

Lagascalía 15 (1): 95-103 (1988).

CONTRIBUCION AL ESTUDIO DE LA BIOLOGIA DE LA REPRODUCCION DE LAS ESPECIES ESPAÑOLAS DE MUSCARI (LILIACEAE)

B. VALDÉS & J. A. MEJÍAS

Departamento de Botánica, Facultad de Biología, Sevilla.

(Recibido el 8 de octubre de 1987)

Resumen. Se abordan algunos aspectos de la biología de la reproducción de *M. atlanticum* Boiss. & Reuter, *M. neglectum* Guss. y *M. comosum* (L.) Miller. Mediante el estudio de plantas protegidas de los insectos y plantas libremente polinizadas, y por las proporciones polen/primordio seminal, se ha comprobado que las tres especies se comportan como alógamas. Se pone de manifiesto la notable capacidad de multiplicación vegetativa de *M. neglectum* Guss. Se identifican con *M. atlanticum* las poblaciones diploides de *Muscari* sect. *Muscari* del S. de España.

Summary. Some aspects of the reproductive biology of *M. atlanticum* Boiss. & Reuter, *M. neglectum* Guss. and *M. comosum* (L.) Miller have been studied. Comparison of seed-set from bagged inflorescences and others available to open pollination and also estimations of pollen-ovule ratios indicate that all three species are probably outbreeding. Attention is drawn to the high capacity for vegetative reproduction shown by *M. neglectum*. Some diploid populations of *Muscari* from southern Spain have been identified with *M. atlanticum*.

INTRODUCCION

De acuerdo con DAVIS & STUART (1980), el género *Muscari* estaría representado en la Península Ibérica por: *M. comosum* (L.) Miller y *M. neglectum* Guss. (incl. *M. racemosum* Lam. & DC.). Posteriormente, LIDÉN (1980: 135) detectó la presencia en España de *M. parviflorum* Desf. y RUÍZ REJÓN & al. (1986: 295) describieron una nueva especie diploide, *M. matritensis* RUÍZ REJÓN & al. íntimamente relacionada con *M. comosum*, especie igualmente diploide o excepcionalmente triploide (véase particularmente RUÍZ REJÓN & al., 1981: 250-252).

Muscari neglectum es, indudablemente, el taxón más complejo, del que algunos autores reconocen varios taxones independientes. Vive en general sobre suelos relativamente profundos ocupando un área geográfica muy extensa, que abarca desde el SW de Europa y NW de Africa hasta el C. de Asia, comportándose normalmente como arvense y viaria. Hasta el momento en la Península Ibérica sólo se habían detectado en este taxón poblaciones tetraploides, con $2n = 36$ (BARROS NEVES, 1973: 198; RUÍZ REJÓN, 1976: 342; RUÍZ REJÓN & OLIVER 1978: 115; SAÑUDO & RUÍZ REJÓN, 1975: 634, 636, 644; VALDÉS, 1970: 195), pentaploides con $2n = 45$ (RUÍZ REJÓN & OLIVER, 1978: 115; VALDÉS, 1970: 195) y hexaploides con $2n = 54$ (LÖVE & KJELLQVIST, 1973: 169; RUÍZ REJÓN & OLIVER, 1978: 115), lo que justificaba la afirmación de que en *M. neglectum* solo se presentaban poblaciones diploides en Grecia y Turquía (STUART, 1970; DAVIS & STUART, 1980: 48, 1984: 258). Recientemente RUÍZ REJÓN & al. (1986), han localizado en el S. de España (Peñón de Algámitas) una población diploide con $2n = 18$ cromosomas, cuyas plantas, que viven en grietas de las rocas calizas, coinciden con las descritas por BOISSIER & REUTER (1852: 114) del N. de Africa y S. de España con el nombre de *M. atlanticum* como se ha podido comprobar tras el estudio del material original de estos dos autores (Tlemsen, Cerro de San Cristóbal y Ronda, G), uno de cuyos ejemplares (Tlemsen) ha sido seleccionado como lectotipo de *M. atlanticum* por BURDET & al. (1982:389).

