

REVISION DEL GENERO SCORPIURUS L.  
I. PARTE EXPERIMENTAL

E. DOMÍNGUEZ & E. F. GALIANO

Departamento de Botánica, Facultad de Ciencias, Sevilla

(Recibido el 20 de mayo de 1974)

**Resumen.** En este trabajo se estudian algunos aspectos de la biología del género *Scorpiurus*. Se han determinado los números cromosómicos y cariotipos de todas las especies, estableciéndose  $2n = 14$  para *S. vermiculatus* L. y  $2n = 28$  para *S. muricatus* L., *S. sulcatus* L. y *S. subvillosus* L. Se ha comprobado que la fecundación se produce mediante autogamia que se lleva a cabo en fases muy tempranas del desarrollo de la flor, impidiendo la posibilidad de cruzamientos espontáneos; se han realizado algunas hibridaciones intraespecíficas con resultado positivo y sólo en un caso se ha obtenido un híbrido interespecífico. Al estudiar los granos de polen se ha comprobado que no existe diferencia en tamaño o forma que permitan separar los taxones del género. Se ha analizado la composición de los pigmentos florales comprobando que *S. vermiculatus* L. puede separarse de las demás especies por la ausencia de un pigmento derivado probablemente de la apigenina.

**Summary.** This study treats with a number of aspects of the biology of the genus *Scorpiurus*. The chromosome numbers of all species have been determined as follows: *S. vermiculatus* L. with  $2n = 14$ ; *S. muricatus* L., *S. sulcatus* L. and *S. subvillosus* L. with  $2n = 28$ . All species are autogamous and self-pollination occurs during early stages in the development of the flower bud so that possibilities for cross-fertilisation are much reduced. A number of successful intra-specific crosses have been performed, but only one inter-specific hybrid has been obtained. It has been shown that no differences exist in the size and form of the pollen grains which would aid in the separation of the taxa in the genus. Floral pigments have been analysed and *S. vermiculatus* is distinct from the remaining species in the absence of a pigment, probably derived from Apigenina.

El género *Scorpiurus* es de distribución mediterránea, y cuando alguna de sus especies se encuentra en enclaves situados fuera de esta gran región, éstos presentan un clima muy afín al de su área típica.

Existen dos zonas muy ricas en formas de *Scorpiurus*: la mitad sur de

la Península Ibérica y norte de Africa con 6 taxones, y Palestina con 4. Si admitimos que *S. vermiculatus* es la más primitiva del género, el centro primario de evolución debió existir en la península, probablemente antes de la apertura del Estrecho de Gibraltar; a partir de esta zona, en la época húmeda pre-glaciaria, debió ocupar una amplia área alrededor del Mediterráneo y más tarde, durante el enfriamiento progresivo de Europa, es posible que el área se dividiera en dos, una ocupando el sur de España y norte de Africa y otra Palestina. Las especies allí confinadas vivieron un largo período de aislamiento; así pudieron originarse, en la región occidental, *S. sulcatus* y *S. muricatus*, y en la oriental, *S. subvillosus*. Después, cuando el clima templado y húmedo invadió nuevamente Europa unos 6.000 años a. J. C. (QUEZEL, 1958), estas especies se extendieron por la cuenca mediterránea: *S. subvillosus* hacia el NO, rodeándolo, y las demás especies hacia el SE por el norte de Africa. Actualmente es posible que, debido al proceso de desertización a que está sometida la cuenca sur de este mar, se estén originando muchas formas con categoría infraespecífica, de tipo endémico.

## CARIOLOGIA

El primer recuento cromosómico del género fue realizado por SENN (1938), indicando  $2n = 14$  para *S. vermiculatus* y  $2n = 14, 28$  para *S. sulcatus*. En esta última especie el número  $2n = 14$  resulta un poco sorprendente y quizás pueda tratarse de una confusión con *S. vermiculatus* var. *purpureus*. COUTINHO & RIBEIRO (1945) publicaron el primer trabajo completo acerca de la cariólogía del género; sin embargo, en él no se explican las delimitaciones taxonómicas de las especies utilizadas. Como los autores portugueses suelen tratar el género (a excepción de *S. vermiculatus*) como una macroespecie compleja, no se pueden hacer apreciaciones sobre las características cariológicas particulares de cada una de las especies. Más tarde, HEYNN & RAVIV (1966) indicaron para *S. subvillosus*  $2n = 28$ .

### *Material y métodos.*

Hemos utilizado meristemos apicales de raíces de plantas cultivadas en maceta, procedentes de frutos, unos de origen silvestre y otros cultivados (de semillas de diverso origen). Para ello se hicieron germinar semillas (previamente escarificadas mecánicamente) en placas Petri, trasplantando luego las plántulas a macetas en invernaderos.

