

ESTUDIO DE MICROCARACTERES EN FRUTOS, SEMILLAS Y POLEN DE SIBTHORPIA EUROPAEA L. (SCROPHULARIACEAE)

R. JUAN, I. FERNÁNDEZ & J. PASTOR

Departamento de Biología Vegetal y Ecología. Apdo. 1095. 41080 Sevilla.

(Recibido el 22 de Febrero de 1999)

Resumen. Se ha realizado un estudio, al microscopio óptico y electrónico de barrido, de la morfología y anatomía de frutos y semillas, así como de la morfología polínica en *Sibthorpia europaea* L., único representante del género en el suroeste de España. En este taxón hay que destacar el cambio de apariencia que se observa en las semillas al pasar de estado seco a hidratado. Dicho fenómeno se relaciona con la germinación y el sistema de dispersión.

Summary. A study of the morphology and anatomy of the fruits and seeds as well as the morphology of pollen grains in *Sibthorpia europaea* L., the only representative of the genus from south-western Spain, was carried out using light and scanning electron microscopy. In this taxa have to point out the change of appearance of seeds from a dry to hydrated state. This fact is related to germination and dispersion system.

INTRODUCCIÓN

Este género, según HEDBERG (1955), forma un grupo natural muy bien definido, originado posiblemente en el suroeste europeo. Está formado por cinco especies en el mundo, dos de las cuales son americanas. De las otras tres, *S. peregrina* L. y *S. africana* L. tienen una distribución muy reducida ya que son endémicas de Madeira y Baleares respectivamente, mientras que *S. europea* L. presenta una distribución más amplia (WEBB, 1972). El único representante en el área de estudio es *S. europaea* (VALDÉS, 1987), que crece en márgenes de arroyos de aguas ácidas, sombríos, húmedos y normalmente turbosos.

Son plantas perennes, con tallos decumbentes, enraizantes en los nudos. Hojas pecioladas, reniformes u orbiculares. Flores solitarias y axilares, pentámeras o tetrámeras. Cáliz con 4 - 5 lóbulos subiguales. Corola rotácea. Androceo con 4 - 5 estambres. Estigma bilobado. Cápsula loculicida. Semillas reticuladas o lisas, poco numerosas.

En este género hay que mencionar los trabajos de HEDBERG (1955, 1975) sobre taxonomía y cariología, respectivamente. No se conocen estudios previos de frutos, de semillas o de polen, salvo algunos datos biométricos y observaciones aportados en la revisión taxonómica antes indicada.

MATERIAL Y MÉTODOS

El material estudiado procede de poblaciones silvestres. Los testigos se encuentran depositados en el Herbario del Departamento de Biología Vegetal y Ecología de la Facultad de Biología de Sevilla (SEV). Todas las muestras de polen se conservan en la Palinoteca de dicho Departamento.

Frutos y semillas

El material se fijó en FAA durante un mínimo de 24 horas para pasarlo posteriormente a etanol al 70%.

Para el estudio morfológico, algunas cápsulas y semillas fijadas se han deshidratado en una serie creciente de acetona y se sometieron a punto crítico usando dióxido de carbono. Este material junto con semillas secas se montaron en portas mediante adhesivo de doble cara. Seguidamente se metalizaron con oro-paladio y se examinaron con un microscopio electrónico de barrido (MEB) Philips LX-20. Para determinar la variabilidad intra e interpoblacional se aclararon y reblandecieron, en ácido láctico, varias cápsulas de cada población para comparar las epidermis. Éstas se montaron en portas y se observaron al microscopio óptico (MO), donde se efectuaron las medidas de los pelos. Con ayuda de una cámara clara se realizaron los dibujos de las cápsulas completas así como los detalles de las epidermis y pelos.

Para el estudio anatómico se ha usado el material fijado. Dicho material se deshidrató usando la serie de alcohol butílico terciario (JOHANSEN, 1940). Posteriormente se incluyó en parafina y se cortó a 8-10 μm . Una vez montadas estas secciones se tiñeron con safranina (1%) / fast-green (0.1%). Estas preparaciones se montaron de modo permanente para su posterior estudio al MO.