Para contribuir al conocimiento de las relaciones entre los taxones españoles de *Muscari* se ha comenzado un estudio de la biología de su reproducción, exponiéndose en esta nota los resultados obtenidos de *M. atlanticum* en comparación con los resultados parciales sobre *M. neglectum*, ambos del subgénero *Muscari*, y los de *M. comosum*, del subgénero *Leopoldia* (Parl.) Zahar.

MATERIAL Y METODOS

Se han utilizado plantas cultivadas en el Jardín Experimental del Departamento de Botánica de la Facultad de Biología, Sevilla, obtenidas a partir de bulbos recolectados en el campo, aunque las observaciones de la población de Olvera de *M. comosum* se han realizado en el campo, y los datos sobre polinización libre de una muestra de Algámitas de *M. atlanticum* se han obtenido igualmente en el campo. Para recuento de granos de polen de *M. neglectum* se ha utilizado material de herbario; para los otros dos taxones, material fresco o conservado en alcohol-acético (3:1). Las plantas utilizadas,

cuya procedencia se indica en el apéndice, se conservan en el herbario del Departamento de Botánica de Sevilla (SEV).

Para calcular la capacidad de reproducción por autogamia en polinización controlada (PC), se embolsaron inflorescencias enteras con bolsas de nylon para impedir el acceso de posibles agentes de polinización. En algunos casos se eliminaron las flores basales por encontrarse ya abiertas antes del embolsamiento. De cada muestra se dejaron varias plantas como testigo para que fueran visitadas libremente por los insectos. Este procedimiento mediante embolsado de plantas no indica realmente si las especies estudiadas presentan algún tipo de incompatibilidad genética, ya que no se han hecho polinizaciones artificiales, sino que muestra su capacidad para producir o no semillas en ausencia de polinizadores.

Para calcular la proporción entre producción de polen y de primordios seminales, se prepararon suspensiones del contenido de 2, 3 ó 6 anteras de cada flor en 1 cl de una mezcla de agua destilada con unas gotas de detergente, removiéndose a continuación con un agitador. De la dispersión resultante, se tomaron 5 ó 6 muestras de $5 \mu\text{l}$ y se contaron todos los granos de polen contenidos en cada una. El número medio obtenido, multiplicado por el factor de dilución y, en su caso, por el número de anteras, dividido por 6, que es el número de primordios producido por cada flor, mide la proporción polen/primordio seminal.

Para medir el tamaño del polen de *M. atlanticum*, se utilizaron dos muestras acetolizadas por el método de ERDTMAN (1960).

RESULTADOS

En el cuadro I se resumen los resultados obtenidos en polinización controlada (PC) y polinización libre (PL) de las muestras estudiadas. De las dos poblaciones de *M. atlanticum* incluidas en este cuadro, la de Algámitas ha sido estudiada cariológicamente por RUIZ REJÓN & al. (1986: 294), que encontraron $2n = 18$; la de Olvera, próxima a la anterior, presenta unos caracteres morfológicos idénticos, y aunque no se conoce aún su número cromosómico parece muy probable que sea también diploide.

Para la interpretación de los resultados hay que tener en cuenta que todas las muestras, salvo la de *M. comosum* de Olvera y una de *M. atlanticum* de Algámitas, fueron cultivadas en un jardín experimental en los límites del área urbana de Sevilla, en que cabe esperar que las visitas de agentes

Muestras	n.pl.	n.fl	n.fr.	% fruc.	n. sem.
<i>M. atlanticum</i>					
Algámitas (SE)					
PC	6	114	0	0	0
PL	1	17	3	17,65	-
PL*	5	69	45	65,52	-
Olvera (CA)					
PC	4	54	1	1,85	1
PL	2	28	11	39,28	-
<i>M. neglectum</i>					
Pto. de la Mora (GR)					
PC	4	23	0	0	0
PL	4	47	11	23,40	-
<i>M. comosum</i>					
Olvera (CA)					
PC	4	91	1	1,10	1
PC*	5	86	0	0	0
PL	4	142	9	6,34	-
PL*	13	423	232	54,85	-
Morón (SE)					
PC	4	28	0	0	0
PL	4	29	21	72,41	-