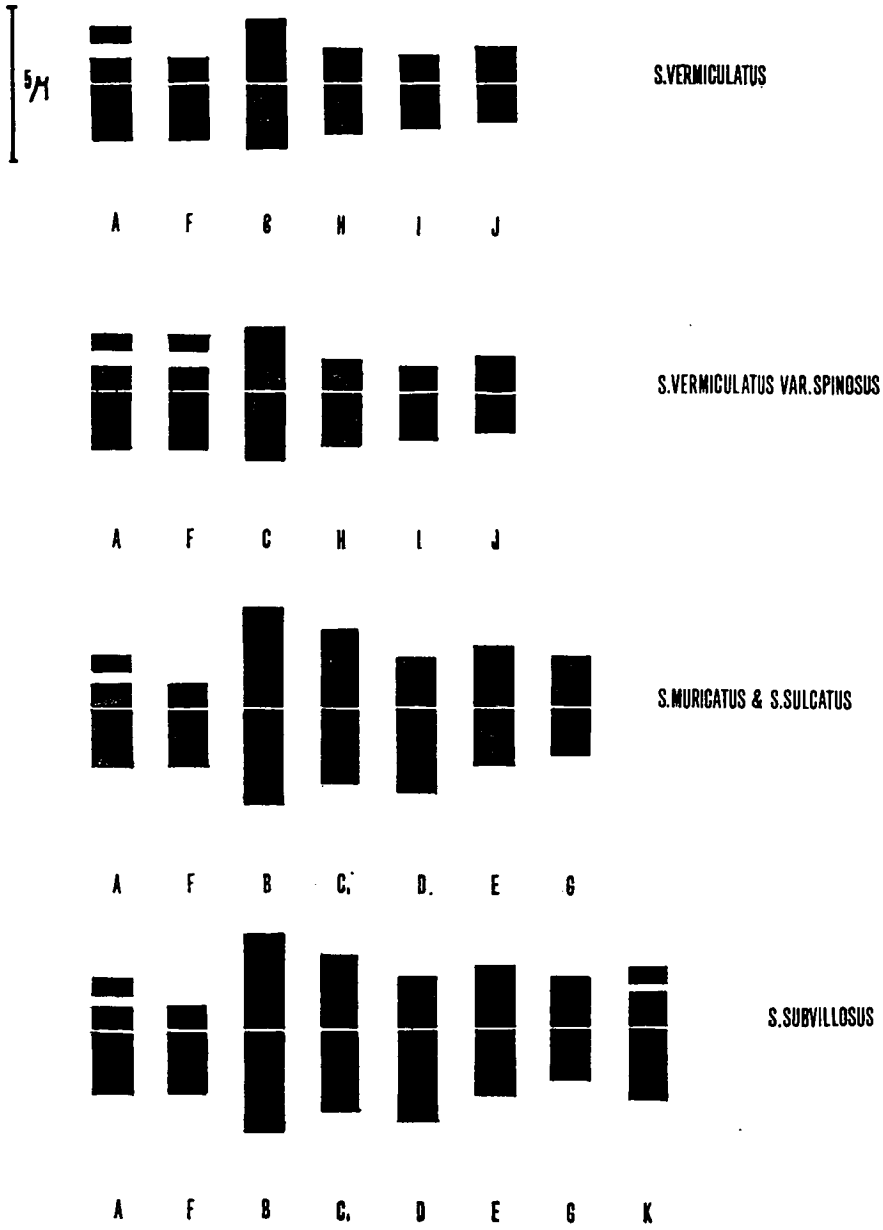


fig.1

Siempre que ha sido posible se han conservado los ejemplares utilizados en los estudios cariológicos, y se hará referencia a ellos con el número de la muestra e indicando el pliego a que corresponde conservado en el Herbario Experimental del Departamento de Botánica de la Universidad de Sevilla (SEV) (véase apéndice). Para cada especie se indican los siguientes datos: número cromosómico y morfología, número de muestra y, cuando exista, pliego de la planta estudiada.

Las raíces se extrajeron de las macetas a diferentes horas, no observándose diferencias sensibles en cuanto a la proporción de células mitóticas a lo largo del día. Se utilizó paradiclorobenceno como antimitótico, durante tres horas a una temperatura de 0-3° C; una vez terminado este proceso se conservaron las muestras en Carnoy hasta el momento de la tinción, para lo cual se utilizó el método de SNOW (1963) modificado.

#### *Representación gráfica y nomenclatura.*

Los dibujos de los cariotipos se han realizado con una cámara lúcida Leitz (ocular 6 x y aumentados 4 x por medio de una reproducción fotográfica).

En la nomenclatura hemos seguido a STEBBINS (1938, 1971); atendiendo al tamaño dividimos los cromosomas en cuatro tipos: Pequeños (menores que 2  $\mu$ ); Medios (2-5  $\mu$ ); Medianos (5-9  $\mu$ ); Grandes (mayores que 9  $\mu$ ). Atendiendo a la morfología: Metacéntricos, Submetacéntricos y Acrocéntricos.

#### *Resultados de los recuentos.*

*S. vermiculatus* L. var. *vermiculatus*  $2n = 14$  (figs. 1 & 2).

*Material:* M1 (SEV 13424), M2 (SEV 13422), M3 (SEV 13423), M4 (SEV 13420), M5 (SEV 13421), M6 (SEV 13425), M7 (SEV 13426), M8 (SEV 13428).

*Cariotipo:* 3 pares medios-metacéntricos (2C, I); 2 pares medios-submetacéntricos (H, I); 2 pares medios-acrocéntricos (1 satelizado) (A, F).

*S. vermiculatus* L. var. *spinosus*  $2n = 14$  (figs. 1 & 2).

*Material:* M9 (SEV 13428).

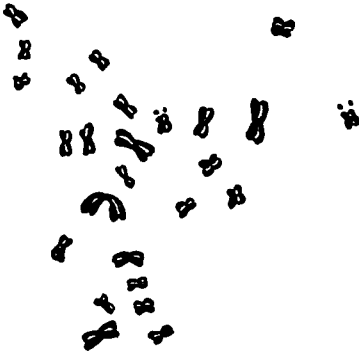
*Cariotipo:* 3 pares medios-metacéntricos (2C, J); 2 pares medios-submetacéntricos (H, I); 2 pares satelizados medios-acrocéntricos (A, F).



S. MURICATUS



S. VERMICULATUS



S. SULCATUS



S. SUBVILLOSUS

fig.2

*S. muricatus* L. (incl. var. *margaritae*)  $2n = 28$  (figs. 1 & 2).

*Material:* M11 (SEV 13443), M12 (SEV 13449), M13 (SEV 13450), M14 (SEV 13448), M15 (SEV 13445), M16 (SEV 13444), M17 (SEV 13447), M18 (SEV 13442), M19 (SEV 13441).

*Cariotipo:* 1 par mediano-metacéntrico (B); 8 pares medios-metacéntricos (2C<sub>1</sub>, 3E, 3G); 2 pares medios-submetacéntricos (D); 3 pares medios-acrocéntricos (1 satelizado) (A, 2F).

*S. sulcatus* L.  $2n = 28$  (figs. 1 & 2).

*Material:* M21 (SEV 13435), M22 (SEV 13434), M23 (SEV 13483), M24 (SEV 13430), M25 (SEV 13431), M26 (SEV 13432), M27 (SEV 13429), M28 (SEV 13436), M29 (SEV 13437), M30 (SEV 13438).

*Cariotipo:* Igual a *S. muricatus* L.

*S. subvillosus* L. (incl. var. *laevigatus*)  $2n = 28$  (figs. 1 & 2).

*Material:* M32 (SEV 13452), M33 (SEV 13451), M34, M35 (SEV 13453), M36 (SEV 13456), M37 (SEV 13455), M38 (SEV 13454), M39 (SEV 13457), M40 (SEV 13491).

*Cariotipo:* 1 par mediano-metacéntrico (B); 7 pares medios-metacéntricos (C<sub>1</sub>, 3E, 3G); 2 pares medios-submetacéntricos (D); 4 pares medios-acrocéntricos (2 satelizados) (A, 2F, K).

### Discusión.

Dentro de *Scorpiurus* existen claramente delimitados dos grupos, uno de una sola especie, con  $2n = 14$ , y otro conjunto con  $2n = 28$ , posiblemente derivado del anterior.

Es interesante hacer notar la aparición de un par más de cromosomas satelizados en *S. vermiculatus* var. *spinus*. Algunos autores (STEBBINS, 1950) conceden a la formación de cromosomas satelizados un valor adaptativo, y es posible que en este caso se trate de ello, efectivamente. El cariotipo de esta especie coincide bastante con el expresado por COUTINHO & RIBEIRO (1945); la única discrepancia consiste en que estos autores citan 2 metacéntricos, y 3 submetacéntricos, y nosotros 3 metacéntricos y 2 submetacéntricos.

Coincidimos con HEYNN al reconocer en *S. subvillosus* 2 pares satelizados, y en *S. sulcatus* y *S. muricatus* solamente 1; aparte de esto podemos decir

que los cariotipos de las tres especies son prácticamente idénticos. Algunos autores han expresado la hipótesis (que compartimos), de que *S. muricatus*, *S. sulcatus* y *S. subvillosus* son poliploides de *S. vermiculatus*.

## BIOLOGIA DE LA REPRODUCCION Y FORMACION DE HIBRIDOS

En este trabajo hemos pretendido estudiar, por una parte, qué tipos de sistemas y vectores actúan en la reproducción de *Scorpiurus* y qué mecanismos, si los hay, motivan el aislamiento de las especies. Por otra, demostrar, mediante hibridación artificial, el origen híbrido o no de ciertas formas intermedias, y comprobar las posibles relaciones de parentesco entre las distintas especies que nos den una idea más clara de qué vía ha seguido la evolución para la formación de las especies, ya que las compatibilidades interespecíficas constituyen un valioso indicio para tratar de establecer sus posibles relaciones evolutivas.

### *Material y métodos.*

Se han utilizado 11 muestras pertenecientes a 9 taxones distintos de las 4 especies; cada muestra estaba repartida en 8 macetas bajo condiciones de luz controladas (estimulando así su crecimiento y adelantando la época de floración) en invernadero. 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).

