad sexual de la polinización cruzada que las autopolinizaciones, lo cual aparentemente se incrementa con densidades altas de polinización cruzada.

Por otro lado los resultados de germinación de granos de polen in vivo (estigma), revelaron números relativamente bajos de granos de polen germinados, lo cual a su vez está reflejando dos causas probables; una de ellas es que la viabilidad de los granos de polen es baja, o bien, también cabe la posibilidad de la expresión de cierto grado de incompatibilidad sexual en el estigma, que es común que se manifieste en especies en que sus flores presentan el fenómeno de heterostilia (Nettancourt, 1977).

Resultados similares se han reportado en especies como Trifolium pratense L., en la cual la autopolinización y la polinización cruzada en plantas incompatibles ocasiona bajas cantidades de granos de polen germinados sobre los estigmas (Baluch et al., 1973). Sin embargo es importante destacar que los promedios de germinación se fueron incrementando conforme se aumentaron los periodos de tiempo de las polinizaciones realizadas, indicando que los bajos promedios de germinación pueden además de marcar la manifestación aparente de cierta

incompatibilidad, reflejar un efecto probable de escasa germinación asociado con polinizaciones prematuras (antes de que el estigma y el estilo se encuentren completamente maduros), lo cual avala la observación de Thomson (citado por Cruzan, 1989) que reporta en E. grandiflorum un porcentaje muy bajo de germinación de polen en estigmas jóvenes debido a un efecto probable de bajas cantidades de exudado estigmático presentes.

De existir incompatibilidad sexual ésta puede ser del tipo esporofítico, que se caracteriza por que la inhibición o rechazo del gametofito masculino (grano de polen) se manifiesta en el estigma del carpelo, ya que cuando es del tipo gametofítica la inhibición del gametofito masculino se manifiesta en el estilo, lo cual es evidente por una gran diversidad de expresiones morfológicas anormales entre las cuales sobresalen las siguientes: abultamiento del ápice de los tubos, fenómeno que se acompaña por depositación intensa de calosa, tubos bifurcados, formación de tapones largos de calosa, tubos enrollados y en algunos casos la explosión de tubos en tejidos exteriores del estigma (Heslop-Harrison, 1978). En éste trabajo nuestras observaciones realizadas de tubos polínicos, tanto en estilos autopolinizados como en los de polinización cruzada no mostraron ningún tipo de anomalías morfológicas características del sistema de incompatibilidad gametofítica. Además los resultados dados mostraron que el número de tubos polínicos tuvo cierta relación con el grado de germinación del polen depositado sobre el estigma. En general, el desarrollo de tubos polínicos no fué alto en ninguna de las diferentes polinizaciones realizadas incluyendo al tratamiento de polinización natural, marcándose la respuesta de bajo desarrollo de tubos polínicos más acentuada en los primeros periodos de tiempo (12 y 24 horas) después de realizados los

tratamientos de polinización. Sin embargo cabe destacar que la frecuencia de tubos polínicos a través del estilo fué mayor en los tratamientos de autopolinización y que los primeros tubos polínicos que llegaron a la base del estilo se observaron a partir de las 12 horas posteriores a las polinizaciones, y correspondieron al tratamiento de autopolinización con densidad baja de polen, sugiriendo con esto que la aparente manifestación del fenómeno de autoincompatibilidad sexual, es parcial en B. variegata. Coincidiendo éstos resultados con las observaciones realizadas por Nettancourt (1977) en el sentido de que la variación cuantitativa en el grado de reducción de tubos polínicos vista después de autopolinizaciones y polinizaciones cruzadas generalmente es descrita como autoincompatibilidad parcial o pseudocompatibilidad, y usualmente esto ha sido atribuido al rompimiento de un alelo S sobre el sistema de autoincompatibilidad (Ascher, 1984; citado por Cruzan 1989), y a factores del medio ambiente como la temperatura ambiental (Ascher y Pelloquin, 1966; citados por Cruzan, 1989).

