

ESTUDIO EXPERIMENTAL DE LA REPRODUCCION
EN LAS ESPECIES ANUALES EUROPEAS
DEL GENERO HIPPOCREPIS L.

E. DOMÍNGUEZ & P. E. GIBBS

Departamento de Botánica, Facultad de Ciencias, Sevilla, y
Department of Botany, The University, St. Andrews, Scotland

(Recibido el 10 de abril de 1975)

Resumen. En este trabajo se estudian diversos aspectos de la biología de la reproducción de algunas especies del género *Hippocrepis* L., estableciéndose que las especies *H. biflora*, *H. ciliata*, *H. multisiliquosa* e *H. unisiliquosa* son regularmente autofecundadas como consecuencia de una autopolinización precoz que precede a la antesis; *H. salzmanni* aunque es autocompatible no es automáticamente autopolinizada. Se han realizado cruzamientos interespecíficos artificiales comprobando que excepto entre los taxones *H. ciliata* e *H. multisiliquosa* hay mecanismos de aislamiento postzigóticos que producen el aborto de las semillas, limitando la hibridación interespecífica.

Summary. The reproductive biology and interspecific crossing relationships of a taxones *H. ciliata* e *H. multisiliquosa* hay mecanismos de aislamiento postzigóticos que established that the species *H. biflora*, *H. ciliata*, *H. multisiliquosa* and *H. unisiliquosa* are regularly self-fertilising as a consequence of precocious self-pollination prior to anthesis. The species *H. salzmanni* is distinct in that it is self-compatible but not automatically self-pollinating. Controlled inter-specific pollinations indicate that there are post-zygotic barriers wich cause seed abhortion and so limit the potential for interspecific hybridisation except between the taxa *H. ciliata* and *H. unisiliquosa*.

INTRODUCCION

El género *Hippocrepis* es muy polimorfo, tanto en las especies perennes como anuales, y algunos autores (UHRVA, 1950) han pretendido demostrar

que en algunos casos este polimorfismo es debido a fenómenos naturales de hibridación.

La biología de la reproducción en las Papilionáceas ha sido ampliamente estudiada, existiendo numerosos trabajos en la bibliografía; sin embargo, el género *Hippocrepis* ha escapado a este conocimiento general, y sólo se conocen datos aislados acerca de *Hippocrepis comosa* L. (MÜLLER, 1883; PROCUTOR & YEO, 1971), careciendo las demás especies de estudios acerca de su reproducción.

En nuestro caso, y tomando como base las especies anuales europeas, hemos pretendido determinar qué tipos de mecanismos de polinización actúan en estas especies y qué importancia pueden tener en los fenómenos de diferenciación específica. Por otro lado, y mediante la hibridación experimental, hemos tratado de explicar la existencia de individuos intermedios, difíciles de identificar con una u otra especie.

MATERIAL Y METODOS

Se han cultivado 13 muestras pertenecientes a las especies *H. ciliata* Willd., *H. biflora* Sprengel, *H. unisiliquosa* L., *H. multisiliquosa* L. e *H. salzmanni* Boiss. & Reuter. De cada muestra se hizo crecer cinco macetas en invernadero, bajo condiciones de luz y temperatura controlada; el origen de las muestras se señala en el apéndice 1. Cuando las plantas en cultivo florecieron, se realizó en todas las especies un estudio de la secuencia del desarrollo floral que conduce a la antesis. La experiencia se llevó a cabo por medio de disecciones y observación de las flores, que habían sido aclaradas previamente en una mezcla de agua oxigenada y amoníaco en solución, de acuerdo con la técnica de STEBBINS (1938).

Para estudiar la autopolinización y la autocompatibilidad potencial, las flores se encerraron en etapas tempranas de su desarrollo dentro de pequeñas bolsas de gasa. El crecimiento de los tubos polínicos en el estilo se observó tiñendo con azul algodón, de acuerdo con la técnica de DATTA & NAUG (1967).

Paralelamente se llevaron a cabo experimentos de polinización controlada intra e interespecífica. El método empleado consistió en hacer antes de la antesis una incisión en la quilla a todo lo largo de la base para así exponer su estigma; este método se puso a punto paralelamente con otro trabajo de biología experimental del género *Scorpiurus* L. (DOMÍNGUEZ & GALIANO, 1974). Después de polinizadas, las flores se encerraron en bolsas de gasa.