Para el estudio de la Biología de la Reproducción se tuvieron en cuenta los siguientes puntos:

1. Desarrollo de los órganos reproductores y cronología floral. Para ello se aclararon las flores y se estudiaron directamente al microscopio por el método de STEBBINS (1938).
2. Estudio del polen en las distintas etapas de crecimiento.
3. Recolección de estigmas y estudio de posibles tubos polínicos formados en él, utilizando para la tinción el método de DATTA & NAUG (1967).
4. Comparación de la cronología del desarrollo floral con otros caracteres vegetativos.
5. Estudio de la autogamia en las muestras; para ello se cubrieron

cierto número de inflorescencias con bolsas de gasa y al mismo tiempo se marcaron como controles otras que no se cubrieron, para comparar los resultados.

6. Observación de algunas poblaciones naturales en el campo, estudiándose la visita de insectos.

Los experimentos de hibridación se llevaron a cabo de la siguiente manera:

Durante una primera etapa se valoraron distintos sistemas de castración. En primer lugar se abrieron las flores y se extirparon las anteras antes de la antesis; como ésta es muy precoz, la manipulación tenía que tener lugar en etapas muy juveniles del desarrollo de las flores, debido a lo cual éstas morían al poco tiempo. Tratamos de emplear otro método que consistía en inyectar a través de la quilla una pequeña cantidad de parafina líquida; uno de los problemas con que nos encontramos era la determinación de la cantidad de líquido a inyectar, ya que cuando se inyectaba mucha cantidad la flor moría; otro problema era que, al contaminar la parafina los estigmas, los tubos polínicos no se producían. Llegamos a la conclusión de que cualquier manipulación excesiva en las flores acarrea la muerte por necrosis de los tejidos.

Por fin encontramos un método que nos permitió obtener flores femininas con un índice de mortalidad muy bajo; a continuación hacemos la descripción del método:

1.º Por medio de un alfiler de entomología y bajo un binocular se produce una incisión a todo lo largo de la parte baja de la quilla.

2.º Con el mismo alfiler se saca el estilo totalmente, procurando no romper las anteras ni los estambres, y se dobla aprovechando su natural curvatura, de tal manera que quede lo más alejado posible de las zonas de donde se escape polen.

3.º Se deja el estilo fuera durante 24 horas (aproximadamente hasta que se produce la antesis dentro de la flor) y al cabo de este tiempo se poliniza con polen del parental masculino y se coloca en el pedúnculo de la inflorescencia una etiqueta con los datos pertinentes.

Tras algunas pruebas se comprobó que la incisión se debía hacer un día antes de que la corola fuera totalmente visible en el botón floral (aproximadamente 4 días después de la aparición del botón floral).

Las flores así manipuladas no necesitan cubrirse con bolsas, ya que se comprobó la inexistencia de vectores de polinización dentro de los inverna-



deros, así como la no fecundación ni cruzamiento de las flores manipuladas utilizadas como control (ver resultados).

Los híbridos artificiales obtenidos se estudiaron, tanto desde el punto de vista cariológico como del de la fertilidad del polen. También se hizo un estudio comparativo de los principales caracteres diferenciales de los híbridos con los de los parentales.

En la hibridación intraespecífica se procuró utilizar como parentales taxones con características fáciles de diferenciar, como, por ejemplo, cruzamientos de individuos con frutos espinosos por inermes. También se realizaron cruzamientos entre flores de la misma planta y entre plantas de la misma población.

Partiendo de una primera etapa en que se hacen visibles los botones florales pasamos a una segunda, donde comienzan a desarrollarse los pétalos y el estilo crece siguiendo la curvatura de la quilla, más deprisa que los estambres, en los cuales el primer verticilo se despega del segundo; en una tercera, la corola se hace visible en  $2/3$  de su longitud, el estilo detiene su crecimiento, se produce la antesis y el polen es empujado hacia arriba por los apéndices dilatados de los filamentos siguiendo el tubo de la quilla; en una cuarta, el polen llega al estigma, se produce la polinización, todas las piezas de la corola se hacen visibles y comienza el desarrollo del fruto; en la quinta, el fruto joven arranca la quilla y se desarrolla totalmente.

La duración total del desarrollo del fruto oscila, en condiciones normales, entre 20 y 45 días, y la flor tiene una duración de unos 12-14 días.

Se encontraron tubos polínicos formados a partir del principio de la tercera etapa; algunos de ellos penetraban hasta los primordios seminales. No se han observado tubos polínicos fuera de la zona estilar. En las poblaciones cultivadas de origen palestino de *S. subvillosus*, se detectan uno o dos días antes que en las demás especies del género.

Se comprobó que en la mayoría de las especies el crecimiento de los pedúnculos era más lento, o incluso se detenía, en el momento de producirse la fecundación; así ocurre en *S. subvillosus* procedente de Palestina, en que la fecundación se produce antes que en la misma especie procedente de Europa, teniendo siempre aquélla los pedúnculos más cortos que ésta.

Por los resultados numéricos que se dan en el cuadro I puede observarse que no hay diferencias notables entre las flores embolsadas y las testigo; asimismo, tampoco hay diferencias entre las distintas especies. Los frutos producidos en todos los casos son perfectamente normales, con un número de semillas que entra dentro del radio de variabilidad del género.

<i>Taxa y n.º muestra</i>	<i>flores sopionpoad</i>	<i>frutos embolsadas</i>	<i>testigo</i>	<i>frutos producidos</i>
<i>S. vermiculatus</i> , M.8	15	14	15	15
<i>S. muricatus</i> , M.20	20	18	20	16
<i>S. subvillosus</i> , M.35	17	13	17	12
<i>S. sulcatus</i> , M.28	25	25	25	23
Totales	77	70	77	66

CUADRO I.—Experimentos de autogamia en *Scorpiurus* L.

Estudiamos directamente en el campo poblaciones de *S. vermiculatus*, *S. muricatus* (ambas variedades) y *S. sulcatus* y en el jardín macetas de *S. subvillosus* detectando sólo ocasionalmente visitas de insectos a las flores.

Los resultados obtenidos de las hibridaciones artificiales se han resumido en el cuadro II, en el que se indican las muestras utilizadas para cada especie. El ejemplar que actúa como progenitor femenino se ha colocado primero.

Las diferencias entre número de flores fecundadas, de frutos producidos y de semillas viables, son debidas, por una parte, a que muchos frutos comienzan un desarrollo normal, pero llegados a una cierta etapa detienen su crecimiento y se caen; por otra, frutos normalmente formados, o bien no poseen semillas en su interior, o estas semillas son anormales.

En general, en los cruzamientos que han dado resultado positivo se obtiene un número de semillas inferior al normal.

Los cruzamientos marcados (1) se hicieron entre flores de la misma planta; los marcados (2) fueron testigos a los que se extrajo el estigma pero no se polinizaron; los marcados (3) fueron cruces entre flores de distinta maceta de la misma muestra.

Pasemos a analizar los cruzamientos:

a) Parental femenino *S. vermiculatus*: Intraespecíficos positivos, si el parental masculino es la var. *spinosus* se obtienen híbridos intermedios. Interespecíficos o bien producen frutos que luego se caen, o son autofecundaciones debido a contaminaciones en la manipulación.

b) Parental femenino *S. sulcatus*: Interespecíficos o totalmente negativos o producen frutos inviables.

c) Parental femenino *S. muricatus*: Interespecíficos negativos. Intraespecíficos entre distintas variedades positivos.

d) Parental femenino *S. subvillosus*: Interespecíficos, sólo positivos al cruzar con *S. sulcatus* (M.28). Intraespecíficos, positivos excepto un caso.