Otros efectos posibles de la respuesta de incompatibilidad sexual han sido demostrados en estudios recientes, en los cuales se reporta que la inhibición de los tubos polínicos incompatibles puede ocurrir en el ovario (Gloven y Barret, 1983; Schou y Philipp, 1983; citados por Stephen, 1989) o puede actuar en el seguimiento del proceso de fertilización mediante el abortado de embriones (Knight y Rogger, 1955; Cope, 1962; Crowe, 1979; Seavy y Bawa, 1986; citados por Stephen, 1989). En éste estudio nuestros resultados de óvulos no fecundados o su fracaso posterior en el desarrollo normal de óvulos, indicado por el número de semillas formadas por vaina fué notablemente más alto en los tratamientos de autopolinización que en los de polinización cruzada, por lo cual aparentemente es en el ovario de B. variegata, donde se

manifiesta un grado de autoincompatibilidad sexual más alto; coincidiendo esto con los reportes en la literatura en el sentido de que en algunas especies incompatibles la aborción de óvulo o semilla ocurre después de la autopolinización y esto se ha atribuido a la expresión de alelos recesivos letales (Weins et al. 1987; citado por Vaughton, 1988).

En relación al efecto de la densidad de polinización éste trabajo nos conduce también a razonar sobre el concepto que recientemente ha sido desarrollado por David Mulcahy (1979) en la Universidad de Massachusetts, que parte del supuesto que la depositación de densidades altas de polen en el estigma estimula la competencia de los tubos polínicos que crecen más rápido y son los que tienen mayor probabilidad de fecundar el óvulo (s) (Mulcahy, 1979; Lee, 1984). Los efectos que se atribuyen a la redundancia de gametos han sido también utilizados para explicar eventos reproductivos que ocurren después de la fecundación de óvulos. Por ejemplo Lee (1984), postuló que los frutos que se producen en condiciones de alta densidad de polinización por lo general diferencian más semillas, que los frutos producidos de flores polinizadas con densidad baja de polen, y que éstas diferencias en el número de semillas por fruto, generan condiciones para que se presente abortado selectivo de frutos presentándose mayor abortado en frutos que diferencian una menor cantidad de semillas. En éste trabajo se está demostrando que la densidad de polinización de ambos tratamientos (autopolinización y polinización cruzada) en las flores de B. variegata, influyó en ventajas sobre las tasas de desarrollo de los tubos polínicos, ya que los promedios más bajos de tubos polínicos se encontraron en ambos tratamientos que presentaron densidades bajas de polen; además el mayor porcentaje (64.75) de óvulos que se transformaron en semillas y el mayor número de asentamiento de vainas (65%) se

encontró en el tratamiento de polinización cruzada con densidad alta de polen, apoyando con éstos resultados lo sugerido por Lee (1984).

Por otro lado, los resultados obtenidos en éste trabajo avalan los resultados obtenidos por Muñoz (1990) que señalan que la presencia de heterostilia del tipo "Pin" en E. variegata es un mecanismo que evita la autopolinización, debido a que cuando se autopolinizan sus flores de manera artificial se presenta depresión por endogamia en los componentes reproductivos, ya que fué evidente que el mayor número de semillas formadas y asentamiento de vainas se presentaron al menos en el tratamiento de polinización cruzada con densidad alta de polen.

8. CONCLUSIONES

El esfuerzo reproductivo es mayor en B. variegata al menos en cuanto al número de semillas formadas y asentamiento de vainas cuando se efectúa la polinización cruzada de manera artificial en sus flores, debido a que la autopolinización provoca aparentemente autoincompatibilidad sexual del tipo parcial en ésta especie.

Los estigmas de las flores de B. variegata no manifestaron un efecto evidente de rechazo del gametofito masculino al ser autopolinizados, ya que la germinación de granos de polen fué relativamente similar para ambos tipos de polinización.

En los estilos de las flores de B. variegata no se observaron anomalías morfológicas características del sistema de incompatibilidad sexual tipo gametofítica como son : abultamiento del ápice de los tubos, depositación intensa de calosa, o tubos enrollados; aunque se observó una baja frecuencia de tubos polínicos a través del estilo sugiriendo con esto la manifestación de cierta incompatibilidad sexual en ésta especie.

Las flores de B. variegata combinan aparentemente mecanismos morfológicos (heterostilia) y fisiológicos (incompatibilidad sexual de tipo parcial) con el fin de evitar la autofecundación ya que fué evidente que las flores autopolinizadas presentaron mayor abscisión de vainas y un número bajo de desarrollo de semillas, debido aparentemente a la inhabilidad de los tubos polínicos para efectuar la fecundación de los óvulos, o a su fracaso posterior en el seguimiento de la fertilización mediante el abortado de óvulos.