CUADRO I. Resultados obtenidos en polinización controlada (PC) y polinización libre (PL) en los taxones de *Muscari* estudiados. Para cada muestra se indica, tanto para PC como para PL, el número de plantas utilizadas (n. pl.), el número total de flores (n. fl.), el número de frutos producidos (n. fr.) y el porcentaje de fructificación (% fruc.). Para las plantas protegidas de los insectos (PC) se indica además el número de semillas producidas (n. sem.). Las muestras marcadas con asterisco (*) fueron estudiadas en el campo.

polinizadores no sean tan frecuentes como en las poblaciones naturales. Esto se pone claramente de manifiesto al comparar los porcentajes de fructificación (proporción de flores que han producido fruto bien formado) de las muestras estudiadas en el jardín experimental con las de las dos muestras estudiadas en el campo, en que el porcentaje de fructificación ha resultado ser notablemente más alto.

En las plantas embolsadas para polinización controlada, se ha indicado además el número de semillas producidas, que ha resultado ser, cuando las hubo, de una por fruto, mientras que en polinización libre se desarrollan para formar semillas algo más de la mitad de los primordios seminales de cada ovario. Al recolectarse las plantas utilizadas para que fueran libremente visitadas por los insectos (PL) y por tanto sin protección alguna, se habían perdido parte de las semillas por lo que no se ha incluido este dato en la columna correspondiente (n. sem.) del cuadro I.

De los datos expuestos en dicho cuadro se deduce que *M. atlanticum* se comporta como estrictamente alógamo, ya que solamente se ha producido 1 fruto con 1 semilla de las 10 inflorescencias embolsadas (PC), con un total de 168 flores, mientras que el porcentaje de frutos maduros producidos por las plantas testigo libremente polinizadas por insectos (PL) es de 57.73%, con un mínimo de 17,65% observado en una planta y un máximo de 81,25% de otra.

Como ha demostrado CRUDEN (1976, 1977), la proporción entre polen y primordios seminales producidos por las flores es un indicador claro del sistema de reproducción que opera en la planta. La proporción encontrada en *M. atlanticum* (Cuadro II), con un valor medio de 5.553,9 está claramente de acuerdo con los valores indicados por CRUDEN (1977: 279) para plantas alógamas, y coincide con su comportamiento reproductor deducido por los experimentos de polinización controlada.

Muestras	n. fl.	P/O (\bar{x})	\bar{x} de $\bar{x} \pm s$
<i>M. atlanticum</i>			
Olvera (CA)	4	4.666,2	
S ^a de las Nieves (MA)	2	6.441,6	
			5.553,9 \pm 1.255
<i>M. neglectum</i>			
Espejo (CO)	2	4.283	
Fuencaliente-Fuente Palmera (CO)	1	3.860,72	
El Gandul (SE)	2	4.316,65	
Sevilla-Mairena (SE)	1	6.399,36	
Villanueva del Ariscal (SE)	4	5.809,42	
			4.933,83 \pm 1.103
<i>M. comosum</i>			
Alcalá Guadaira (SE)	2	4.119,63	
Olvera (CA)	6	7.571,42	
Morón (SE)	2	5.442,85	
			5.711,3 \pm 1.741,46

CUADRO II. Producción de polen por cada primordio seminal. Se indica el número de flores utilizadas (n. fl.), la media de cada muestra (P/O, \bar{x}) y la media de las medias correspondientes a cada especie (\bar{x} de $\bar{x} \pm s$).