<i>progenitor femenino y n.º de muestra</i>	<i>progenitor masculino y n.º de muestra</i>	<i>n.º de flores cruzadas</i>	<i>n.º de flores fecundadas</i>	<i>n.º de frutos producidos</i>	<i>n.º de frutos con semillas viables</i>	<i>n.º de semillas viables</i>
<i>S. vermiculatus</i> , M8	<i>S. vermiculatus</i> , M8	10 <sup>(3)</sup>	7	7	7	42
»	»	8 <sup>(2)</sup>	—	—	—	—
»	<i>S. vermiculatus</i> , M9	4	4	4	4	14
»	<i>S. muricatus</i> , M20	2	2	1	1	4
»	<i>S. muricatus</i> , M10	1	1	1	1	1
»	<i>S. sulcatus</i> , M29	1	1	1	1	4
<i>S. vermiculatus</i> , M9	»	5 <sup>(2)</sup>	0	0	0	0
»	<i>S. sulcatus</i> , M28	4	2	0	0	0
»	<i>S. sulcatus</i> , M40	2	2	0	0	0
»	<i>S. subvillosus</i> , M35	1	1	0	0	0
»	<i>S. vermiculatus</i> , M9	1 <sup>(1)</sup>	1	1	1	4
<i>S. muricatus</i> , M10	<i>S. muricatus</i> , M10	3 <sup>(3)</sup>	0	0	0	0
<i>S. muricatus</i> , M20	<i>S. subvillosus</i> , M35	1	1	0	0	0
»	<i>S. subvillosus</i> , M36	2	2	0	0	0
»	<i>S. muricatus</i> , M10	9	3	3	3	20
»	<i>S. vermiculatus</i> , M9	4	3	0	0	0
»	<i>S. sulcatus</i> , M40	3	1	0	0	0
»	<i>S. sulcatus</i> , M28	5	2	0	0	0
<i>S. subvillosus</i> , M36	<i>S. muricatus</i> , M10	2	2	1	1	0
»	<i>S. subvillosus</i> , M35	1	1	0	0	0
<i>S. subvillosus</i> , M35	<i>S. muricatus</i> , M20	3	0	0	0	0
»	<i>S. subvillosus</i> , M38	1	1	1	1	6
<i>S. subvillosus</i> , M38	<i>S. subvillosus</i> , M40	2	1	1	1	4
»	»	3 <sup>(2)</sup>	0	0	0	0
<i>S. subvillosus</i> , M40	<i>S. subvillosus</i> , M35	6	3	3	0	0
»	<i>S. muricatus</i> , M20	4	4	2	0	0
»	<i>S. sulcatus</i> , M28	2	2	2	2	13
»	<i>S. subvillosus</i> , M40	3 <sup>(1)</sup>	1	1	1	6
»	»	5 <sup>(2)</sup>	0	0	0	0
<i>S. sulcatus</i> , M28	<i>S. subvillosus</i> , M35	2	0	0	0	0
»	<i>S. subvillosus</i> , M32	3	0	0	0	0
»	<i>S. muricatus</i> , M20	4	0	0	0	0
»	»	4 <sup>(2)</sup>	0	0	0	0
<i>S. muricatus</i> , M10	<i>S. sulcatus</i> , M28	7	4	2	0	0
»	<i>S. sulcatus</i> , M29	2	2	1	1	10
»	<i>S. subvillosus</i> , M20	11	9	4	4	20
»	»	1 <sup>(2)</sup>	1	1	1	7
»	<i>S. subvillosus</i> , M40	3	3	1	0	0

CUADRO II.—Resultados obtenidos en la hibridación artificial de las distintas especies del género *Scorpiurus*.

*Análisis de híbridos artificiales.*

Las semillas obtenidas en los cruzamientos se hicieron germinar y una vez se obtuvieron plantas adultas, se estudiaron y compararon con sus parentales. En el cuadro III se resume el número de semillas que se hicieron germinar, las plántulas obtenidas y las plantas que llegaron a la madurez.

1) M8 x M8 (SEV 13492) *S. vermiculatus* x *vermiculatus*.

La variabilidad de sus caracteres morfológicos está dentro del ámbito normal de la especie. Fertilidad del polen c. 100%.  $2n = 14$ .

<i>cruce</i>	<i>n.º de semillas sembradas</i>	<i>n.º de plántulas obtenidas</i>	<i>n.º de plantas adultas</i>
M8 x M8	10	8	5
M8 x M9	10	9	6
M8 x M20	4	3	3
M8 x M10	1	1	1
M8 x M29	4	3	3
M40 x M28	8	6	6
M40 x M40	6	5	2
M10 x M29	9	5	4
M10 x M20	10	8	8
M20 x M10	10	4	0
M35 x M38	4	4	4
M38 x M40	4	4	4

CUADRO III.—Relación de plantas adultas obtenidas de los híbridos artificiales de *Scorpiurus* L.

2) M8 x M9 (SEV 13493) (fig. 3) *S. vermiculatus* x *var. spinosus*.

Morfología del fruto intermedia entre los dos parentales. Parental femenino con fruto cubierto de setas apretadas, plano-pileiformes; parental masculino con frutos cubiertos de espinas agudas; híbrido cubierto de setas esparcidas, débilmente pileiformes. Fertilidad del polen 95-100%.  $2n = 14$ , dos pares de cromosomas satelizados. 1-6 semillas por fruto.

3) M8 x M20 *S. vermiculatus* x *muricatus* var. *margaritae*; M8 x M29 *S. vermiculatus* x *sulcatus*.

Fenotipo igual a M8.  $2n = 14$ . Se trata de contaminaciones por polen de los progenitores femeninos.

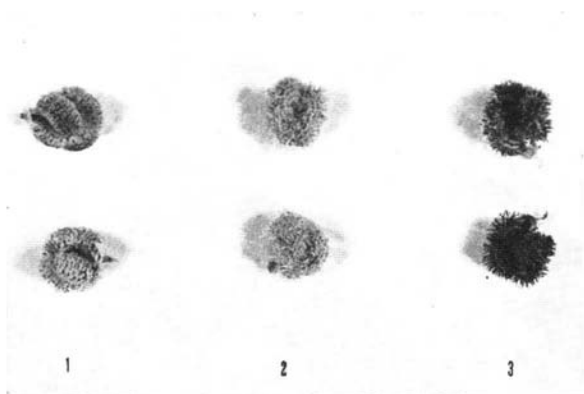


Fig. 3.—Cruzamiento *S. vermiculatus* x var. *spinosus* (M8 x M9). 1, parental femenino; 2, híbrido; 3, parental masculino.