BIBLIOGRAFIA

- Afify, A. 1933. Pollen tube growth in diploid and poliploid 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. Fluoreszen mikroskopische untersuchunquendes pollenschlauchmarchstum und des zustands der samenalegen bei saverkirschen. Mitt. Klosterneuburg. 28:23-30.
- Ayala F.J. y Kiger J.A. 1984. Genética moderna, Editorial Fondo Educativo Interamericano. Barcelona, España. 836 p.
- Baluch, J.S., M.L. Risius, and R.W. Cleveland. 1973. Pollen germination and tube growth after selfing and crossing Coronilla varia, L. Crop Sci. 13:303-306.
- Bertin R.I. 1982. Paternity and fruit production in Trumpet creeper (Campsis radicans). The Americal Naturalist vol. 119(5) 694-709.
- Bertin R.I. and Sullivan 1988. Pollen interference and criptic self-fertility in Campsis radicans. Amer. J. Bot. 75(8) pp. 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.
- Castillo R.F. 1986. La selección de sistemas de entrecruzamiento en Opuntia robusta. Tesis de maestría Colegio de posgrado Chapingo México pp. 1-21.

- 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.
- Cohen, J. 1975. Gamete redundancy wastage or selection. In: gamete competition in plant and animals. D.L. Mulcahy (ed.). North-Holland, Amsterdam, pp. 99-111.
- 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 Erythronium grandiflorum. *Amer. J. Bot.* 76(4):562-570.
- Delevoryas T. 1981. *Diversificación vegetal*. Segunda edición. Ed. CECSA. México. D.F. 204 p.
- Dobzchanski T., Ayala J., Stebbins G. L. y Valentine J.W. 1983. *Evolución*. Editorial Omega, Barcelona España. 166 p.
- 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 & Sons, Inc. New York. 767 p.
- Esau, J. 1977. *Anatomy of seeds 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.
- Gorska-Brylas, A. 1965. Hydrolases in pollen grains and pollen tubes. Acta. Soc. Bot. Pol. 34, 589-604.
- Henny, R.J., and P.D. Ascher. 1977. Sporophytic recognition of pollen S alleles in the gametophytic self-incompatibility system of Nemesia strumosa. Benth. J. Hort. Sci. 49:15-19.
- 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 angiosperms incompatibility systems. Proc. Roy. Soc. London. B. 202: 73-92.
- Heslop-Harrison, J. 1983. The reproductive versatility of flowering plants and overview. In strategies of plant reproduction BARC. Symposium, 6, W. J. Meud. (ed.). Allandheld Osmund publisher. Granada. pp. 3-18.

- Howlett, F.S. 1937. Factors affecting the rate and course development of the female gametophyte in apple. Proc. 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. and D.B. Fisher. 1969. Cotton embryogenesis: the tissues of the stigma and style and their relation to the pollen tube. Planta. 84. 97-121.
- Kapil, N.R. y Bhatnagar. 1975. A fresh look at the process of double fertilization in angiosperms. Phytomorphology. 25: 343-368.
- Kendall, W.A. and N.L. Taylor. 1969. Effect of temperature on pseudo-self-compatibility in Trifolium pratense L. Applied Genetics 39, 123-126.
- Klungness, M., R. Thorp and Briggs. 1983. Field testing the germinability of almond (Prunus dulcis). J. Hort. Sci. 58 (2) 229-235.
- Knox, R.B. 1971. Pollen wall proteins : localization, enzymic and antigenic activities during development in Gladiolus (Iridicacae). 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, 4-92.
- 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.