La proporción encontrada en *M. neglectum* (Cuadro II), con una media de 4.933,83 \pm 1.103 se aproxima a la de *M. atlanticum*, entrando perfectamente dentro de los valores que presentan las plantas alógamas, y confirmará los datos poco significativos, por el escaso número de flores estudiadas, obtenidos en los experimentos de polinización controlada (Cuadro I).

En cuanto a *M. comosum*, en polinización controlada muestra una ausencia casi total de autogamia, ya que se ha producido tan solo 1 fruto con

l semilla de un total de 205 flores embolsadas. Por el contrario, las plantas testigo han tenido siempre una alta proporción de frutos y semillas, lo que confirma que esta especie se comporta como alógama, como ponían de manifiesto los análisis electroforéticos y su síndrome floral (véase RUIZ REJÓN & al. 1985).

La relación polen/primordio seminal confirma el carácter alógamo de *M. comosum* y es semejante a la encontrada en *M. atlanticum* y *M. neglectum*.

Material	E ($\bar{x} \pm s$)	\bar{x} de $\bar{x} \pm s$
<i>M. atlanticum</i>		
Coripe	37.118 \pm 1.89	
S ^o de las Nieves	36.67 \pm 2.32	
		36.89 \pm 0.32
<i>M. neglectum</i> *		29.18 \pm 2.90
<i>M. comosum</i> *		43.58 \pm 2.21

CUADRO III. Tamaño del polen (en $\mu\text{m.}$) de los taxones incluidos en este trabajo, medido por el eje ecuatorial (E). *, tomado de DIEZ & PASTOR (1984: 353).

Durante los recuentos polínicos se apreció que el polen de *M. atlanticum* era de mayor tamaño que el de *M. neglectum* por lo que se midió el eje ecuatorial (E) en dos muestras acetolizadas. En el cuadro III se incluyen los resultados obtenidos en las dos muestras, y los tamaños encontrados en *M. neglectum* y *M. comosum* por DIEZ & PASTOR (1984:353), con polen acetolizado por el mismo método que el utilizado en esta nota. En este cuadro, la media de las medias de *M. atlanticum* se refiere a las dos muestras estudiadas, la de *M. neglectum* a cinco muestras, y la de *M. comosum* a tres muestras. Del cuadro III se deduce que los tres taxones difieren claramente por su tamaño polínico, no habiendo dificultad de separar, por su mayor tamaño, el polen de *M. atlanticum* del de *M. neglectum*.

DISCUSION

La existencia de un taxón rupícola diploide con $2n = 18$ cromosomas (*M. atlanticum*) y otro básicamente arvense y poliploide (*M. neglectum*, incl. *racemosum*) íntimamente relacionados, hacía sospechar que existieran diferencias entre el sistema de reproducción de ambos taxones, como podría deducirse de la mera comparación morfológica, ya que el perigonio de las

flores fértiles de *M. atlanticum* está ligeramente estrechado en la parte superior y presenta una abertura amplia (de 2,5-3,5 mm.), lo que parece indicar una mejor accesibilidad para los insectos, que en el perigonio de las flores fértiles de *M. neglectum* marcadamente estrechado en la parte superior y con una abertura más pequeña (de no más de 2 mm.). Sin embargo, los datos expuestos indican que no existen tales diferencias y que ambos taxones se comportan como alógamos.

Este parece ser el tipo de reproducción sexual normal en *Muscari*, ya que KARLÉN (1984: 104) comprobó que en ausencia de polinizadores, dos especies del E. del Mediterráneo no producían frutos (*M. kerkis* Karlén) o los producían en un bajísimo porcentaje (*M. pulchellum* Heldr. & Sart. ex Boiss). Por los datos de que se dispone, la única especie autógama de este género es *M. matritensis*, en que los síndromes florales que acompañan a su sistema de reproducción han conducido a reconocerla como especie independiente (RUÍZ REJÓN & al., 1985).