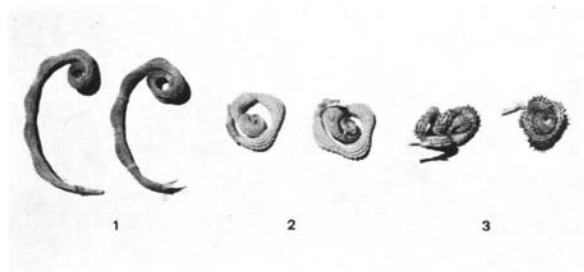
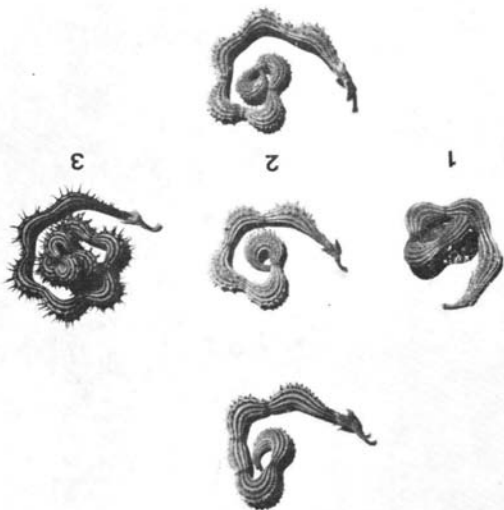


Fig. 4.—Cruzamiento *S. muricatus* x var. *margaritae* (M10 x M20). 1, parental femenino; 2, híbrido; 3, parental masculino.

Fig. 6.—Cruzamiento *S. subrotosus* x *subrotosus* pro parte (M28 x M40). 1, parental femenino; 2, híbrido; 3, parental masculino.



Fig. 5.—Cruzamiento *S. subrotosus* pro parte x *subrotosus* (M40 x M28). 1, parental femenino; 2, híbrido; 3, parental masculino.



- 4) M10 x M29 *S. muricatus* x *sulcatus*.  
Fenotipo igual a M10.  $2n = 28$ . Se trata de una contaminación por polen del progenitor femenino.

- 5) M10 x M20 (SEV 13496) (fig. 4) *S. muricatus* x var. *margaritae*.

Morfología del fruto intermedia entre los dos parentales. En el femenino, las legumbres poseen tubérculos pequeños en las cuatro costillas superiores de los 3-4 primeros artejos, los otros son lisos; el enrollamiento es laxo y sólo se cierra la espira en la parte distal; el número de semillas oscila entre 5-8.

En el masculino las legumbres poseen espinas de 0,16 - 1,5 mm. en las cuatro costillas superiores de todos los artejos y tubérculos en las laterales; el enrollamiento es en espiral; el número de semillas oscila entre 6 - 7.

En el híbrido, las legumbres tienen todos los artejos con las 4 costillas superiores con espinas menores de 0,6 mm. y las laterales tuberculadas; el enrollamiento se produce casi en un plano, cerrándose la espira desde el principio; el número de semillas oscila entre 4 - 5. Fertilidad del polen híbrido c. 96%.  $2n = 28$ , un par de cromosomas satelizados.

- 6) M40 x M40 (SEV 13495) *S. subvillosus* pro parte x *subvillosus* pro parte.

La variabilidad de sus caracteres morfológicos está dentro de lo normal en la especie. Fertilidad del polen c. 100%.  $2n = 28$ , dos pares de cromosomas satelizados.

- 7) M40 x M28 (SEV 13494) (fig. 5) *S. subvillosus* pro parte x *sulcatus*.

Los frutos del híbrido son intermedios de los dos parentales: En el parental femenino las legumbres poseen costillas lisas a excepción de las tres superiores que presentan tubérculos diminutos; todas son de color blanco; el enrollamiento tiende a producirse en las tres direcciones del espacio.

En el masculino, las legumbres tienen las cuatro costillas superiores cubiertas por espinas de 1.1 - 1.8 mm., las dos laterales por tubérculos menores de 0.5 mm. y las otras tres son lisas, todas de color negruzco; enrollamiento en un solo plano. En el híbrido, las legumbres tienen las cuatro costillas superiores cubiertas de espinas de 0.3 - 0.6 mm., las dos laterales con tubérculos menores de 0.5 mm. y las demás lisas, cuatro plantas tienen frutos con costillas blancas y dos con negras; enrollamiento en un solo plano. No hay reducción en el número de semillas

producidas. Fertilidad del polen 83 - 93%.  $2n = 28$ , 2 pares de cromosomas satelizados.

8) M35 x M38 (SEV 13497) *S. subvillosus* x *subvillosus*.

La variabilidad de sus caracteres morfológicos está dentro de lo normal en la especie. Fertilidad del polen c. 100%.  $2n = 28$ , 2 pares de cromosomas satelizados.

9) M38 x M40 (SEV 13498) (fig. 6) *S. subvillosus* x *subvillosus* pro parte.

Los frutos del híbrido son intermedios de los dos parentales. En el parental femenino las legumbres tienen todas las costillas, excepto dos, con espinas de 1 - 2,5 mm.; el enrollamiento suele ser en las tres direcciones del espacio. En el parental masculino, las legumbres sólo tienen las tres costillas superiores cubiertas de tubérculos menores de 0,3 mm., las demás son lisas; el enrollamiento tiende a producirse en las tres direcciones del espacio. En el híbrido, las legumbres tienen las 3 costillas superiores con espinas de c. 0,3 mm. y las dos laterales con tubérculos; el enrollamiento tiende a producirse en las tres direcciones del espacio. Fertilidad del polen c. 95%.  $2n = 28$ , dos pares de cromosomas satelizados.

### Conclusiones.

A partir de los resultados obtenidos se puede afirmar que la fecundación se lleva a cabo por medio de autogamia. Los cruzamientos intraespecíficos naturales son difíciles debido a problemas físicos; la autofecundación se produce antes de la apertura de la flor; podría, sin embargo, realizarse ocasionalmente por visitas de insectos a plantas masculinas estériles, como ocurre en *Anthyllis vulneraria* L. (COUDERC, 1971), pero no lo hemos observado, por lo que no puede confirmarse esta hipótesis.

Las hibridaciones artificiales interespecíficas negativas parecen demostrar un cierto tipo de incompatibilidad (posiblemente del tipo de alelos S.); este tipo de cruzamiento produce algunas veces frutos estériles, que no contienen semillas.

Los cruzamientos artificiales intraespecíficos entre variedades de la misma especie confirman un alto grado de parentesco entre los parentales.

*S. vermiculatus* L. se encuentra aislado de las otras especies por una barrera genética; STEBBINS (1957) demuestra que la autogamia es un carácter más evolucionado que la alogamia, de modo que si esta especie es la más primitiva del género, debió en algún tiempo ser autoincompatible, carácter que



perdió luego, al mismo tiempo que fabricaba barreras de incompatibilidad; posiblemente, el aislamiento gradual a que se sometieron sus individuos fue diferenciando ciertas formas que podrían haberse vuelto a poner en contacto, tanto que en algún momento permitió hibridaciones entre unas y otras; estos híbridos por poliploidía (alopoliploidía) darían lugar a las especies  $4x$  ( $2n = 28$ ).

Otro problema es la compatibilidad entre la muestra M40 (procedente de Israel) *S. subvillosus* L. pro parte, con *S. subvillosus* L. por un lado, y *S. sulcatus* L. por otro; aparentemente las muestras típicas de estas especies no son compatibles entre sí. Esto puede ser atribuido a que el número de cruzamientos no ha sido suficiente y que en realidad si sean compatibles; o a que las experiencias hayan sido correctas y, efectivamente, existan barreras de cruzamiento entre ambas especies. Si tomamos como verdadera una u otra hipótesis, podemos buscar dos explicaciones acerca del origen del taxon M40: 1.<sup>a</sup> Origen híbrido; 2.<sup>a</sup> Paso intermedio en la diferenciación específica de *S. subvillosus* a partir de *S. sulcatus*.