- Lee, D.D. 1984. Patterns of fruit maturation: A gametophyte competition hypothesis. *The American Naturalist*. 123(3): 327-432.
- 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 hybridization. *Strategies on plant reproduction BARC. Symposium 6.*, W.J. Meudt (ed.). Allenheld Osmond, Publishers Granada. pp. 35-49.
- Little, T.M. y F.J. Hills. 1985. *Métodos estadísticos para la investigación en la agricultura*. Séptima reimpresión. 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.
- Luis, A. A. y E.B. Pimienta. 1985. Desarrollo de tubos polínicos, tubo floral y viabilidad de óvulos en polinizaciones compatibles e incompatibles de Manzano (Malus pumila Mill.), *Agrociencia* 62 pp.
- Marshall, D.L. and N.C. Ellstrand, 1986. Proximal causes of multiple paternity in wild radish Raphanus sativus. *Am. Nat.* 126: 596-605.
- 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 'd' anjov pear. *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. Publ. 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.
- Mulcahy, D.J. 1979. The rise of the angiosperms: A geneological factor. Science 206: 20-23.
- Muñoz, U.A. 1990. Evidencias de depresión por endogamia en Orquídea (B. variegata L.) primaveral. Tesis de licenciatura en Biología. Universidad de Guadalajara. pp. 67.
- Nettancourt, D. 1977. Incompatibility in angiosperms monographs on theoretical and applied genetics 3. Springer-Verlag Berlin. Heidelberg New York. 230 p.
- Papademetriou, K.M. 1974-1975. Pollen tube growth in avocados (Persea americana, Mill.). Calif. Avoc. Soc. Yearbook, 93-107.
- Percival, S.M. 1969. Floral biology. 2nd. ed. Pergamon Press. London. 243 p.
- Pimienta, E. and V.S. Polito. 1982. Ovule abortion in "Nonpareil" almond (Prunus dulcis (Mill.) W.A. Webb) Amer. J. Bot. 69(6): 913-920.
- Pimienta, B. E. 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, B. E. et al. 1983. Pollen tube growth in cross- and self-pollinated 'Nonpareil' almond. J. Amer. Soc. Hort. Sci. 108 (4): 643-647.
- Pimienta, B.E. 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. 1987. Polinización y fecundación en frutales perenes. Tema didáctico número 4. Instituto Nacional de Investigaciones Forestales y Agropecuarias, SARH, México 27 p.
- Pimienta, B.E. 1990. Fase progámica en angiospermas. Ciencia 41, 319-332.
- Reyes-Castañeda, P. 1983. Bioestadística aplicada. Editorial Trillas, segunda reimpresión. México D.F. 216 p.
- Sari-Gorla, M.E. Ottaviano, and D. Faini, 1975. Genetic variability of gametophytic growth rate in maize. Theor. Appl. Genet. 46: 289-294.
- Schlichting, D.C., Stephenson G.A., J.A. Winsor, 1987. Pollen competition and offspring variance. Evolutionary trends in plants. Vol. 1(1).
- Stanley, R.G. 1971. Pollen chemistry and tube growth. In: pollen development a physiology. Heslop-Harrison (ed.). Appleton Century-Crofts. New York. pp. 131-170.
- Stephen G. Weller and R. Ornduff, 1989. Incompatibility in Amsinckia grandiflora (Boraginaceae): Distribution of callose plugs and pollen tubes following inter- and intramorph crosses. Amer. J. Bot. 76(2): 277-282.
- Stephenson, A.G. 1981. Flower and fruit abortion: proximate causes and ultimate functions. Am. Rev. Ecol. Syst. 12: 253-279.
- Stosser, R. and S.F. Anvari. 1982. On the senescence of ovules in cherries. Scientia Horticulture, 16:29-38.
- 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 *Eschscholtzia californica* (HAMD. *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.O. University of California, Davis.
- Vaughton, G. 1988. Pollination and seed set of *Branksia spinulosa* : Evidencia for autogamy. *A. J. Bot.* 36: 633-42.
- Williams, R.R. 1965. The effect of summer nitrogen applications on the quality of apple blossoms. *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.
- Williams, R.R. and M. Maier. 1977. Pseudocompatibility after self-pollination of the apple Cox's Orange pippin. *J. Hort. Sci.* 52: 475-483.
- Willing, R.P., and Mascarenhas. 1984. Analysis of the complexity and diversity of mRNAs from pollen and shoots of *Tradescantia*. *Plant physiol.* 75: 865-868.
- Winsor, J.A., Davis L.E. and A.G. Stephenson. 1987. The relationship between pollen load on offspring vigor in *Cucurbita pepo*. *The American Naturalist*. 129(5) pp. 643-656.
- Wyatt, R. 1983. Pollinator-plant interaction and the evolution breeding systems. In: *Pollination biology*, edited by Leslie Academic Press, Inc-Orlando. Florida. pp. 51-96.

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 u otro individuo de la misma especie.

Antesis. Momento en el cual se abre el capullo floral.