Hay una diferencia significativa en la capacidad de multiplicación vegetativa entre *M. atlanticum* y *M. neglectum*. Los bulbos de *M. atlanticum* no presentan bulbillos o tienen 1 ó 2 bulbillos de multiplicación, mientras que los bulbos de *M. neglectum* tienen normalmente una activa multiplicación vegetativa mediante la producción de numerosos bulbillos, de los que se han contado hasta 60 en plantas de Villanueva del Ariscal (Sevilla). Este incremento de multiplicación vegetativa compensaría en las poblaciones poliploides la posible pérdida de fertilidad que frecuentemente acompaña a los poliploides. Por otra parte, la alta producción de bulbillos de multiplicación faculta a *M. neglectum* para comportarse como una planta arvense de gran capacidad colonizadora, a lo que debe sin duda el que haya podido extenderse por un área geográfica muy amplia.

Además de las diferencias en multiplicación vegetativa y de morfología de las flores fértiles, las plantas de *M. atlanticum* estudiadas difieren de las de *M. neglectum* por el tamaño de dichas flores, de 5-7 mm. de longitud en *M. atlanticum* y de 4,5-6 mm. en *M. neglectum*, por el color de las túnicas externas de los bulbos, oscuras, casi negras, en *M. atlanticum* y pardas en *M. neglectum*, y por la coloración de las flores estériles, mucho más pálidas que las fértiles y normalmente azules en *M. atlanticum*, mientras que son más o menos concoloras con las fértiles en *M. neglectum*. Difieren además por el tamaño de polen (Cuadro III).

Los caracteres observados en las poblaciones de Algámitas y Olvera difieren marcadamente de los asignados por GARBARI (1974: 116; 1984: 154) a plantas italianas atribuidas a *M. atlanticum* y para las cuales GARBARI

(1984: 144-149) asigna, al igual que a *M. neglectum*, niveles de ploidía superiores al diploide, lo que pone de manifiesto que las plantas italianas y las diploides del S. de España pertenecen a taxones diferentes.

Las diferencias morfológicas por las que separa GARBARI (1. c.) las plantas de *M. neglectum* de su *M. atlanticum* han sido observadas en las poblaciones españolas de *M. neglectum*. Sin embargo, la separación de dos grupos de poblaciones, que podrían corresponder a *M. neglectum* s. s. y a *M. racemosum*, no resulta fácil. En cualquier caso, el nombre de *M. atlanticum* debe reservarse a las plantas diploides del S. de España y N. de África, marcadamente distintas a las italianas.

APENDICE

Procedencia de las plantas utilizadas en este trabajo, con indicación de localidad, fecha de recolección y recolectores.

Muscari atlanticum Boiss. & Reuter.

Cádiz: Olvera, Peñón de Zaframagón, 15.IV.1986. *Mejías & Valdés* (SEV 120993).

Málaga: Sierra de las Nieves, IV. 1986, *Cobos* (SEV).

Sevilla: Algámitas, Peñón de Algámitas, 6.IV.1986, *Mejías* (SEV 1200992).

Muscari comosum L. (Miller).

Cádiz: Olvera, 5.VI.1986, *Mejías & Muñoz* (SEV 120994).

Sevilla: Alcalá de Guadaira, V.1986, *Valdés* (SEV); Morón, 15.IV.1986, *Mejías & Valdés* (SEV 120995).

Muscari neglectum Guss.

Córdoba: Espejo, 13.IV.1974, *Cabezudo* (SEV 18792). Entre Fuencubierta y Fuente Palmera, 16.III.1979, *Muñoz & Varela* (SEV 82000).

Granada: Puerto de la Mora, 3.V.1986, *Ruiz Rejón* (SEV 120996).

Sevilla: El Gandul, 26.II.1974, *Candau, Soler & González* (SEV 74984). Entre Sevilla y Mairena del Alcor, 13.III.1975, *Ruiz de Clavijo* (SEV 81236). Villanueva del Ariscal, 4.IV.1985. *Mejías & Valdés* (SEV 120997).