Hemos comprobado, en el estudio de pliegos de herbario, la existencia de plantas con frutos no identificables con ninguno de los taxones descritos en la parte sistemática; sin embargo, al estudiar los híbridos artificiales hemos podido establecer la identidad de algunos de ellos; así, hay un pliego conservado en el Herbario de la Universidad de Jerusalén, cuya etiqueta dice:

*Scorpiurus muricatus* L. var. *muricatus*  
 Jerusalem, rupin road, opps. Neve-Shaanan  
 leg.: M. Zohary. 16.8.58  
 n.º 5/63/26

Sus frutos y flores corresponden al híbrido M38 x M40.

Es posible que en estas zonas puedan producirse ocasionalmente hibridaciones naturales, pero, sin embargo, la importancia taxonómica de estos híbridos (salvo raras excepciones) debe ser escasa; la poca frecuencia de estos cruzamientos y la reducción de la fertilidad hace que tengan, posiblemente, muy poco potencial evolutivo.

## PALINOLOGIA

### *Material y métodos.*

Generalmente hemos obtenido las muestras a partir de material seco de herbario, tomando una flor de cada ejemplar considerado representativo de

una población. En algunos casos hemos utilizado material fresco para comparación.

Se ha seguido para la tinción de los granos el método de WODEHOUSE (1935) en vez del de ERDTMAN (1952), que da más exactitud en las observaciones pero que necesita para cada muestra 4 ó 5 flores. Se han medido en 20 - 30 granos por muestra la longitud y la anchura en vista polar; las medidas se expresan en el cuadro IV en P/E. 100 correspondiendo a la longitud del grano de polen, según el eje polar (P) y la máxima anchura (E) del grano en vista meridiana; en cuanto a la forma, hemos seguido la nomenclatura de ERDTMAN (1969). En la fig. 7 aparecen los granos ordenados de mayor a menor longitud.

Taxa	Longitud en $\mu$		Anchura en $\mu$		P/E. 100 (*)	
	$\bar{m}$	$\bar{S}_x$	$\bar{m}$	$\bar{S}_x$	$\bar{m}$	$\bar{S}_x$
<i>S. vermiculatus</i>	20.68	0.97	15.12	0.60	135.92	4.83
<i>S. subvillosus</i>	19.5	0.85	15.5	0.37	126.0	5.67
<i>S. sulcatus</i>	19.25	1.39	14.46	1.05	133.16	4.83
<i>S. muricatus</i>	18.55	0.95	14.13	0.57	130.81	5.84

CUADRO IV.—Dimensión de los granos de polen en las especies del género *Scorpiurus*. (\*) P/E. 100 = longitud según el eje polar / anchura máxima x 100.

#### Observaciones.

Granos lisos trizonocolporados, con un P/E. 100 que va de 126 - 135. El contorno interno es oval, ensanchándose en el ecuador. El grosor de la exina varía desde los polos (mínima), pasando por la zona supraecuatorial (máxima) a la zona ecuatorial (mínima). Poseen tres endoaperturas circulares salientes.

A continuación damos la descripción del polen en cada especie, número de muestras estudiadas junto con la razón P/E. 100.

*S. vermiculatus* L. (fig. 7, 1).

Se han estudiado 13 muestras de la Península Ibérica y 2 de Africa del Norte.

Polen ovoideo-rectangular, prolado. Colpo fino y alargado, alcanzando casi los polos. P/E. 100 = 131 - 144.



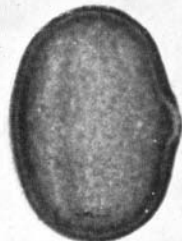
1



2



3



4



Fig. 7.—Granos de polen en el género *Scorpivorus* (x 1800).  
1, Vista ecuatorial y polar de un grano de polen de *S. vermiculatus*; 2, vista ecuatorial de un grano de polen de *S. muricatus*; 3, vista ecuatorial de un grano de polen de *S. sulcatus*; 4, vista ecuatorial y polar de un grano de polen de *S. subvillosus*.





*S. muricatus* L. (fig. 7, 2).

Se han estudiado 16 muestras de la Península Ibérica. Polen ovoideo subprolado. Colpo fino y alargado, atenuándose en los polos. P/E. 100 = 123 - 144.

*S. sulcatus* L. (fig. 7, 3).

Se han estudiado 8 muestras de la Península Ibérica. Polen ovoideo rectangular, prolado. Colpo fino y alargado, alcanzando casi los polos. P/E. 100 = 128 - 142.

*S. subvillosus* L. (fig. 7, 4).

Se han estudiado 2 muestras de España, 3 de Francia, 4 de Yugoslavia, 1 de Turquía y 1 de Palestina.

Polen ovoideo, suprolado. Colpo fino y alargado, atenuándose en los polos. P/E. 100 = 116,6 - 136,3.

### *Discusión.*

Hemos estudiado 48 muestras correspondientes a las 4 especies, comprobando que no existen diferencias apreciables en la morfología o en el tamaño, no pudiendo ser utilizado este carácter para diferenciar ninguna de las especies.

Los granos de polen de *S. vermiculatus* tienden a ser más grandes que los de las otras especies, pero sólo muy ligeramente. Los de *S. subvillosus* son un poco más anchos que los de las otras especies  $2n = 28$ , por lo que tienden a ser ligeramente más esféricos. Estas diferencias no son significativas desde el punto de vista estadístico.

## ESTUDIO DE PIGMENTOS EN FLORES

### *Material y métodos.*

Los pigmentos se han extraído a partir de flores frescas, ya que hemos comprobado que las partes vegetativas y las flores secas producen un modelo que depende de las condiciones en que se encuentran dichos órganos.

*Extracción.* Se lleva a cabo mediante la inmersión de las flores en etanol 95% al baño maría durante 1 minuto. Una vez extraídos los pig-

mentos se concentran y aplican con un capilar en un papel de cromatografía Whatman n.º 1.

*Sistemas solventes.* Se han utilizado dos sistemas solventes: 1, Agua destilada. 2, n-butanol-ácido acético-agua (4:1:5 por vol.). 3, Acido acético al 15%.

*Desarrollo.* El cromatograma se deja correr en una sola dirección en tanque. El tiempo del desarrollo varía para cada disolvente: BAA = 16 horas; agua = 6 horas; acético = 5 horas.

BAA		Agua		Ac. Acético 15%		Glicósido derivado de	Color en UV + vapores NH <sub>3</sub>
1	2	1	2	1	2		
0.04	0.04	—	—	—	—	—	verde claro
0.24	0.24	0.10	0.10	0.27	0.27	Quercetina	amarillo
0.39	0.39	0.25	0.25	0.44	0.44	Quercetina	amarillo
—	0.60	—	0.40	—	0.54	Apigenina	verde claro
0.95	0.95	0.87	0.87	0.86	0.86	—	verde oscuro

CUADRO V.—Valor en Rf y color de las manchas observadas en cromatogramas de: 1, *S. vermiculatus*; 2, *S. subvillosus*, *S. muricatus*, *S. sulcatus*.

*Identificación de las manchas.* Las manchas no son visibles a la luz ordinaria, por lo que deben estudiarse en atmósfera de amoníaco e iluminadas con una lámpara de luz ultravioleta. Para la identificación de los pigmentos se han utilizado las tablas de Rf de HARBORNE (1959).

