

ESTUDIO DEL SISTEMA APERTURAL DE HEDYSARUM L. Y ONOBRYCHIS MILLER (FABACEAE) Y SUS IMPLICACIONES TAXONOMICAS

J. L. Ubera¹, A. M. Prados¹, R. Tormo² & E. Domínguez¹

¹ Departamento de Biología Vegetal y Ecología.
Facultad de Ciencias. CORDOBA.

² Departamento de Botánica. Facultad de Ciencias.
Universidad de Extremadura. BADAJOZ.

(Manuscrito recibido 3 Octubre 1988, aceptado el 21 Diciembre 1988)

RESUMEN. Se ha estudiado la estructura del sistema apertural de las especies ibéricas de los géneros *Hedysarum* L. y *Onobrychis* Miller: *H. coronarium* L., *H. spinosissimum* L., *H. glomeratum* F. G. Dietrich, *H. humile* L., *O. saxatilis* (L.) Lam., *O. supina* (Chaix) DC., *O. stenorrhiza* DC., *O. peduncularis* (Cav.) DC., *O. argentea* Boiss., *O. reuteri* Leresche, *O. caput-galli* (L.) Lam., mediante microscopía óptica, electrónica de barrido y transmisión. Según nuestras observaciones todas las especies estudiadas presentan ectoapertura de tipo colpo con membrana apertural operculada, existiendo ciertas diferencias en el sistema apertural referidas sobre todo al tipo de costillas y de endoapertura, que permiten separar dos tipos de sistemas aperturales: a) Aperturas tipo *Hedysarum* con costillas marcadas y endoapertura circular, y b) Aperturas tipo *Onobrychis* con endoapertura alargada y costillas suaves. Hay que hacer notar sin embargo, que *H. humile* presenta granos de polen semejantes a los del género *Onobrychis*.

SUMMARY. The structure of the apertural system of the Iberian species of the genera *Hedysarum* L. and *Onobrychis* Miller: *H. coronarium* L., *H. spinosissimum* L., *H. glomeratum* F. G. Dietrich, *H. humile* L., *O. saxatilis* (L.) Lam., *O. supina* (Chaix) DC., *O. stenorrhiza* DC., *O. peduncularis* (Cav.) DC., *O. argentea* Boiss., *O. reuteri* Leresche, *O. caput-galli* (L.) Lam. was studied by light, scanning and transmission electron microscopy. The species studied have a colpus type ectoaperture with an operculate apertural membrane. There are differences in the structure of the aperture especially of the costae and endoaperture. Based on these differences two apertural types are recognised: a) *Hedysarum* type apertures with a marked costae and circular endoaperture, and b) *Onobrychis* type apertures with a soft costae and elongated endoaperture. It is noteworthy that *H. humile* has pollen grains similar to that of the genus *Onobrychis*.

INTRODUCCION

La tribu *Hedysareae* comprende c. 230 especies localizadas en Europa, N.E. de Africa Tropical, N. de Africa y desde el

N.O. de la India hasta el N. de Asia (HUTCHINSON, 1964). De ellas 41 viven en Europa y 11 en la Península Ibérica (CHIRKOVA-ZERTOVA, 1968; BALL, 1968).

DE CANDOLLE (1826) reconoció *Hedysareae* estableciendo dos subtribus: *Euhedysareae* y *Coronilleae*, para lo cual se basó fundamentalmente en la morfología de los frutos. Esta separación en subtribus fué seguida por varios autores clásicos (BOISSIER, 1839; BENTHAM & HOOKER, 1865; TAUBERT, 1891). Más recientemente HEDGE (1970), TOWNSEND (1974), ALI (1977) y POLHILL (1981) han reconocido estas subtribus como tribus independientes.

Entre los estudios polínicos previos sobre esta tribu cabe destacar los realizados por MAURIZIO & LOUVEAUX (1961) los cuales describieron la morfología polínica de *Hedysarum coronarium*, *Onobrychis sativa* y *Onobrychis viciifolia*. OHASHI (1971) realizó un estudio de la tribu *Coronilleae* con especial referencia a la morfología polínica, describiendo los granos de polen de *Hedysarum* y *Onobrychis* como tricolpados. PIRE (1974) estudió la tribu *Hedysareae* observando diferencias en el sistema apertural entre *Hedysarum hedysaroides* con apertura simple y *H. coronarium* con apertura compuesta.