Para la terminología se ha seguido fundamentalmente a FONT QUER (1977) y a STEARN (1992).

Polen

Las muestras proceden de material fijado con ácido acético glacial. Seguidamente el polen se acetolizó siguiendo el método de ERDTMAN (1960).

La polaridad, simetría, forma, tamaño de los ejes, sistema apertural y exina se han estudiado al MO. Para conocer las dimensiones de los ejes polar (P) y ecuatorial (E) se han medido al menos 30 granos de polen en cada una de las poblaciones y aproximadamente 10 para el resto de los caracteres. El estudio de la ornamentación se ha llevado a cabo al MEB (JEOL JSM-T100). Para ello las muestras se han montado en portaobjetos y se han metalizado con oro-paladio, después de ser acetolizadas y deshidratada en la serie de alcohol.

En la descripción se ha seguido la terminología de PUNT & al. (1994).

Material estudiado. CÁDIZ. Entre Medina Sidonia y Los Barrios, arroyo Valdeinfierno, 11.6.1992, *Fernández y Juan* (SEV 135136). Algeciras, Sierra de Luna, arroyo de la Corza, 15.6.1993, *Fernández y Juan* (SEV 135137). Los Barrios, Montera del Torero, 15.6.1993, *Fernández y Juan* (SEV 135138).