### Resultados.

En el cuadro V se expresan los valores Rf de las distintas manchas en los cromatogramas. La primera mancha se ha identificado como residuos procedentes del extracto. La segunda como quercetin-3-diglucósido. La tercera como quercetin-ramno-diglucósido. La cuarta, que no aparece en *S. vermiculatus*, probablemente como apigenin-4-ramnósido. La quinta como clorofila procedente de los cálices.

### Agliconas.

Los primeros cromatogramas, con un tiempo de hidrólisis de 30' y usan-

do como disolvente Forestal, daban para *S. vermiculatus* dos manchas con Rf: 39 - 51 y para las demás especies cuatro manchas con Rf: 39 - 51 - 62 - 84; para un tiempo de 60 minutos. *S. vermiculatus* no da ninguna mancha y las demás dan una a 84 de color pardo oscuro.

### *Discusión.*

*S. vermiculatus* puede separarse de las demás especies por la ausencia de un pigmento con características parecidas a un derivado de la apigenina; el análisis de las agliconas también parece confirmarlo, aunque aquí los resultados no deben ser tomados muy en cuenta, la hidrólisis corta deja glicósidos y la larga destruye las agliconas correspondientes a estos glicósidos.

La presencia de un pigmento más en las especies  $2n = 28$  es perfectamente explicable: si se trata de un glicósido de apigenina, éste ha podido formarse a partir de un glicósido de quercetina por medio de una reducción. Esto refuerza la idea de que las especies  $2n = 28$  proceden de *S. vermiculatus*. Sin embargo, la composición fitoquímica no puede ser usada como un buen carácter taxonómico para separar las especies diploides.

## ESTUDIO ESTADISTICO DE CARACTERES DIFERENCIALES

En este apartado, hemos aplicado a las especies poliploides algunos test de homogeneidad, que nos permiten comprobar la bondad de algunos caracteres empleados en la separación de dichas especies.

### *Material y métodos.*

Se han comparado, por una parte, la relación entre la longitud de los dientes y la longitud del tubo del cáliz de las tres especies y por otra la longitud de las flores de *S. sulcatus* y *S. muricatus*.

Las medidas se han realizado en flores procedentes de material de herbario; por lo general se han tomado flores en la misma etapa de desarrollo (momentos antes de la fructificación).

Las longitudes de la flor y el tubo del cáliz, se han tomado a partir de la unión del tálamo con el cáliz, línea bien definida que elimina el error que cometeríamos si incluyéramos a éste, ya que varía de longitud con la calidad del prensado de la planta.

*Resultados.*

En total se han medidos 282 cálices pertenecientes a 110 plantas y 133 flores de 50 plantas.

Con los datos obtenidos hemos calculado media, varianza, desviación típica y la «t» a partir de la ecuación de Student (LAMOTTE, 1965), cuyos valores se expresan en los cuadros VI, VII y VIII.

	Q	K	$\bar{x}$	S <sup>2</sup> x	Sx
<i>S. sulcatus</i>	32	70	44.22	20.51	4.52
<i>S. muricatus</i>	18	59	52.42	22.30	4.72
<i>S. subvillosus</i>	60	153	64.67	40.47	6.36

CUADRO VI.—Parámetros característicos de la distribución del carácter relación longitud de los dientes-longitud del tubo del cáliz. Q expresa el número de plantas estudiadas, K el número de observaciones,  $\bar{x}$  la media, S<sup>2</sup>x la varianza y Sx la desviación típica.

	K	$\bar{x}$	t	t <sub>0</sub> (99%)
<i>S. sulcatus</i>	70	44.22		
<i>S. muricatus</i>	59	52.42		
			10.1	2.6
<i>S. sulcatus</i>	70	44.22		
<i>S. subvillosus</i>	153	64.67		
			26.9	2.6
<i>S. muricatus</i>	59	52.42		
<i>S. subvillosus</i>	153	64.67		
			17.4	2.6

CUADRO VII.—Comparación de las especies dos a dos, para el carácter relación longitud de los dientes-longitud del tubo del cáliz. t es el valor real para dichos datos y t<sub>0</sub> el teórico para un coeficiente de seguridad del 99%.



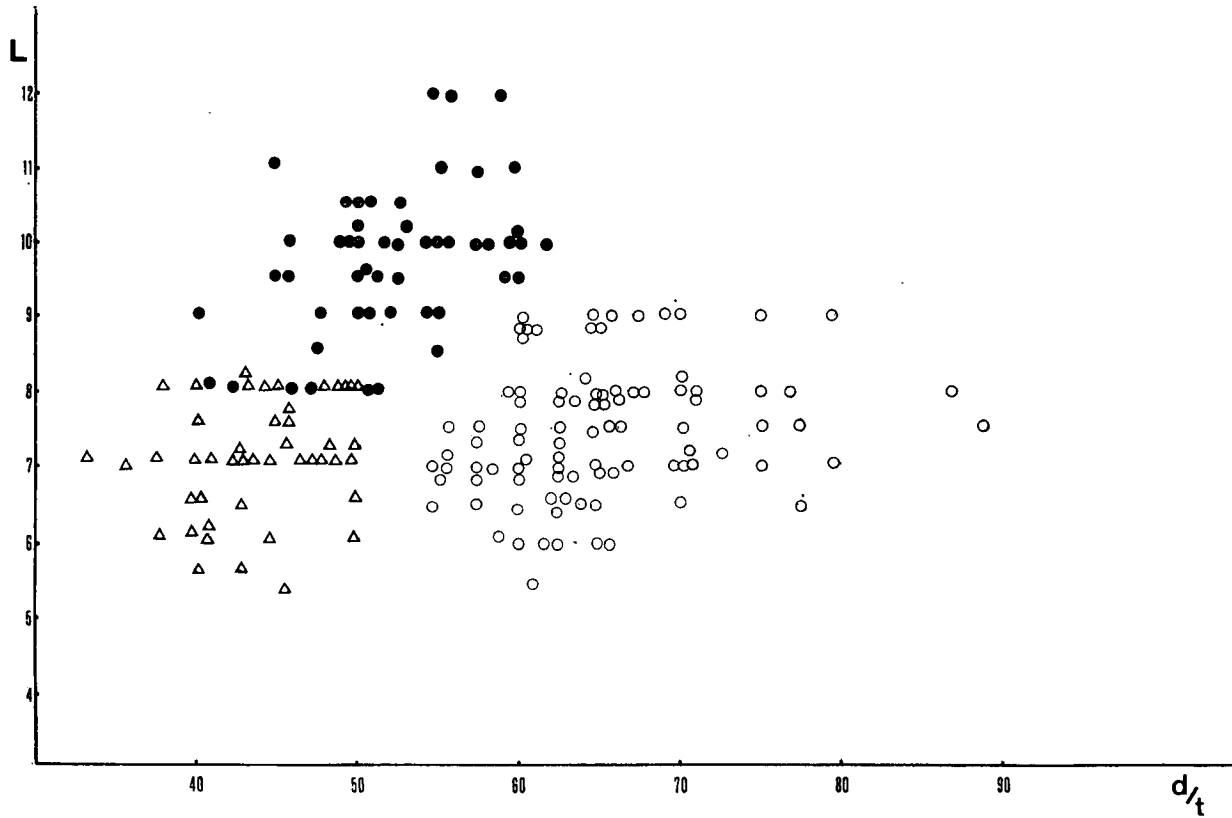


Fig. 8.—Representación gráfica del carácter  $d/t$  (longitud de los dientes del cáliz/longitud del tubo del cáliz) respecto a  $L$  (longitud del cáliz) en las especies *S. sulcatus* ( $\Delta$ ), *S. muricatus* ( $\circ$ ) y *S. subvillosus* ( $\bullet$ ).