Más recientemente, FERGUSON & SKVARLA (1981) indicaron la existencia de una pequeña variación en el tectum y una mayor especialización en las endoaperturas y en la estratificación de la pared. Destacando la existencia de polen tricolpado con una membrana apertural provista de grandes gránulos en *Onobrychis* y algunas especies de *Hedysarum*, y de polen tricolporado en las especies de *Hedysarum* sect. *Hedysarum*.

FERGUSON & STRACHAN (1982) y FERGUSON (1984) diferenciaron en el sistema apertural tricolporado tres tendencias evolutivas, la última de las cuales sería la pérdida de una endoapertura definida asociada generalmente a la presencia de opérculo.

FERNANDEZ (1987), estudió las especies de *Hedysarum*, incluyéndolas en el tipo *Ononis repens*. Este tipo se caracteriza por sus pólenes triaperturados, con endoaperturas muy marcadas, superficie reticulada, claramente longiaxos, y lúmenes con márgenes crestados.

Yá en un trabajo precedente (PRADOS & al., 1985) se estudió la morfología polínica de la tribu *Hedysareae* en Andalucía Occidental empleando microscopía óptica y electrónica de barrido. En el presente estudio se realiza un análisis comparativo a MEB y MET del sistema apertural de las especies ibéricas de *Hedysarum* y *Onobrychis*.

MATERIAL Y METODOS

Se han estudiado 11 especies de los 2 géneros de la tribu *Hedysareae* presentes en la Península Ibérica, cuyas localidades se indican al final del texto (ver Material Estudiado).

Las muestras estudiadas se han tomado directamente de pliegos de herbario o fijadas en el campo con glutaraldehído al 3%. Para el estudio al MEB hemos empleado material acetolizado según el método de ERDTMAN (1960), ligeramente

modificado por HIDEUX (1972) y recubierto con una capa de oro mediante la técnica de sputtering. Para la observación a MET hemos utilizado material acetolizado y sin acetolizar preparándose las muestras según la técnica de SKVARLA (1966), y contrastadas según el método de Reynolds (sec. LEWIS & KNIGHT, 1977).

Se ha empleado la terminología de ERDTMAN (1969) y FAEGRI & IVERSEN (1975) y seguido el tratamiento sistemático propuesto por CHRITKOVA-ZERTOVA (1968), BALL (1968) y POLHILL (1981).

RESULTADOS

Según nuestras observaciones, el sistema apertural de la tribu *Hedysareae* es trizonocolporado, con ectoaperturas de tipo colpo que llegan casi hasta los polos y membrana apertural con opérculo longitudinal (Fig. 1C). Endoaperturas de tipo poro lalongado o circular.

Tanto en la ectexina, como en la endexina hay cambios estructurales cuando se recorren estas capas desde la zona interapertural hacia las aperturas. En la ectexina, el tectum disminuye progresivamente el diámetro de los lúmenes del retículo, hasta terminar en un cordón marginal con escasas perforaciones; las columelas disminuyen su altura muy cerca del borde de la ectoapertura llegando a contactar el tectum con la endexina, y finalmente la base se hace muy discontinua, hasta desaparecer por completo.

La membrana apertural presenta en su parte central y a lo largo de la ectoapertura un opérculo que está formado por un cordón más o menos continuo de ectexina, con tectum completo, cortas columelas y base fragmentada.

En la endexina hay un aumento de grosor según pasemos de la mesocolpia a la apertura, esta capa que en un principio es de un grosor semejante a la base (Fig. 1G), aumenta progresivamente su espesor hasta, en algunos casos, 6-8 veces y adopta un aspecto lamelar (Fig. 1D, I).

En el material examinado se han observado dos tipos diferenciados de endoapertura:

TIPO HEDYSARUM.- Endoapertura circular o ligeramente lalongada, mas ancha que la ectoapertura (Fig. 1A), bordes laterales no coincidentes con los de la ectoapertura, estando la exina en la zona ecuatorial próxima a la ectoapertura formada sólo por ectexina (Fig. 1E, F). Costillas evidentes formadas por una endexina marcadamente reforzada y compacta. En la región apertural la endexina se adelgaza fuertemente y sólo es continuo un estrato delgado externo de esta capa (Fig. 1F). Se presenta en *H. coronarium*, *H. spinosissimum*, y *H. glomeratum*.