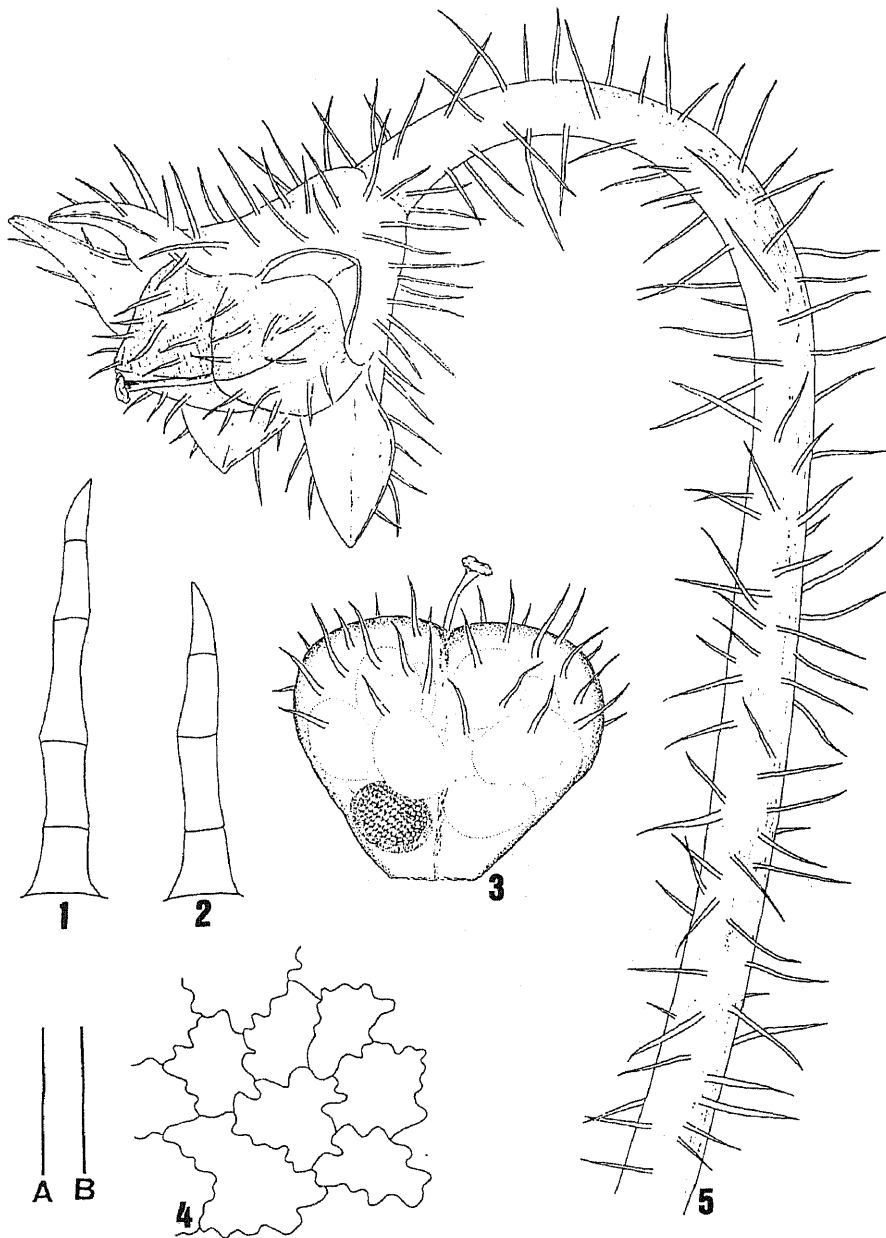
RESULTADOS

Cápsulas de 1.2 - 2.0 x 1.3 - 2.5 mm, papiráceas, solitarias y axilares. De contorno obovado a obtriangular, algo comprimidas, con ápice poco emarginado y simetría bilateral. Lóbulos subiguales, paralelos, con margen débilmente aquillado y septo recto (Figs. 3, 5). Estilo de 0.4 - 0.7 mm, sobrepasando la escotadura. Superficie con células irregulares de contorno sinuoso, convexas y cutícula lisa; no se observan estomas. Indumento viloso, muy abundante en la mitad superior, con pelos eglandulares papilosos, de 180 - 325 μm , formados por (2-) 3 - 5 células con uniones muy marcadas y ápices agudos (Figs. 1, 2, 4, 6, 7). Pericarpo de 50 - 100 μm . Epicarpo con células alargadas tangencialmente de paredes delgadas. Mesocarpo con varias capas de células colapsadas. Endocarpo de 20 - 70 μm , con 1 - 2 capas de células de paredes lignificadas (Figs. 8, 10).

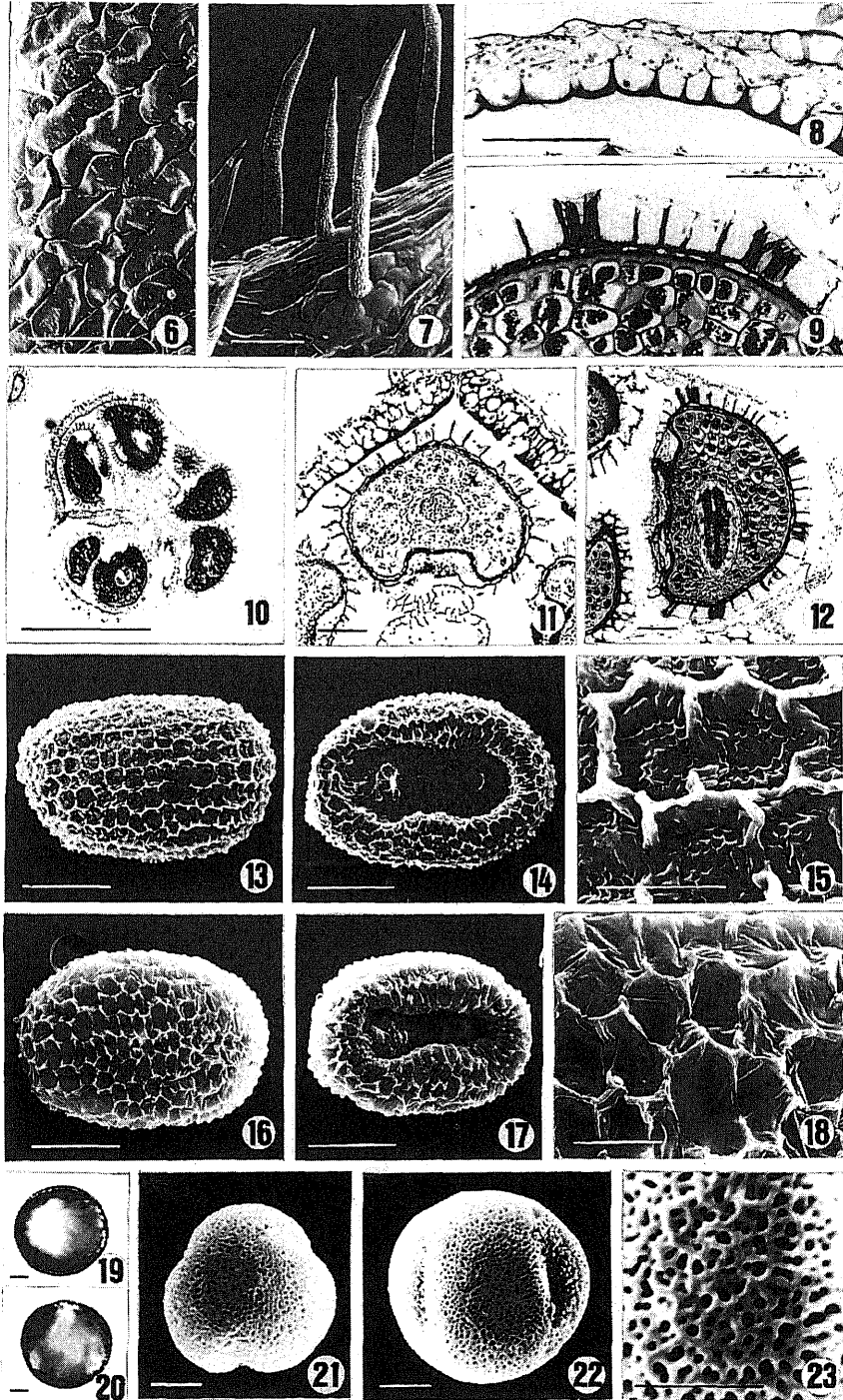
Dehiscencia loculicida restringida a la zona superior. De 4 - 15 semillas por cápsula.

