



PALINOLOGÍA DE ANGIOSPERMAS DEL ESTADO DE GUANAJUATO

José Armando Avila-González¹, Karen Andrea Garnica-Palafox¹, Fátima Andrea Jacobo-Zamarripa¹, Silvia Judith Quintana-Rojas¹, Fernanda Yatsuri Amaro-Meza¹, Alondra Natalie Ramírez-Olvera¹, Suria Gisela Vásquez-Morales²

¹Licenciatura en Biología Experimental, División de Ciencias Naturales y Exactas. Universidad de Guanajuato

²Departamento de Biología, División de Ciencias Naturales y Exactas. Universidad de Guanajuato.
sg.vasquez@ugto.mx

Resumen. La palinología es la disciplina que estudia los granos de polen. El polen está constituido por una membrana interna (protoplasma) y una externa (exina), esta última presenta diferentes ornamentaciones que determinan la taxonomía de la especie y su relación con el polinizador. Esto es importante debido a que las angiospermas presentan una estrecha relación simbiótica con sus polinizadores. El objetivo de este estudio fue caracterizar el polen de las angiospermas representativas de tres sitios: Área Natural Protegida Sierra de Lobos, Jardín Botánico El Charco del Ingenio, y jardines de la División de Ciencias Naturales y Exactas (DCNE) a través de la realización de diagramas florales y fotografías de polen bajo diferentes aumentos en microscopio óptico y tres filtros de fluorescencia.

Palabras clave: Fluorescencia; Ornamentación; Polen; Polinizadores; Taxonomía.

PALYNOLOGY OF ANGIOSPERMS IN THE STATE GUANAJUATO

Abstract. Palynology is the discipline which studies pollen grains. Pollen is constituted by an intern membrane (protoplasm) and an extern one (exine), the last one presents different ornamentations that determines its pollinator relation and taxonomy. This is important because angiosperms show a close symbiotic relationship with their pollinators. The objective of this study was to characterize the pollen of angiosperms representative of three sites: Protected natural area Sierra de Lobos, Botanic Garden El Charco del Ingenio and gardens in Division of Natural Sciences and Exactas (DNSE) through floral diagrams and pollen photographs under different magnifications on light microscopy and three fluorescens filters.

Keywords: Fluorescence; Ornamentations; Pollen; Pollinators; Taxonomy.



1. Introducción

La palinología, es una disciplina que estudia los granos de polen, esporas, y cualquier palinomorfo actual o fósil (Orozco *et al.* 2019). El estudio del polen contribuye a la taxonomía de las angiospermas, además, estudia la naturaleza de los contaminantes biológicos, el ensamble de las especies a través del tiempo, entre otros (Torres, 1992). El polen, figura 1, es la célula gamética masculina producida por las plantas y su función primaria es la reproducción sexual; se forma en las anteras, es tricelular (una célula vegetativa que formara el tubo polínico y dos células espermatocíticas), es haploide y su tamaño se divide en muy pequeño ($<1\mu\text{m}$), pequeño ($10\text{-}25\mu\text{m}$), mediano ($26\text{-}50\mu\text{m}$), grande ($51\text{-}100\mu\text{m}$) y muy grande ($>100\mu\text{m}$), no obstante, cada uno tiene una forma y ornamentación única que dependerá de la especie.

Están constituidos por una membrana interna (protoplasma) y una externa (exina) que se constituye de esporopolenina, un polisacárido complejo de carotenoides y ésteres carotenóicos que es resistente a bases y ácidos fuertes, lo

que les confiere una alta resistencia que les permite soportar altas temperaturas, así como condiciones ambientales adversas (Torres, 1992).

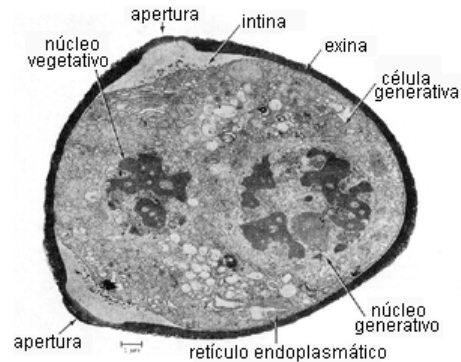


Figura 1. Diagrama general de un grano de polen. Tomado de Esau, 1982.