TIPO ONOBRYCHIS.- Endoapertura lalongada; con bordes laterales coincidentes con los de la ectoapertura y por tanto, la exina en la zona ecuatorial próxima a la ectoapertura está formada por ectexina y endexina (Fig. 1H, I). Costillas muy suaves formadas por una endexina ligeramente refor-

zada y con aspecto lamelar. En la región apertural, la endexina se diferencia en tres estratos, uno interno grueso y difuso; uno medio muy grueso y granular; y otro externo muy delgado y denso (Fig. 11). Se presenta en el género *Onobrychis* y *H. humile*

DISCUSION

OHASHI (1971) describió los granos de polen de *Hedysarum* como colpados, carácter que al parecer es el más extendido en el género (FERGUSON & SKVARLA, 1981), pero en la elección de la especie tipo seleccionó a *H. coronarium* que pertenece a la sect. *Hedysarum* cuyos taxa se caracterizan por tener aperturas colporadas.

Varios autores (MAURIZIO & LOUVEAUX, 1961; OHASHI, 1971; PIRE, 1974; FERGUSON & SKVARLA, 1981; PRADOS & al, 1985) han descrito la ausencia de endoapertura en la mayoría de las especies de *Hedysarum* y *Onobrychis*.

Como ha expuesto FERGUSON (1984), existe una tendencia dentro de *Papilionoideae* según la cual algunas especies evolucionadas llegan a la pérdida de una endoapertura definida. Frecuentemente, este fenómeno se acompañaría de una membrana apertural operculada, por lo que no sería correcto calificarlas como tricopadas, comentario que se ratifica plenamente con nuestras observaciones en *Hedysarum* y *Onobrychis*.

A la luz de los resultados obtenidos, parece ser que las aparentemente "aperturas simples", tipo *Onobrychis* estarían cons-

tituidas por un sistema apertural compuesto por ecto y endoapertura. En este, la endoapertura es un poro lalongado con unas costillas menos marcadas que las de tipo *Hedysarum* y con bordes laterales coincidentes con la ectoapertura. Además, hay que considerar que sobre parte de esta endoapertura, está situado el opérculo de la membrana ectoapertural. Por ello, hay un conjunto de caracteres que dificultan la observación de la endoapertura, tanto a MO (Fig. 1B, C) como a MEB.

Se puede establecer un paralelismo entre los caracteres macromorfológicos y los polínicos anteriormente descritos. Así, analizando la disposición de las estípulas conjuntamente con el tipo de endoapertura, podríamos deducir las relaciones taxonómicas entre los táxones estudiados. *Hedysarum* consta en la Península Ibérica de dos secciones: *Hedysarum* (*H. coronarium*, *H. spinosissimum* y *H. glomeratum*), con estípulas libres y endoaperturas bien definidas (tipo *Hedysarum*) y *Multicaulia* (*H. humile*), con estípulas soldadas y endoaperturas poco definidas (tipo *Onobrychis*). Las otras secciones presentes en Europa (*Gamotium*, *Subacaulia* y *Crinifera*), presentan también estípulas soldadas (CHRTKOVA-ZERTOVA, 1968:186). Además, los *Onobrychis* estudiados (incluidos en *Onobrychis* y *Lophobrychis*) presentan también estípulas soldadas y endoaperturas tipo *Onobrychis*, en el resto de Europa la sect. *Hymenobrychis* presenta estípulas más o menos adnadas soldadas al peciolo (BALL, 1968:188).

Cabría pues pensar, a la luz de los resultados obtenidos, que quizás fuera necesario la reordenación taxonómica de las especies de los dos géneros, donde las de la sect. *Hedysarum* ocuparían un nivel menos diferenciado como reflejan sus estípulas libres y pólenes con endoapertura definida, frente a todas las demás (*Onobrychis* y *Hedysarum* pp.) posiblemente más evolucionadas, como nos indican sus estípulas soldadas y endoapertura difusa.