En todas las plantas en cultivo se embolsaron algunas flores sin manipular para que actuaran como testigos, estudiando después su producción de frutos y semillas. Siempre que ha sido posible se han conservado los ejemplares utilizados, que se indican por el número de pliego con que se conservan en el herbario experimental del Departamento de Botánica de la Facultad de Ciencias de Sevilla (SEV).

MORFOLOGIA FLORAL

En la mayoría de las especies, las flores se reúnen en umbela simple con 2-8 flores. Solo *H. unisiliquosa* y *H. biflora* poseen flores solitarias pero, sin embargo, incluso en estas especies se puede distinguir a veces una vaga umbela de 2-3 flores sobre pedúnculos muy cortos. La longitud de las flores oscila entre 3,8-12,2 mm. (Cuadro I).

	Longitud de la flor		Longitud del cáliz	
	\bar{m}	Sm	\bar{m}	Sm
<i>H. salzmanni</i>	12.18	0.5	5.76	0.31
<i>H. multisiliquosa</i>	5.13	0.13	2.82	0.07
<i>H. biflora</i>	5.04	0.2	2.57	0.1
<i>H. unisiliquosa</i>	4.19	0.1	2.15	0.08
<i>H. ciliata</i>	3.82	0.06	1.95	0.04

CUADRO I.—Longitud de la flor y del cáliz en las especies estudiadas de *Hippocrepis* (en mm.).

Cáliz y corola.

La profundidad del cáliz varía de unas especies a otras desde un máximo de 5,76 mm. en *H. salzmanni* a un mínimo de 1,95 mm. en *H. ciliata*, lo que influye en las posibilidades de accesibilidad a los nectarios.

La corola es uniformemente amarilla en todas las especies, con estandarte de limbo anchamente ovado, con base atenuada o truncada según la especie, lo que afecta a la presentación de éste a los vectores de polinización. Una base truncada permite un movimiento en bisagra por parte del estandarte, cosa

que es imposible con una base atenuada, permaneciendo en este caso completamente extendido y no permitiendo, o haciendo muy difícil, el acceso de los polinizadores.

Gineceo y androceo.

El ovario es alargado, y se prolonga por un estilo acodado en ángulo obtuso terminando en un estigma de forma esférica (a excepción de *H. salzmanni*, en que es clavado-bifurcado con la zona receptiva en la parte cóncava). El androceo es diadelfo, estando los filamentos ligeramente dilatados en el extremo, a excepción del estambre libre superior, de tal manera que empujan al polen a través de la quilla, que forma un tubo cerrado.

DESARROLLO FLORAL

El desarrollo floral de las especies estudiadas de *Hippocrepis* puede dividirse en tres etapas.

En la etapa 1 los botones florales se hacen patentes; en la 2 se hace visible la corola entre los dientes del cáliz, y el estilo, rodeado por los estambres, comienza a crecer rápidamente hasta que llega al extremo de la quilla. Al mismo tiempo se produce la dehiscencia de las anteras y el polen queda alrededor de éstas dentro de la cavidad de la quilla. La etapa 3 es variable según la especie. En *H. multisiliquosa* e *H. biflora* el estilo se curva creciendo en sentido contrario, encontrándose con el polen que viene empujado por los filamentos. En *H. unisiliquosa* e *H. ciliata* una vez que el estilo alcanza el extremo de la quilla, detiene su crecimiento, el estigma se curva de tal manera que su polo distal se encuentra mirando hacia el interior de la flor, el polen al subir por la quilla, empujado por el haz de estambres, se pone en contacto con la parte receptiva y se produce la fecundación (Fig. 1, A). En *H. salzmanni* el estilo corre por el tubo de la quilla con la concavidad receptiva del estigma hacia delante, de manera que cuando los estambres con la masa de polen alcanzan su máximo desarrollo, ven impedido su paso por la parte convexa no receptiva del estigma, no efectuándose la polinización hasta que no se produce la visita de un insecto (Fig. 1, B).

La duración total del desarrollo de las tres etapas oscila entre tres y cuatro días.

FECUNDACION

El polen es fértil ya desde el principio de la segunda etapa, al menos está bien formado y tiñe perfectamente con carmín propiónico. Algunas flores, como las de *H. ciliata* e *H. unisiliquosa*, producen muy poca cantidad de polen, mientras que *H. salzmanni* muestra un alto rendimiento en la producción de polen. A excepción de *H. salzmanni*, todas las demás especies estudiadas presentan en la tercera etapa estigmas con tubos polínicos desarrollados.