Semillas de 0.4 - 0.7 x 0.3 - 0.5 mm, elipsoideas y cara ventral cóncava. Inserción subapical. Color pardo oscuro. Testa regularmente reticulada, formada por células poligonales con paredes radiales medianamente profundas y de grosor irregular; pared tangencial externa membranosa, generalmente colapsada sobre la interna que está a su vez reticulada. Epidermis con células cuadradas reforzadas con un retículo de lignina excepto la pared tangencial externa. Endotelio con células pequeñas, cuadradas o alargadas tangencialmente y de paredes algo engrosadas (Figs. 9, 11 - 18). Rafe evidente.

Polen 3-zonocolpado, isopolar radiosimétrico; de circular a elíptico en visión ecuatorial y corte óptico ecuatorial (Figs. 19, 21) y circular en visión po-



Figs. 1-5, *Sibthorpia europaea*. 1, 2, pelos eglándulares; 3, 5, aspecto general de la cápsula; 4, detalle de la superficie. Escala: A = 100 μ m (1, 2, 4); B = 1 mm (3, 5).



lar y corte óptico meridiano (Figs. 20, 22); P/E = 0.84 - 1.00 (0.91 ± 0.04); tamaño pequeño; P = 16 - 20 (18.21 ± 1.22) μm ; E = 18 - 21 (19.96 ± 0.78) μm . Aberturas simples tipo colpo terminales con márgenes sinuosos y poco definidos. Exina de aproximadamente 1.5 μm de grosor con sexina ligeramente más gruesa que la nexina; infratécum columelado; téctum completo. Ornamentación perforada (Fig. 23).