BIBLIOGRAFIA

- ALL, S. I. (1977). *Hedysareae*. In: E. Nasir & S. I. Ali. Flora of West Pakistan, p. 100. University of Karachi.
- BALL, P. W. (1968). *Onobrychis*. In: T. G. Tutin & al. (eds.). Flora Europaea, 2. pp. 187-191. Cambridge Univ. Press. Cambridge.
- BENTHAM, G. & J. D. HOOKER, (1865). Genera Plantarum, 1. London.
- BOISSIER, E. (1839). Voyage Botanique dans le Midi de L'Espagne, 2. Paris.
- DE CANDOLLE, A. P. (1826). Mémoires sur la Famille des Legumineuses. Paris.
- CHRTKOVA-ZERTOVA, A. (1968). *Hedysarum*. In: T. G. Tutin & al. (eds.). Flora Europaea, 2. pp. 185-187. Cambridge Univ. Press. Cambridge.
- ERTDMAN, G. (1960). The acetolysis method a revised description. Svensk Bot. Tidskr. 54:561-564.
- ERTDMAN, G. (1969). Handbook of Palynology Munksgaard. Copenhagen.
- FAEGRI, K. & J. IVERSEN (1975). Textbook of pollen analysis. Blackwell. Oxford.
- FERGUSON, I. K. (1984). Pollen Morphology and Biosystematics of the Subfamily Papilionoideae (Leguminosae). In: W. G. Grant (ed.). Plant Biosystematics 377-394. Academic Press. Canada.
- FERGUSON, I. K. & J. J. SKVARLA (1981). The pollen morphology of the Subfamily Papilionoideae (Leguminosae). In: R. M. Polhill & P. H. Raven (eds.). Advances in Legume Systematics, 1. Royal Botanic Gardens. Kew.
- FERGUSON, I. K. & R. STRACHAN (1982). Pollen morphology and taxonomy of the tribe Indigoferae (Leguminosae: Papilionoideae). Pollen et Spores, 24(2):171-210.
- FERNANDEZ, I. (1987). Fabaceae (Papilionoideae). In: B. Valdés, M. J. Díez & I. Fernandez (eds.). Atlas polínico de Andalucía Occidental. Instituto Desarrollo Regional nº 43, Universidad de Sevilla. Excm. Diputación Provincial de Cádiz. Sevilla.
- HEDGE, I. C. (1970). *Hedysareae*. In: P. H. Davis (ed.). Flora of Turkey. Edinburgh Univ. Press. Edinburgh.
- HIDEUX, M. (1972). Techniques d'étude du pollen au MEB: effets comparés des différents traitements physicochimiques. Micron 3:1-31.
- HUTCHINSON, J. (1964). The Genera of Flowering Plants, 1. University Press. Oxford.
- LEWIS, P. R. & D. P. KNIGHT (1977). Practical methods in electron microscopy. Staining method for sectioned material. North Holland Publ. Co. Amsterdam.
- MAURIZIO, A. & J. LOUVEAUX (1961). Pollen et plantes mellifères d'Europe II. Pollen et Spores 3(2):219-240.
- OHASHI, H. (1971). A taxonomic study of the tribe Coronilleae (Leguminosae), with a special reference to pollen morphology. Jour. Fac. Sci. Univ. Tokyo sec. 3, 11(2):25-92.
- PIRE, S. (1974). Estudio palinológico de la tribu *Hedysareae* (Leguminosae). Bonplandia 3:143-169.
- POLHILL, R. M. (1981). *Hedysareae*. In: R. M. Polhill & P. H. Raven (eds.). Advances in Legume Systematics, 1. Royal Botanic Garden. Kew.
- PRADOS, A. M., E. DOMINGUEZ & J. L. UBERA (1985). Estudio palinológico de la tribu *Hedysareae* DC. en Andalucía Occidental. Ann. Asoc. Palinol. Leng. Esp. 2:43-54.
- SKVARLA, J. J. (1966). Techniques of Pollen and Spore Electron Microscopy. Part I.- Staining,

- Dehydration, and Embedding. Okla. Geol. Notes. 26(7):179-186.
- TAUBERT, P. (1891). *Leguminosae*. In: A. H. G. Engler & A. Prantl. Die Natürlichen pflanzenfamilien 3,3:184. Berlin.
- TOWNSEND, C. C. (1974). *Hedysareae*. In: C. C. Townsend & E. Guest. Flora of Irak, 3ed. Min. Agr. Baghdad.