Resultados de los experimentos de autofecundación.

Los resultados de las experiencias de autogamia se han resumido en el cuadro II.

Taxa y n.º muestra	Flores embolsadas	Frutos producidos	Testigo	Frutos producidos
<i>H. multisiliquosa</i>				
M12	24	21	24	22
M13	38	30	38	35
M14	32	26	32	30
<i>H. ciliata</i>				
M10	20	14	20	15
<i>H. biflora</i>				
M5	4	3	4	4
<i>H. unisiliquosa</i>				
M3	6	3	6	3
<i>H. salzmanni</i>				
M16			20	3
Bolsas pequeñas... ..	72	26		
Bolsas grandes	14	0		

CUADRO II.—Experimentos de autogamia en *Hippocrepis* L.

Si exceptuamos *H. salzmanni*, puede observarse que, tanto en las flores embolsadas como en las testigos, hay una ligera diferencia entre el número de flores y frutos producidos, mayor en los testigos que en las flores embolsadas. Lo atribuimos a dificultades en la polinización y a daños producidos en la manipulación al embolsarlas. En cualquiera de los casos, los frutos pro-

ducidos son totalmente normales, tanto en morfología como en número de semillas producidas. Puede apreciarse también que no hay diferencias notables en los resultados de las cinco especies estudiadas.

Los resultados obtenidos en *H. salzmanni* no concuerdan con los de las demás especies, por ello los hemos indicado separadamente en el cuadro II. Puede apreciarse que, en los testigos, la proporción de frutos producidos por autogamia es muy baja, solo el 15 %. Por otro lado, las flores embolsadas produjeron en los primeros experimentos de autogamia una proporción de frutos relativamente alta, aunque el número de semillas fue relativamente bajo. Sin embargo, al cambiar el tamaño de las bolsas a otras mayores el número de frutos producidos descendía a cero. La respuesta a esto es que en las bolsas pequeñas al crecer las flores se aprisionaban contra las paredes de la gasa, lo que hacía que de alguna manera el polen llegara a los estigmas. Por tanto, no podemos eliminar la autogamia espontánea en las poblaciones naturales de esta especie, ya que el viento, la lluvia o cualquier factor mecánico pueden ayudar a que se realice; sin embargo, su influencia en el conjunto de la población debe ser muy baja.

A la vista de estos resultados, simulamos la visita de los insectos presionando ligeramente con los dedos sobre la quilla; el resultado es que la presión del estilo la rompe por el extremo, saliendo al exterior parte del polen y el estigma; al cesar la acción, el estigma vuelve a su antigua posición, poniéndose en contacto con el polen que llena la abertura de la quilla; el resultado fue que de 70 flores así tratadas, 59 produjeron frutos con un total de 290 semillas. Aunque *H. salzmanni* es genéticamente autocompatible, sus flores necesitan de un agente externo para disparar el mecanismo de autopolinización.

HIBRIDACION EXPERIMENTAL

Los resultados obtenidos se expresan en el cuadro III, en él se indican las muestras utilizadas para cada especie. Los cruzamientos marcados (a) fueron testigos a los que se les extrajo el estigma a través de la abertura practicada en la quilla y se les dejó en el exterior sin polinizar.

Podemos resumir los resultados de la siguiente manera:

a) Parental femenino *H. ciliata*. Cruzamientos intra e interespecíficos positivos; de los interespecíficos sólo los que tenían como parental masculino a *H. unisiliquosa* produjeron semillas viables.