BIBLIOGRAFIA

- BARROS NEVES, J. (1973) Contribution à la connaissance cytotaxinomique des Spermatophyta du Portugal. *Bol. Soc. Brot.*, 2ª ser. **47**: 157-212.
- BOISSIER, E. & G.-F. REUTER (1852) *Pugillus Plantarum novarum Africae, Borealis Hispaniaeque Australis*. Genevae.
- BURDET, H. M., A. CHARPIN & J. JACQUEMOUD (1982) Types nomenclaturaux des taxa ibériques décrits par Boissier ou Reuter. II. Iridacées à Potamogetonacées. *Candollea* **37**: 381-395.

- CRUDEN, R. W. (1976) Intraspecific variation in pollen-ovule ratios and nectary secretion. Preliminary evidence of ecotypic adaptation. *Ann. Missouri Bot. Gard.* **63**: 277-289.
- ____ (1977) Pollen-ovule ratios: a conservative indicator of breeding systems in flowering plants. *Evolution* **31**: 32-46.
- DAVIS, P. H. & D. C. STUART (1980) Muscari Miller in T. G. TUTIN & al. (eds.) *Flora Europaea* **5**: 46-49. Cambridge University Press. Cambridge.
- ____ & D. C. STUART (1984) Muscari Miller in P. DAVIS (ed.) *Flora of Turkey* **8**: 245-263. Edinburgh University Press. Edinburgh.
- DIEZ, M. J. & J. PASTOR (1985) Contribución al estudio del polen y semillas de la tribu Scilleae (Liliaceae) en Andalucía Occidental. *Anales Jardín Bot. Madrid.* **41**: 351-360.
- ERDTMAN, G. (1960) The acetolysis method. *Svensk. Bot. Tidskr.* **54**: 556-564.
- GARBARI, F. (1974) Muscari in S. PIGNATTI (ed.) *Flora d' Italia* **3**: 376-377. Edagricole, Bologna.
- ____ (1984) Some karyological and Taxonomic Remarks on the Italian Muscari (Liliaceae). *Webbia* **38**: 139-164.
- KARLEN, T. (1984) Muscari pulchellum (Liliaceae) and associated taxa in Greece and W. Turkey. *Willdenowia* **14**: 89-118.
- LIDÉN, M. (1980) New and noteworthy species in Spain. *Lagasalia* **9**: 131-135.
- LOVE, A. & E. KJELLQVIST (1973) Cytotaxonomy of Spanish plants II. Monocotyledons. *Lagasalia* **3**: 147-182.
- RUIZ REJÓN, M. (1976) in A. LOVE (ed.) IOPB Chromosome number reports LII. *Taxon* **25**: 341-342.
- ____ & J. L. OLIVER (1978) Números cromosómicos para la flora española. Números 45-83. *Lagasalia* **8**: 113-117.
- ____, L. PASCUAL, C. RUIZ REJÓN & J. L. OLIVER (1981) Números cromosómicos para la flora española. Números 240-244. *Lagasalia* **10**: 247-252.
- ____, L. PASCUAL, C. RUIZ REJÓN, B. VALDÉS & J. L. OLIVER (1985). A new species of Muscari subgenus Leopoldia from the Iberian Peninsula. *Biochem. Syst. Ecol.* **13**: 239-250.
- ____, R. LOZANO & M. RUIZ REJÓN (1986) Números cromosómicos para la flora española. Números 479-484. *Lagasalia* **14**: 292-297.
- SAÑUDO, A. & M. RUIZ REJÓN (1975) Sobre la naturaleza autoploide de algunas plantas silvestres. *Anales Inst. Bot. Cavanilles* **32**: 633-648.
- STUART, D. C. (1970) Chromosome numbers in the genus Muscari. *Notes Royal Bot. Garden Edinb.* **30**: 189-196.
- VALDÉS, B. (1970) Números cromosómicos de algunas plantas españolas. *Bol. Soc. Esp. Hist. Nat. (Biol.)* **68**: 193-197.