MATERIAL ESTUDIADO

- Hedysarum coronarium* L., CADIZ: Jerez, 9-IV-78, Pastor, Talavera & Valdés (COFC10209). CADIZ: entre Jerez y Sanlúcar de Barrameda, 13-V-71, Cabezudo, Domínguez & Talavera (COFC-10210). CADIZ: San Roque, 25-III-70, Galiano & al. (COFC10211).
- H. spinosissimum* L., CORDOBA: entre El Cañuelo y Zamoranos, 28-III-80, Muñóz & Tormo (COFC10213). CORDOBA: Priego de Córdoba, 11-IV-80, Domínguez & al. (COFC10212). CORDOBA: Lucena, 18-IV-80, Díaz & Muñóz (COFC10214). ALMERIA: Sorbas, 6-IV-83, Infante, Muñóz & Ubera (COFC12877).
- H. glomeratum* F. C. Dietrich, SEVILLA: Coripe, 11-V-79, Domínguez, Muñóz & Ruíz de Clavijo (COFC10215). CADIZ: Puerto Serrano, 15-III-80, Arenas & al. (COFC10216). SEVILLA: Morón de la Frontera, 16-IV-78, Guerrero & Fernandez (COFC10217).
- H. humile* L., SEVILLA: entre Osuna y El Saucedo, 11-V-79, Domínguez, Muñóz & Ruíz de Clavijo (COFC10218). CORDOBA: Priego de Córdoba, 9-IV-79, Muñóz (COFC10220). CORDOBA: entre Rute y Camorro de la Isla, 31-V-85, Muñóz & Prados (COFC12878).
- Onobrychis saxatilis* (L.) Lam., SORIA: Chercoles, 2-VI-76, Segura (SEV86845).
- O. supina* (Chaïn) Lam. et DC., BARCELONA: El Bruc de Dalt, 26-IV-70, Hernandez (MGC1687).
- O. stenorrhiza* DC., ALICANTE: Jijona, 24-IV-71, Rivas Goday & Ladero (SEV27943).
- O. peduncularis* (Cav.) DC., CORDOBA: Dos Torres, 9-V-76, Devesa (COFC3249). CORDOBA: entre Villaralto y Dos Torres, 2-V-76, Devesa (COFC3250). CORDOBA: Pedroches, 2-V-76, Devesa (SEV32654). MALAGA: Antequera, 1-IV-78, Asensi & Díez (MGC4925).
- O. argentea* Boiss., BURGOS: La Colina, 20-VI-75, Segura (SEV69810).
- O. reuteri* Leresche, PALENCIA: Cervera de Pisuer-ga, 23-VII-75, Segura (SEV11582).
- O. caput-galli* (L.) Lam., CATALUÑA: Vilarnatal, 2-III-07, Sennen (MA68938). ARGELIA: Le Goraya de Bougie, sin fecha, Reverchon (E).

FIGURA 1.- A, D, E y F, *Hedysarum spinosissimum*; B, C y G, *Onobrychis peduncularis*; H e I, *H. humile*. A, microscopía óptica (MO), endoapertura. B, endoapertura difusa a MO. C, microscopía electrónica de barrido, membrana apertural operculada. D-I, microscopía electrónica de transmisión. D, sección ecuatorial fuera de la endoapertura, mostrando las costillas y la membrana apertural operculada. E, sección meridiana mostrando los engrosamientos de la endexina. F, sección meridiana, detalle de las costillas. G, detalle de la exina en la región interapertural. H, sección ecuatorial sobre polen acetolizado, observese el debilitamiento de la endexina con unas suaves costillas, ectoapertura operculada. I, sección ecuatorial a nivel de la endoapertura, polen no acetolizado. Escalas: A, x13.3 μ m. B, x16.6 μ m. C, x1.6 μ m. D, x1.5 μ m. E, x2.2 μ m. F, x1.2 μ m. G, x0.8 μ m. H, x1.3 μ m. I, x0.8 μ m.

FIGURA I