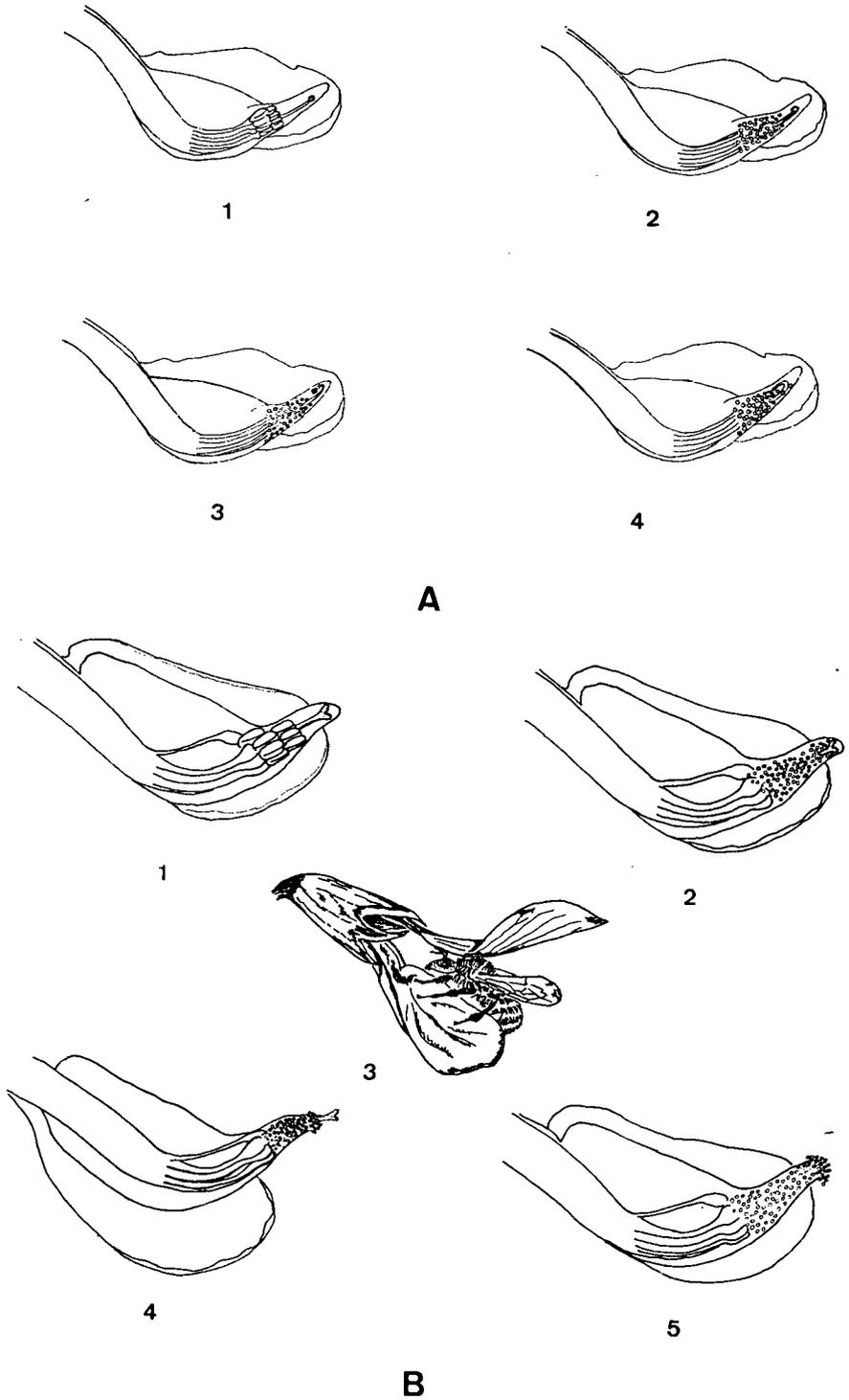


Fig. 1.—Sistemas de polinización en el género *Hippocrepis*. A (1-4): Distintas fases de la polinización precoz (flores cleistógamas). B (1-5): Autopolinización en *H. saizmanni*.