La caracterización del polen se basa en determinar las diferentes morfologías y ornamentaciones exhibidas por la exina. Aunado a ello, el estudio del polen es necesario para determinar la cantidad, calidad y viabilidad de este, y, por consiguiente, la reproducción y supervivencia de las angiospermas (Orozco *et al.* 2019). La transferencia del polen desde las anteras de una flor hacia los estigmas de ésta o de otra flor es denominado polinización, y es un proceso de vital importancia para la supervivencia de las angiospermas (Ashworth *et al.* 2009). La polinización se realiza mediante factores abióticos como el viento o el agua, así como de vectores bióticos



denominados polinizadores, como lo pueden ser algunos insectos como las mariposas y abejas; aves como los colibríes, inclusive algunos mamíferos como los murciélagos. La mayoría de los polinizadores buscan alimento en el néctar y polen de las flores (Ashworth *et al.* 2009). Las flores presentan variedades de forma, coloración y aromas que sirven para atraer a los polinizadores como dispensadores (UPR, 2012). Los polinizadores son sensibles a frecuencias de luz que son invisibles para el ser humano. Las flores generan combinaciones de ciertos pigmentos vegetales con diversos patrones de fluorescencia que pueden operar a modo de señal y guía para los polinizadores. Las betaxantinas que son de color amarillo, bajo luz normal blanca, emiten fluorescencia verde visible. Abejas y murciélagos que son sensibles a la luz verde, podrían ser atraídas hacia esas flores, así como hacia las betacianinas de color violeta. La relación que hay entre la polinización y la fluorescencia es parte de la interacción simbiótica, debido a que los organismos polinizadores, como los insectos, son dependientes estrictos del fenómeno de fluorescencia como una señal

para ubicar el polen (García *et al.* 2011). El objetivo de este estudio fue caracterizar el polen de las angiospermas representativas de tres sitios: Área Natural Protegida Sierra de Lobos, Jardín Botánico El Charco del Ingenio y jardines de la DCNE a través de la realización de diagramas florales y fotografías de polen bajo diferentes aumentos en microscopio óptico y tres filtros de fluorescencia.

2. Metodología

Sitios de estudio. Se tomaron en cuenta tres sitios de la región sur del estado de Guanajuato que cuentan con variedad de angiospermas, con la finalidad de identificar y hacer un análisis palinológico, en donde se confirme la emisión de fluorescencia en la exina del polen, así como comparar la vegetación y tipo de polen que hay entre de cada sitio (dos sitios con vegetación nativa y conservada y un sitio con vegetación introducida y ornamental). El primer sitio de donde se obtuvieron muestras fue el Área Natural Protegida Sierra de Lobos, ubicada entre los municipios de León, San Felipe, Ocampo y Silao, en un ecosistema de matorral xerófilo y área conservada. Aquí se encontraron algunas especies



como *Opuntia* sp y *Verbesina* sp. El segundo sitio fue el Jardín botánico El charco del ingenio, en San Miguel de Allende, que cuenta con una gran colección de cactáceas y flora nativa de la región. De igual manera es un ecosistema de matorral xerófilo conservado. El tercer sitio fueron los jardines de la DCNE, campus Guanajuato, Universidad de Guanajuato, donde encontramos variedad de flores principalmente vegetación introducida con uso ornamental.

Selección de Individuos. Las salidas de campo a los sitios se realizaron en el mes de junio de 2022. Se revisaron las especies que habitan en los sitios de estudio, que estaban cercanas o en anthesis (con presencia de flores). Se procedió a la identificación de la especie mediante la consulta de la Base de datos y la ficha técnica (SMAOT, 2020).

Colecta de muestra floral y palinológica. Se revisó la planta, se observó y contó la cantidad de flores presentes. Se seleccionaron las flores en mejor estado y con color más nítido y brillante. Se ubicó la flor de interés y la colecta se realizó mediante un corte, de una pulgada aproximadamente, debajo de la base de la

flor, conservando un poco de tallo. La muestra o flor se colocó en una bolsa de papel etiquetada y se metió en un contenedor hermético que contenía perlas de sílica gel para su secado. Las anteras de flores prominentes se colectaron directamente en campo, mediante pinzas de disección y se almacenaron en tubos eppendorf de 2.5 mL.

Revisiones microscópicas. En el Laboratorio de Botánica e Invertebrados (Departamento de Biología de la DCNE) se sometió cada flor a luz ultravioleta para detectar las huellas florales. Mediante el uso de estereoscopios, se separaron las partes de cada flor para obtener las anteras aisladas y colectar los granos de polen. Los granos de polen se observaron bajo el microscopio compuesto a 10X, 40X o 100X, posteriormente se tiñeron con rosa fucsina para tener un mejor contraste; también se revisaron en el MF a 40X. De cada muestra se tomaron fotografías y se realizó la descripción palinológica tomando como guía el manual Illustrated Pollen Terms, 2020 Paldat (Paldat, 2020), la base de datos paldat.org y el glosario de términos palinológicos (Sáenz, 2004), destacando las siguientes características: forma, superficie y ornamentación,



sistema apertural, número de aperturas y tamaño. De las muestras se describió la morfología general de cada grano en microscopía óptica, mientras que con microscopía de fluorescencia (MF) se observó la emisión de fluorescencia bajo tres filtros: GFP, DsRed y DAPI (verde, rojo y azul, respectivamente).