DISCUSIÓN

Tras el estudio realizado en esta especie lo más llamativo es el cambio que sufren sus semillas al pasar del estado seco al hidratado y viceversa. Este fenómeno también ha sido observado en otros géneros de *Scrophulariaceae* como *Odontites*, *Verbascum* o *Digitalis* (JUAN & al., 1996, 1997a, 1998). HEDBERG (1955), ya indicó que las semillas de *S. europaea* tenían una apariencia muy turgente recién salidas de la cápsula, y que algún tiempo después las células de la superficie se arrugan. Este cambio explica los distintos términos que se han venido utilizando para describir dicha superficie (blanco-foveolado, blanco-reticulado, lisas, etc.). En las poblaciones examinadas en este trabajo, cuando las semillas están secas tienen apariencia reticulada y cada célula presenta un retículo más pequeño en la pared tangencial interna, que es visible por estar colapsada la tangencial externa. Cuando están hidratadas, se observa un halo blanquecino originado por la elevación de la membrana que forma la pared tangencial externa. Ésta oculta el microrretículo además de hacer menos evidente el aspecto reticulado general, no obstante en ningún caso la superficie de la semilla aparece lisa. Por otra parte, a partir de los datos biométricos obtenidos por HEDBERG (1955) en las semillas de este género y atendiendo al tamaño de las mismas es posible diferenciar las tres especies europeas, siendo *S. europaea* la que presenta semillas más pequeñas (0.4 - 0.6 mm). Desde un punto de vista anatómico, en las semillas hay que resaltar la presencia de un embrión linear muy pequeño, como el observado por MARTÍN (1946) en *Melampyrum*. El endospermo presenta células de paredes gruesas, sobre todo la pared tangencial externa de las células que limitan con el endotelio, que junto con la testa se encargarán de la protección del embrión.

Figs. 6-23. *Sibthorpia europaea*. 6, superficie de la cápsula; 7, pelo eglandular; 8, detalle del pericarpo; 9, detalle de la testa; 10, corte longitudinal de una cápsula; 11, corte transversal de una semilla; 12, corte longitudinal de una semilla; 13, cara dorsal de una semilla; 14, cara ventral de una semilla; 15, superficie de la testa; 16, cara dorsal de una semilla tratada con punto crítico; 17, cara ventral de una semilla tratada con punto crítico; 18, superficie de la testa en una semilla tratada con punto crítico. 19, contorno del polen en visión ecuatorial; 20, contorno del polen en visión polar; 21, visión polar del polen al MEB; 22, visión ecuatorial del polen al MEB; 23, detalle de la ornamentación al MEB. Escalas: 4 μm (19-23); 50 μm (6, 15, 18); 100 μm (7-12); 200 μm (13, 14, 16, 17).

En cuanto a las cápsulas, destaca su tamaño pequeño y los largos pelos que cubren gran parte de su superficie. Anatómicamente son muy simples ya que el pericarpo es muy delgado y apenas presenta células lignificadas, salvo en la mitad superior donde el endocarpo está algo más desarrollado. La dehiscencia de éstas se llevará a cabo gracias al tejido de abscisión a lo largo de la línea media de cada lóculo que cederá a las tensiones del endocarpo. Tanto la estructura del pericarpo como el mecanismo de dehiscencia son bastante semejantes a muchas especies de *Veronica*, sin embargo, los pelos que aparecen en *S. europaea* son muy distintos (JUAN & al., 1997b).

El tipo de dehiscencia junto al geotropismo observado en las cápsulas de *S. europaea*, indican que esta especie tiene una dispersión activa provocada por la tensión de los tejidos muertos. Sin embargo, debido a la disposición de estos frutos, las semillas caerán cerca de la planta madre favoreciendo la atelecoria. Por otra parte, teniendo en cuenta el hábitat de esta especie, las semillas van a estar frecuentemente hidratadas presentando una mayor capacidad de adhesión. Ésto puede resultar útil si las semillas caen al agua (fenómeno muy probable) ya que podrán quedar adheridas a cualquier obstáculo que encuentren, favoreciendo de este modo el asentamiento de nuevas plántulas. No obstante, una cubierta de este tipo puede dar lugar a distintas interpretaciones; así, MURBECK (1919, sec. RYDING, 1992) sugiere que esta envuelta actúa como una reserva de agua que favorecerá la germinación, GUTTERMAN & al. (1967), por el contrario, proponen que esta capa actúa como una barrera de protección para evitar una germinación prematura, y HEDGE (1970) resalta que es útil para fijar pequeñas partículas formando una envuelta que protege a la semilla de la sequedad ambiental al tiempo que le proporciona unas condiciones más favorables para su germinación.