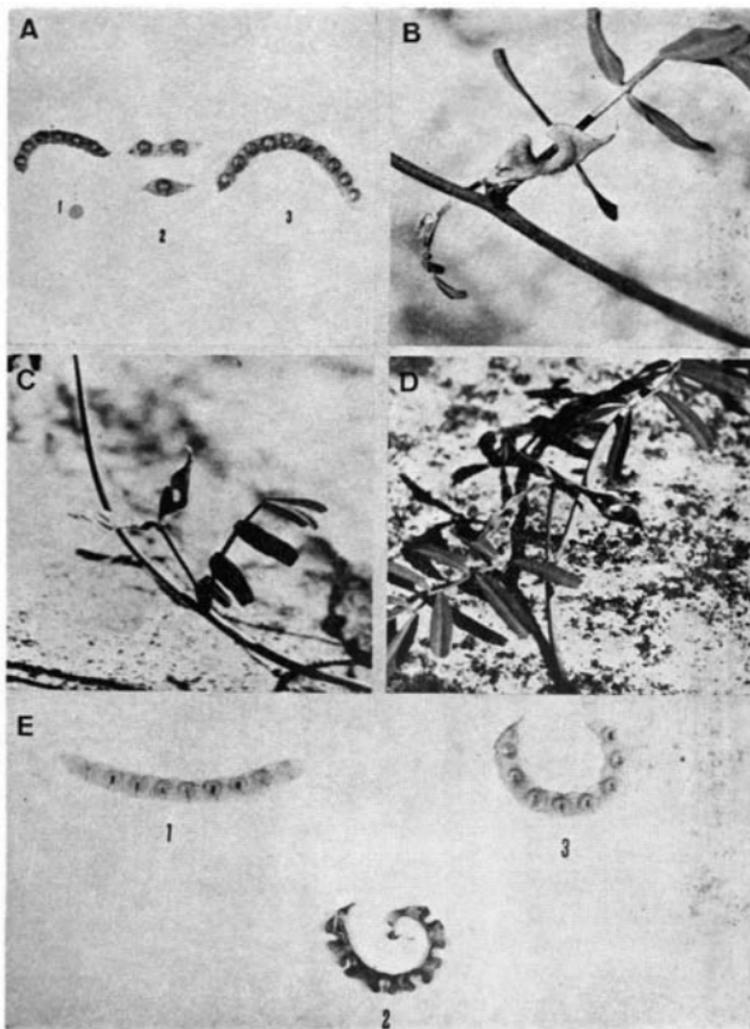


Fig. 2.—Hibridación experimental. A: Cruzamiento *H. ciliata* x *H. unisiliquosa* (M10 x M2), (1) parental femenino, (2) híbrido, (3) parental masculino. B-D: *H. ciliata* x *H. unisiliquosa* (M10 x M2), (B) fruto solitario sesil, (C) inflorescencia con dos frutos cortamente pedunculada, (D) inflorescencia con tres frutos cortamente pedunculada. E: Cruzamiento *H. multisiliquosa* x *H. multisiliquosa* (M13 x M12), (1) parental femenino, (2) híbrido, (3) parental masculino.

b) Parental femenino *H. multisiliquosa*. Cruzamientos intraespecíficos positivos. Interespecíficos, a excepción de los que tuvieron a *H. salzmanni* como parental masculino, produjeron frutos con semillas no viables.

Especie y n.º de muestra	flores tratadas	frutos maduros	semillas viables	n.º semillas sembradas	n.º plantas adultas
<i>H. ciliata</i> (M10)					
a.	8	1	4	—	—
b. (autopolinización)	4	2	6	6	3
c.					
x <i>H. biflora</i> (M5)	4	0	0	—	—
x <i>H. unisiliquosa</i> (M2)	9	4	11	4	4
<i>H. multisiliquosa</i> (M11)					
a.	9	2	6	—	—
b.	4	4	20	—	—
(autopolinización)	13	9	30	5	5
(M12) x <i>H. multisiliquosa</i> (M13)	2	2	5	4	4
c.					
(M11) x <i>H. unisiliquosa</i> (M1)	18	0	0	—	—
x <i>H. unisiliquosa</i> (M2)	2	0	0	—	—
x <i>H. biflora</i> (M5)	11	0	0	—	—
x <i>H. salzmanni</i> (M16)	7	0	0	—	—
(M13) x <i>H. biflora</i> (M5)	2	1	1	1	0
(M14) x <i>H. biflora</i> (M5)	3	0	0	—	—
x <i>H. unisiliquosa</i> (M2)	1	0	0	—	—
<i>H. unisiliquosa</i> (M2)					
b.					
x <i>H. unisiliquosa</i> (M17)	2	0	0	—	—
c.					
x <i>H. multisiliquosa</i> (M12)	6	0	0	—	—
x <i>H. multisiliquosa</i> (M10)	1	0	0	—	—
<i>H. salzmanni</i> (M16)					
b.	3	0	0	—	—
(autopolinización)	3	0	0	—	—
c.					
x <i>H. ciliata</i> (M10)	2	2	6	6	3
x <i>H. multisiliquosa</i> (M12)	3	1	1	1	1
x <i>H. biflora</i> (M5)	2	0	0	—	—
x <i>H. unisiliquosa</i> (M3)	2	0	0	—	—

CUADRO III.—Resultados de la polinización experimental.

a. Estigma extraído y no polinizado; b. Polinización intraespecífica; c. Polinización interespecífica.