Autofecundación. Sin. de autogamia. La unión de gametos masculinos y femeninos producidos por un mismo individuo.

Autoincompatibilidad sexual. Se define como la inhabilidad de una planta que produce gametos funcionales de formar semillas cuando es autopolinizada.

Autopolinización. Polinización por medio del polen de la propia flor, tanto si se produce espontáneamente como si intervienen factores externos.

Bráctea. Cualquier órgano foliáceo situado en la proximidad de las flores y distinto por su forma, tamaño, consistencia, color, etc., de las hojas normales y de las que, transformadas, constituyen el 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 en el cual un órgano cualquiera se abre espontáneamente llegando su oportunidad. La dehiscencia ocurre en esporangios y gametangios, en las anteras, en los frutos etc.

Dicógamo (a). Se refiere a las plantas en que las flores no presentan al mismo tiempo dehiscencia y receptividad del estigma.

Diploide. Dícese del número zigótico de cromosomas ($2n$).

Endogamia. Cuando la fecundación ocurre con gametos que proceden de un tronco común, o de un mismo individuo.

Esporofito. En plantas con alternación de generaciones, la generación que presenta esporas asexuales. Generación de células de núcleo diploide que, previo un proceso de división reductiva, produce esporas asexuales haploides.

Estigma. Porción apical de la hoja carpelar, de forma muy variada, en muchos casos rezuma un humor azucarado y pegajoso.

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

Gametofito. Generación de células haploides, que termina produciendo células reproductoras sexuales, las gámetas.

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

Haplode. 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 las gámetas.

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

Hipantio. Parte axial de una flor soldada al ovario de la misma.

Micrópilo. En los rudimentos seminales, abertura que a modo de canículo, deja en el ápice de los mismos el tegumento o los tegumentos.

Ovulo. En la reproducción sexual, 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 viabilidad, 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. Fecundación de gametos de origen diferente dentro de la misma especie.

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.	18.872	4	4.718	42.6658	0.000003
DEBIDA A BLOQUES	1.158	4	0.290	2.6188	0.073636
RESIDUAL	1.769	16	0.111		
TOTAL	21.800	24			
MEDIA TOTAL	2.28240				

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.	14.395	4	3.599	10.6830	0.000374
DEBIDA A BLOQUES	0.369	4	0.092	0.2739	0.889915
RESIDUAL	5.390	16	0.337		
TOTAL	20.154	24			
MEDIA TOTAL	2.09640				

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.	9.233	4	2.308	4.8435	0.009547
DEBIDA A BLOQUES	1.586	4	0.397	0.8322	0.525652
RESIDUAL	7.625	16	0.477		
TOTAL	18.444	24			
MEDIA TOTAL	2.52640				

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.	19.970	4	4.993	15.9005	0.000076
DEBIDA A BLOQUES	2.508	4	0.627	1.9967	0.143135
RESIDUAL	5.024	16	0.314		
TOTAL	27.502	24			
MEDIA TOTAL	2.89360				

Tabla S. 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.	7.774	4	1.944	3.5286	0.029843
DEBIDA A BLOQUES	1.913	4	0.478	0.8681	0.505655
RESIDUAL	8.813	16	0.551		
TOTAL	18.500	24			
MEDIA TOTAL	3.32280				

Tabla 6. Análisis de varianza de la frecuencia de tubos polínicos registrados en la posición E - 1/4 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.	10.439	4	2.610	18.3253	0.000045
DEBIDA A BLOQUES	0.914	4	0.229	1.6049	0.220895
RESIDUAL	2.279	16	0.142		
TOTAL	13.631	24			
MEDIA TOTAL	1.72720				

Tabla 7. Análisis de varianza de la frecuencia de tubos polínicos registrados en la posición E - 1/4 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.	7.551	4	1.883	8.7302	0.000864
DEBIDA A BLOQUES	0.251	4	0.063	0.2907	0.879363
RESIDUAL	3.460	16	0.216		
TOTAL	11.262	24			
MEDIA TOTAL	1.75360				

Tabla 8. Análisis de varianza de la frecuencia de tubos polínicos registrados en la posición E - 1/4 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.	4.963	4	1.241	3.3132	0.036654
DEBIDA A BLOQUES	3.011	4	0.753	2.0099	0.141080
RESIDUAL	5.992	16	0.374		
TOTAL	13.966	24			
MEDIA TOTAL	1.65280				