En cuanto al estudio palinológico, HEDBERG (1955) en su revisión taxonómica de *Sibthorpia* aporta datos sobre el tamaño de los granos de polen de este género. Así indica que en *S. europaea* el tamaño oscila entre 16 - 34 μm considerando poblaciones europeas y africanas, si bien en las primeras no superan las 27 μm . En las poblaciones del suroeste de España el tamaño observado ha sido más pequeño (P = 16 - 20 μm , E = 18 - 21 μm), aunque esta diferencia podría deberse a que el método utilizado en el tratamiento del polen ha sido diferente. Palinológicamente, atendiendo a la forma, tamaño y sistema apertural, este taxón muestra gran similitud con el género *Veronica*. En cuanto a la ornamentación, es semejante a la que presentan algunas especies de dicho género como *V. triphyllos* o *V. peregrina* (FERNÁNDEZ & al., 1997c).

Agradecimientos. Los autores desean expresar su agradecimiento al Dr. P. J. López-González por la realización de los dibujos y al Servicio de Microscopía Electrónica de la Universidad de Sevilla la ayuda prestada, en especial a Dña. A. Fernández por las preparaciones de las muestra en punto crítico.

BIBLIOGRAFÍA

- ERDTMAN, G. (1952) *Pollen morphology and plant taxonomy. Angiosperms*. Stockholm.
- FERNÁNDEZ, I., R. JUAN & J. PASTOR (1997) Morfología polínica de *Veronica L.* (Scrophulariaceae) en el suroeste de España. *Acta Bot. Malacitana* **22**: 65-72.
- FONT QUER, P. (1977) *Diccionario de Botánica*. Barcelona.
- GUTTERMAN, Y., A. WITZUM & M. EVENARI (1967) Seed dispersal and germination in *Blepharis persica* (Burm.) Kuntze. *Israel J. Bot.* **16**: 213-234.
- HEDBERG, O. (1955) A taxonomic revision of the genus *Sibthorpia L.* *Bot. Not.* **108**: 161-183.
- (1975) A cytogenetic study of the genus *Sibthorpia* (Scrophulariaceae). *Caryologia* **28**: 251-260.
- HEDGE, I. C. (1970) Observations on the mucilage of *Salvia* fruits. *Notes Roy. Bot. Gard. Edimburgh* **30**: 79-95.
- JOHANSEN, D. A. (1940) *Plant microtechnique*. New York.
- JUAN, R., I. FERNÁNDEZ & J. PASTOR (1997a) Systematic consideration of microcharacters of fruits and seeds in the genus *Verbascum* (Scrophulariaceae). *Ann. Bot.* **80**: 591-598.
- , I. FERNÁNDEZ & J. PASTOR (1997b) Morphological and anatomical studies on fruits of *Veronica* from south-west Spain. *Bot. J. Linn. Soc.* **123**: 157-171.
- , I. FERNÁNDEZ & J. PASTOR (1998) Aportación a la morfología y anatomía de frutos y semillas del género *Digitalis L.* en el suroeste de España. *Lazaroa* **19**: 17-28.
- , J. PASTOR & I. FERNÁNDEZ (1996) Observaciones de frutos y semillas en tres especies de *Odontites Ludwig* (Scrophulariaceae). *Acta Bot. Malacitana* **21**: 91-97.
- MARTÍN, A. C. (1946) The comparative internal morphology of seeds. *Amer. Midl. Naturalist* **36**: 513-660.
- PUNT, W., S. BLACKMORE, S. NILSSON & A. LE THOMAS (1994) *Glossary of pollen and spores terminology*. Utrecht.
- RYDING, O. (1992) Pericarp structure and phylogeny within Lamiaceae subfamily Nepetoideae tribe Ocimeae. *Nord. J. Bot.* **12**: 273-298.
- STEARNS, W. T. (1992). *Botanical Latin*. London.
- VALDÉS, B. (1987) Scrophulariaceae. In B. VALDÉS & al. (eds.). *Flora vascular de Andalucía Occidental*. **2**: 530. Barcelona.
- WEBB, D. A. (1972) *Sibthorpia*. In T. G. TUTIN & al. (eds.) *Flora Europaea* **3**. Cambridge.