*) Estudiando directamente en el campo poblaciones de distintas especies de *Hippocrepis*, hemos podido comprobar que a excepción de *H. salzmanni*, en ninguna de las otras se produjo la visita de insectos polinizadores.

c) Parental femenino *H. unisiliquosa*. No se hicieron cruzamientos intraespecíficos, los interespecíficos nunca produjeron semillas viables.

d) Parental femenino *H. salzmanni*. Todos fueron negativos, incluso aquellos que tuvieron como parental masculino a *H. salzmanni*, en un solo caso se obtuvo un fruto, pero resultado de contaminación por polen del parental femenino. La posible explicación a esto es que en esta especie la dehiscencia de las anteras se produce muy pronto y hay que realizar la incisión en la quilla muy tempranamente; esto, unido a que se mostraron mucho más sensibles que las demás a la manipulación, llevaba irremisiblemente a una necrosis de la flor y rápidamente a su caída.

Análisis de híbridos artificiales.

Las semillas obtenidas a partir de plantas polinizadas artificialmente se sembraron, estudiándose las plantas adultas que llegaron a la madurez y cuyo número se expresa en el cuadro III.

1) M 10 x M 2 (SEV 13499) (Fig. 2, A-D). *H. ciliata* x *H. unisiliquosa*. Mientras que el parental femenino posee 2-4 flores sobre pedúnculos que igualan o superan a la hoja y en el masculino flores solitarias sesiles, en el híbrido una misma planta puede tener flores solitarias sesiles o inflorescencias de 2-3 flores sobre pedúnculos menores que la hoja. Los frutos del híbrido presentan solo 1-2 semillas, por lo que su morfología se ve muy alterada. Es posible que esta reducción en la producción de semillas se deba a que presenten solamente el 39 % de polen fértil.

2) M 13 x M 12 (SEV 13502) (Fig. 2, E). *H. multisiliquosa* x *H. multisiliquosa*. Aunque el cruzamiento fue intraespecífico, los parentales pertenecían a dos formas distintas, el femenino de frutos casi rectos con senos de los artejos casi glabros y el masculino con frutos casi en círculo con senos de los artejos ciliados. El híbrido presentó frutos semicirculares con menos semillas fértiles que los parentales y senos de los artejos ligeramente ciliados. Se observa una ligera disminución en la fertilidad del polen: 94 %.

3) M 11 x M 11 (SEV 13502). *H. multisiliquosa* x *H. multisiliquosa*. La variabilidad de sus caracteres morfológicos entra dentro de lo normal en la especie. La fertilidad del polen está ligeramente reducida: 97 %.

DISCUSION

Sistemas de cruzamiento en la especies anuales de Hippocrepis.

La presentación del polen en las especies anuales de *Hippocrepis* puede referirse a uno de los mecanismos clásicos de Papilionáceas llamado «mecanismo de émbolo», que fue descrito en *Lotus corniculatus* por DELPINO (1868) y ha sido posteriormente citado en algunas otras especies, tales como *Anthyllis vulneraria*, *Coronilla varia*, *Coronilla emerus* e *Hippocrepis comosa* (MÜLLER, 1883; FAEGRI & PIJL, 1971). En esencia, este mecanismo consiste en que el polen es forzado a subir por el tubo que forma la quilla como consecuencia de la relativa flexibilidad de los pétalos, que son forzados a descender por la rigidez del conjunto formado por los filamentos de los estambres y el ovario. Esta presión de los pétalos puede ser causada por el peso de un insecto que aterrice en la quilla; de esta manera, el polen puede ser totalmente expelido en sucesivas visitas a la flor.

Este mecanismo tan elaborado ha evolucionado posiblemente para promover la polinización cruzada, pero puesto que existe la posibilidad de que durante la acción del émbolo se produzca una contaminación por polen propio, el sistema sólo puede favorecer la alogamia total cuando se realice en una especie que también posea un mecanismo de incompatibilidad genico-fisiológica (estigma-polen/estilo), como ocurre en el género *Trifolium*. Cuando tal sistema de incompatibilidad no exista, la liberación del polen dentro del tubo de la quilla puede favorecer la evolución a la autogamia, puesto que ésta es parte esencial del mecanismo de émbolo.