Tabla 9. Análisis de varianza de la frecuencia de tubos polínicos registrados en la posición 1/4 - 1/2 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.	7.317	4	1.829	19.3988	0.000036
DEBIDA A BLOQUES	0.314	4	0.078	0.8319	0.525843
RESIDUAL	1.509	16	0.094		
TOTAL	9.140	24			
MEDIA TOTAL	2.12680				

Tabla 10. Análisis de varianza de la frecuencia de tubos polínicos registrados en la posición 1/2 - 3/4 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.	8.072	4	2.018	14.1705	0.000120
DEBIDA A BLOQUES	1.589	4	0.397	2.7887	0.061793
RESIDUAL	2.279	16	0.142		
TOTAL	11.940	24			
MEDIA TOTAL	1.23640				

Tabla 11. 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.	8.824	4	2.206	38.9892	0.000004
DEBIDA A BLOQUES	0.117	4	0.029	0.5181	0.725961
RESIDUAL	0.905	16	0.057		
TOTAL	9.846	24			
MEDIA TOTAL	1.50160				

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.	4.934	4	1.234	5.6589	0.005179
DEBIDA A BLOQUES	0.495	4	0.124	0.5680	0.691992
RESIDUAL	3.488	16	0.218		
TOTAL	8.918	24			
MEDIA TOTAL	2.34960				

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.	6.150	4	1.538	7.1234	0.002019
DEBIDA A BLOQUES	1.075	4	0.269	1.2450	0.331593
RESIDUAL	3.453	16	0.216		
TOTAL	10.679	24			
MEDIA TOTAL	2.66960				

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.	9.579	4	2.395	20.8881	0.000028
DEBIDA A BLOQUES	0.613	4	0.153	1.3374	0.298620
RESIDUAL	1.834	16	0.115		
TOTAL	12.027	24			
MEDIA TOTAL	1.21920				

Tabla 15. Análisis de varianza de la frecuencia de tubos polínicos registrados en la posición 3/4 - Base 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.	4.383	4	1.096	7.1884	0.001944
DEBIDA A BLOQUES	0.677	4	0.169	1.1101	0.386383
RESIDUAL	2.439	16	0.152		
TOTAL	7.499	24			
MEDIA TOTAL	2.52480				

Tabla 16. Análisis de varianza de la frecuencia de tubos polínicos registrados en la posición 3/4 - Base 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.	8.709	4	2.177	6.2427	0.003479
DEBIDA A BLOQUES	1.639	4	0.410	1.1746	0.359181
RESIDUAL	5.580	16	0.349		
TOTAL	15.927	24			
MEDIA TOTAL	2.92400				



UNIVERSIDAD DE GUADALAJARA

FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS

Sección

Expediente

Número 390/91

C. MARIA DEL CARMEN RAMIREZ GONZALEZ
P R E S E N T E . -

Manifestamos a usted que con esta fecha ha sido aproba
do el tema de Tesis GERMINACION DE GRANOS DE POLEN Y DESARROLLO DE TUBOS
POLINICOS EN AUTOPOLINIZACIONES Y POLINIZACIONES CRUZADAS EN ORQUIDEA - -
(Bahinia variegata, L.) PRIMAVERAL, para obtener la Licenciatura en - -
Biología.

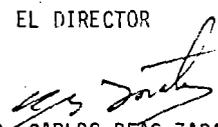
Al mismo tiempo le informamos que ha sido aceptado co-
mo Director de dicha Tesis el Dr. Eulogio Pimienta Barrios.

A T E N T A M E N T E

"PIENSA Y TRABAJA"

"ABO LIC. JOSE GPE. ZUNO HERNANDEZ"
Guadalajara, Jal., 4 de Junio de 1991

EL DIRECTOR


M. EN C. CARLOS BEAS ZARATE


FACULTAD DE
CIENCIAS BIOLÓGICAS

EL SECRETARIO


M. EN C. MARTIN PEDRO TENA MEZA

c.c.p. Dr. Eulogio Pimienta Barrios Dri. de Tesis.-
c.c.p. el expediente del alumno

'gpg



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 "Germinación de granos de polen y desarrollo de tubos polínicos en autopolinizaciones y polinizaciones cruzadas en Orquídea (Bahúinia variegata L.) primaveral", presentada por la C. María del Carmen Ramírez González, 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