	Q	K	x	S <sup>2</sup> <sub>x</sub>	S <sub>x</sub>	S <sub>d</sub>	t	t <sub>0</sub> (99%)
<i>S. sulcatus</i>	32	64	6.99	0.53	0.72			
<i>S. muricatus</i>	18	69	9.53	1.27	1.13			
						0.164	16.0	2.6

CUADRO VIII.—Parámetros característicos de la distribución del carácter longitud de la flor expresado en mm. para las especies *S. sulcatus* y *S. muricatus*.

### Discusión.

En los cuatro casos estudiados, el valor real de  $t$  es muchísimo mayor que el teórico  $t_0$ ; por lo tanto, el carácter longitud dientes del cáliz / longitud del tubo del cáliz, resulta ser significativo para separar las especies *S. sulcatus*, *S. muricatus* y *S. subvillosus*. Asimismo, el carácter longitud de la flor es también significativo para separar las especies *S. sulcatus* y *S. muricatus* (fig. 8).

Por tanto, ambos pueden tomarse como caracteres diferenciales con un alto coeficiente de seguridad.

### BIBLIOGRAFIA

- COUDERC, H. (1971) Etude experimentale de la reproduction de l'*Anthyllis vulneraria* L. *Bull. Soc. Bot. Fr.* 118: 359-374.
- COUTINHO, L. & M. I. A. RIBEIRO (1945) Algumas observações cariológicas no genero *Scorpiurus* L. *Rev. Agron.* 33: 334-361.
- 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.
- ERDTMAN, G. (1952) *Pollen morphology and plant taxonomy. Angiosperms.* Stockolm. (1969) *Handbook of Palynology.* Copenhagen & New-York.
- HARBORNE, J. B. (1959) The Chromatography of the flavonoid pigments. *Chromatog.* 2: 581-604.
- HEYNN, C. & V. RAVIV (1966) Experimental taxonomic studies in the genus *Scorpiurus*. *Bull. Torrey Bot. Club* 93 (4): 259-267.
- LAMOTTE, M. (1965) *Estadística biológica.* Barcelona.
- QUEZEL, P. & C. MARTÍNEZ (1958) Le dernière interpluvial au Sahara central. *Lybica* 6-7: 211-227.
- SENN, H. A. (1938) Chromosome number relationship in Leguminosae. *Bibliogr. Genet.* 12: 175-336.
- SNOW, R. (1963) Alcoholic hydrochloric acid carmine as a stain for chromosomes in squash preparation. *Stain Techn.* 38 (1): 9-14.

- STEBBINS, G. L. (1938) A simple method for clearing flowers. *Science* 87 (2245): 21-22.  
 ——— (1938) Cytological characteristics associated with the different growth habits in the dicotyledons. *Amer. Journ. Bot.* 25 (3): 189-198.  
 ——— (1950) *Variation and evolution in plants*. New York.  
 ——— (1957) Self fertilization and population variability in the higher plants. *Am. Nat.* 91 (861): 337-354.  
 ——— (1971) *Chromosomal evolution in higher plants*. London.  
 WODEHOUSE, R. P. (1935) *Pollen grains*. New York.

## APENDICE

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

- S. vermiculatus* L.: M1, El Arahál, Mte. Charcón (Sevilla), 18.XII.1969, *Domínguez et al.*; M2, Jerez de la Fra., Cra. de Sanlúcar de Bda. (Cádiz), 13.V.1971, *Domínguez et al.*; M3, Universidad Laboral, Canal del Bajo Guadalquivir (Sevilla), 31.V.1971, *Domínguez*; M4, Cañada de Mariadulfa, Posadas (Córdoba), 13.IX.1970, *Serrano*; M5, Dos Hermanas (Sevilla), 18.IX.1970, *Domínguez*; M6, Pinar cerca de Grazalema (Cádiz), 26.IX.1970, *Domínguez*; M7 Trassierra (Córdoba), 15.X.1971, *Medina*; M8, Orillas del Río Guadalete, Zahara (Cádiz), 26.X.1970, *Domínguez*.
- S. vermiculatus* L. var. *spinus*: M9, Universidad Laboral, Canal del Bajo Guadalquivir (Sevilla), 5.IX.1970, *Domínguez*.
- S. muricatus* L.: M10, Desembocadura del Río Guadalhorce, 14.V.1971, *Domínguez et al.*
- S. muricatus* L. var. *margaritae*: M11, Finca de la Jampa, Coria (Sevilla), 23.IX.1970, *Domínguez*; M12, Entre Malcocinado y Guadalcanal (Sevilla), 22.III.1969, *Galiano et al.*; M13, Entre Aznalcóllar y Castillo de las Guardas (Sevilla), 8.III.1969, *Domínguez et al.*; M14, Sanlúcar de Bda. (Cádiz), 13.V.1971, *Domínguez et al.*; M15, Desembocadura del Río Guadalhorce (Málaga), 14.V.1971, *Domínguez et al.*; M16, Estación de Cártama (Málaga), 14.V.1971, *Domínguez et al.*; M17, Coín (Málaga), 15.V.1971, *Domínguez et al.*; M18, Arroyo Salado, Montellano (Sevilla), 1.IV.1971, *Domínguez et al.*; M19, Universidad Laboral, Canal del Bajo Guadalquivir (Sevilla), 5.IX.1970, *Domínguez*; M20, Entre Puerto Serrano y Algodonales (Cádiz), 1.IV.1971, *Domínguez et al.*
- S. sulcatus* L.: M21, Bormujos (Sevilla), 30.XII.1968, *Domínguez et Galiano*; M22, Cra. de la Isla Menor (Sevilla), 30.I.1969, *Galiano et al.*; M 23, Desembocadura del Río Guadalhorce (Málaga), 14.V.1971, *Domínguez et al.*; M24, Cra. de la Base Naval, Rota (Cádiz), 21.VIII.1970, *Domínguez*; M25, Taliga (Badajoz), 12.X.1970, *Domínguez*; M26, Universidad Laboral, Canal del Bajo Guadalquivir (Sevilla), 5.IX.1970, *Domínguez*; M27, Cañada de Mariadulfa, Posadas (Córdoba), 13.IX.1970, *Serrano*; M28, Dos Hermanas (Sevilla), 18.IX.1970, *Domínguez*; M29, Hacienda las Monjas, Guadalcanal (Sevilla), 26.XI.1969, *Domínguez et Silvestre*; M31, Roquetas (Almería), 21.V.1971, *Galiano et al.*

*S. subvillosus* L.: M32, Jardín Botánico de Barcelona, *Culta*; M33, Instituto Botánico, Universidad de Siena (Italia), *Culta*; M34, Instituto Botánico de la Universidad de Montpellier (Francia), *Culta*; M35, Jerusalem (Israel), VIII.1964, *Heynn*; M36, University Campus, Jerusalem (Israel), VII.1964, *Heynn*; M37, Lower Galilee (Israel), VIII.1964, *Heynn*; M38, Nahal, Tsipori (Israel), n. d. *Heynn*; M39, Dto. de Botánica, Universidad de Jerusalén (Israel), *Culta*; M40, University Campus, Jerusalem (Israel), VII.1964, *Heynn*.