Las seis especies de *Hippocrepis* que se citan en este estudio muestran los dos extremos de dicha evolución a taxones progresivamente autofecundables. En un extremo, *H. salzmanni*, la cual parece retener el sistema original de polinización cruzada. Aunque esta especie ha mostrado ser genéticamente autocompatible y también fácilmente capaz de autopolinización, nuestros experimentos sugieren que no es automáticamente autopolinizada y que un insecto visitante es necesario para hacer funcionar el mecanismo de polinización. Un insecto, en cualquiera de sus visitas, puede llegar llevando polen de otras flores de la misma población previamente visitadas; en este caso, la polinización cruzada puede tener lugar con la misma facilidad que la autopolinización. Así, lo que parece más probable es que el sistema de cruzamiento de *H. salzmanni* es una mezcla de autopolinización y polinización cruzada.

En el otro extremo, las especies *H. biflora*, *H. ciliata*, *H. multisiliquosa* e *H. unisiliquosa* son taxones predominantemente autofecundables puesto que

nuestras observaciones y experiencias muestran que son efectivamente cleistógamas (*).

Algunos autores (BAKER, 1965; GIEBS & al., 1975) han señalado que en los géneros *Eupatorium*, *Ageratum* y *Oxalis*, y en *Senecio*, *Bromus*, *Poa* y *Spergularia*, cuando una especie evoluciona hacia una autofecundación regular, los otros componentes del sistema de cruzamiento, como son el tamaño de las flores, cantidad y tamaño del polen, olor (**) o atractivo del agente polinizador (y también frecuencia de quiasmas), están también coadaptados.

Las especies anuales de *Hippocrepis* concuerdan bien con esta generalización. Así, *H. salzmanni*, potencialmente de polinización cruzada, tiene flores llamativas, grandes, y polen en gran cantidad y de mayor tamaño que en las demás especies, mientras que los taxones cleistógamos tienen flores muy pequeñas y producen poco polen y de pequeño tamaño (Cuadro IV).

	Longitud		Anchura		P./E.100	
	\bar{m}	Sx	\bar{m}	Sx	\bar{m}	Sx
<i>H. salzmanni</i> ...	23.4	0.25	20.8	0.35	112	1.0
<i>H. biflora</i> ...	23.2	0.65	19.4	1.60	119.20	9.55
<i>H. unisiliquosa</i> ...	22.7	0.70	19.2	0.92	118.66	4.76
<i>H. multisiliquosa</i> ...	19.4	1.27	17.5	1.39	111.9	4.8
<i>H. ciliata</i> ...	16.5	0.92	16.7	0.82	98.92	7.31

CUADRO IV.—Tamaño del polen y P/E.100 de las distintas especies estudiadas de *Hippocrepis* (en micras).

También, y como era lógico esperar, en los taxones regularmente autofecundables parece no haber diferencias en el tamaño y viabilidad entre los descendientes de las plantas cruzadas experimentalmente o autopolinizadas. Es interesante señalar que no existen diferencias apreciables en las plantas resultantes de autopolinización o de polinización cruzada, lo cual sugiere que en

(*) El término «cleistógamo» se utiliza en este trabajo con ciertas reservas. El último trabajo en el que se trata con amplitud dicho término es el de UPHOF (1938); el cuadro que nos presenta dicho autor es que por lo general las flores cleistógamas son especializadas, reducidas, a menudo subterráneas, raramente llegan a la antesis, y en la mayoría de los casos se producen cuando las condiciones del medio son adversas. Como ejemplo de flores cleistógamas en Papilionaceas cita *Ononis alopecuroides*, el cual produce flores cleistógamas en otoño y flores sexuales en verano, pero sin diferencias entre ellas en tamaño y morfología, y *Ononis columnae* con flores cleistógamas reducidas y especializadas. Por tanto pensamos que las flores de las especies estudiadas de *Hippocrepis* sufren una autopolinización precoz pero que no pueden ser, en sentido estricto, consideradas como cleistógamas.

(**) Efectivamente, mientras que *H. salzmanni* exhala un fuerte olor a mediodía, las otras cinco especies son prácticamente inodoras.

polinizaciones naturales debe ocurrir suficiente autofecundación para evitar los efectos de la heterosis o de la depresión homocigótica.

Polinización interespecífica.

En la mayoría de los cruzamientos interespecíficos que se llevaron a cabo se obtuvieron óvulos fecundados e incluso cierto desarrollo de la legumbre; sin embargo, en casi todos los casos los frutos morían antes de alcanzar la madurez o, si llegaban al máximo de su desarrollo, contenían semillas inviables. El número de cruces realizados fue limitado, por lo cual no es posible llegar a conclusiones seguras, pero los resultados obtenidos sugieren que en estas especies anuales de *Hippocrepis* existe un mecanismo de aislamiento genético con barreras a la hibridación interespecíficas posteriores a la fecundación, posiblemente de tipo postzigótico.

El cruzamiento *H. ciliata* x *H. unisiliquosa* es una excepción. De nueve cruzamientos se obtuvieron cuatro legumbres maduras con semillas viables, las cuales produjeron posteriormente plantas híbridas. Esta interfertilidad nos hace pensar en que las relaciones de parentesco son mayores entre estos dos taxones que entre las restantes especies.

Las especies anuales de *Hippocrepis* que se han estudiado son autocompatibles y, con la excepción de *H. salzmanni*, aparentemente autógamas debido a autopolinización precoz; este hecho, junto con la falta de éxito obtenido en la mayoría de las polinizaciones interespecíficas, sugiere que la hibridación interespecífica no parece complicar la taxonomía del grupo y que los principales factores que contribuyen a los problemas clasificatorios de estas especies deben ser las adaptaciones locales y quizás la fijación genética.

APENDICE

Muestras citadas en el texto con indicación del nombre del taxon, localidad, fecha de recolección y recolectores.

- H. unisiliquosa* L.: M1, Instituto Botánico de Montpellier (Francia); M2, North of Negev (Israel), Jardín Botánico de Jerusalén; M3, Jerusalem (Israel), 26.V.1966, Jardín Botánico de Jerusalén; M4, Sürt (Turquía), 17.V.1966, *Davis*.
- H. biflora* Sprengel: M5, M18, Lisboa (Portugal), 20.VIII.1971, Jardín Botánico de Coimbra; M6, Entre Osuna y El Saucejo (Sevilla), 8.IV.1973, *Domínguez & al.*; M7, Alrededores de Ecija (Sevilla), 27.V.1973, *Domínguez*.
- H. ciliata* Willd.: M8, Sète, Montpellier (Francia), 16.VI.1972, *Danin*; M9, Alrededores de Ecija (Sevilla), 27.V.1973, *Domínguez*; M10, Tabernas (Almería), 20.V.1971, *Domínguez & al.*

- H. multisiliquosa* L.: M11, Puerto de Santa María (Cádiz), 5.VIII.1971, *Domínguez & Talavera*; M12, Camino de Torrox (Málaga), 21.V.1971, *Cabezudo & Talavera*; M13, Jerez de la Frontera (Cádiz), 5.VII.1971, *Domínguez & Talavera*; M14, Nerja (Málaga), 21.V.1971, *Domínguez & al.*; M15, San Fernando (Cádiz), 24.XI.1973, *Domínguez & al.*
- H. salzmanni* Boiss. & Reuter: Puerto de Santa María (Cádiz), 3.IX.1971, *Silvestre & Talavera*.

BIBLIOGRAFIA

- BAKER, H. G. (1965) Characteristics and modes of origin of weeds. In *The Genetics of Colonizing species*. G. L. Stebbins & H. G. Baker (Ed.). New York & London.
- DATTA, P. C. & A. NAUG (1967) Staining pollen tubes in the style, cotton blue versus carmine for general use. *Stain Techn.* 42: (2): 81-85.
- DELPINO, F. (1868) Ulteriori osservazioni e considerazioni sulla dicogamia nel regno vegetale. *Atti Soc. Ital. Sci. Nat.* 11: 265-332.
- DOMÍNGUEZ, E. & E. F. GALIANO (1974) Revisión del género *Scorpiurus* L. I Parte experimental. *Lagascalía* 4: 61-84.
- FAEGRI, K. & L. VAN DER PIJL (1971) *The Principles of Pollination Ecology*. Oxford.
- GIBBS, P. E., C. MILNE & M. VARGAS CARRILLO (1975) Correlations between the breeding system and recombination index in five species of *Senecio*. *New Phytol.* (en prensa).
- MÜLLER, H. (1883) *The Fertilisation of Flowers*. London.
- PROCTOR, M. & P. YEO (1973) *The Pollination of Flowers*. London.
- STEBBINS, G. L. (1938) A simple method for clearing flowers. *Science* 87 (2245): 21-22.
- UHROVA, A. H. (1950) Generis *Hippocrepis* L. revisio. *Acta Acad. Sci. Nat. Mor.-Sil.* 22(4): 99-158.
- UPHOF, J. C. (1938) Cleistogamic flowers. *Bot. Rev.* 4: 21-50.