Polinizadores. Se revisó cada flor con el objetivo de buscar polinizadores. La colecta de los polinizadores se realizó utilizando pinzas y se colocó en un vial individual con alcohol al 70%, se etiquetó la muestra con la siguiente información: planta en donde se realizó la colecta y lugar de la flor donde estaba. Se revisó el polinizador bajo un estereoscopio para tomar el polen contenido en la superficie de su cuerpo, así como del filtrado del alcohol, y se sometió a microscopía, identificando el tipo de polen y la especie de planta a la que pertenece. Y finalmente se identificó al polinizador.

3. Resultados

Se colectaron 4 muestras de flores en el ANP Sierra de Lobos (Fig. 2A), destacándose el género *Opuntia* (A1, A2 y A4). En el Jardín Botánico se colectaron 5 muestras (Fig. 2B) en donde se colectó la

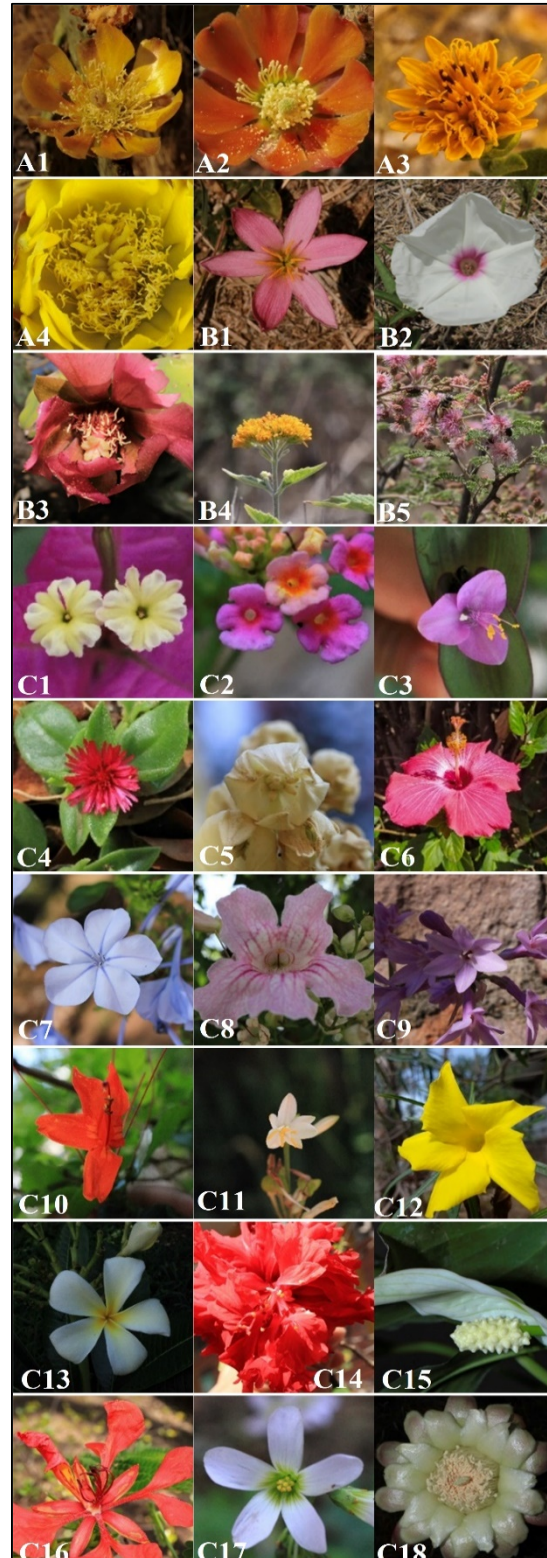


Figura 2. Distintas muestras florales colectadas.



única inflorescencia globosa (B5) y en los jardines de la DCNE se colectaron 18 muestras (Fig. 2C), donde había una mezcla de plantas nativas y ornamentales. Con base en el manual de PalDat (Paldat, 2020) se revisaron las generalidades del polen y con el glosario, se describieron las ornamentaciones (Sáenz, 2004). Prevalcieron los granos de polen de forma esférica con 23 especies, además, se encontró una especie con forma de bote, una especie con forma irregular, una ovalada y una con forma monosacciforme. Dentro de los esféricos se encontraron seis porados, seis colporados, ocho colpados, uno plicado y uno ulcerado. Por otro lado, la especie con polen de bote y la ovalada son de tipo sulcado, y la especie de polen irregular es de tipo tétrada (Tabla 1).

Además, se colectó el escarabajo *Euphoria basalis* dentro de la flor de *Ipomoea* sp.

Tamaño. En las angiospermas, con el objetivo final de optimizar la polinización, independientemente del modo especialista (polinizadores específicos para cada especie vegetal) o generalista (polinizadores de varias especies vegetales), se demostró que la evolución floral conlleva en primer lugar un aumento

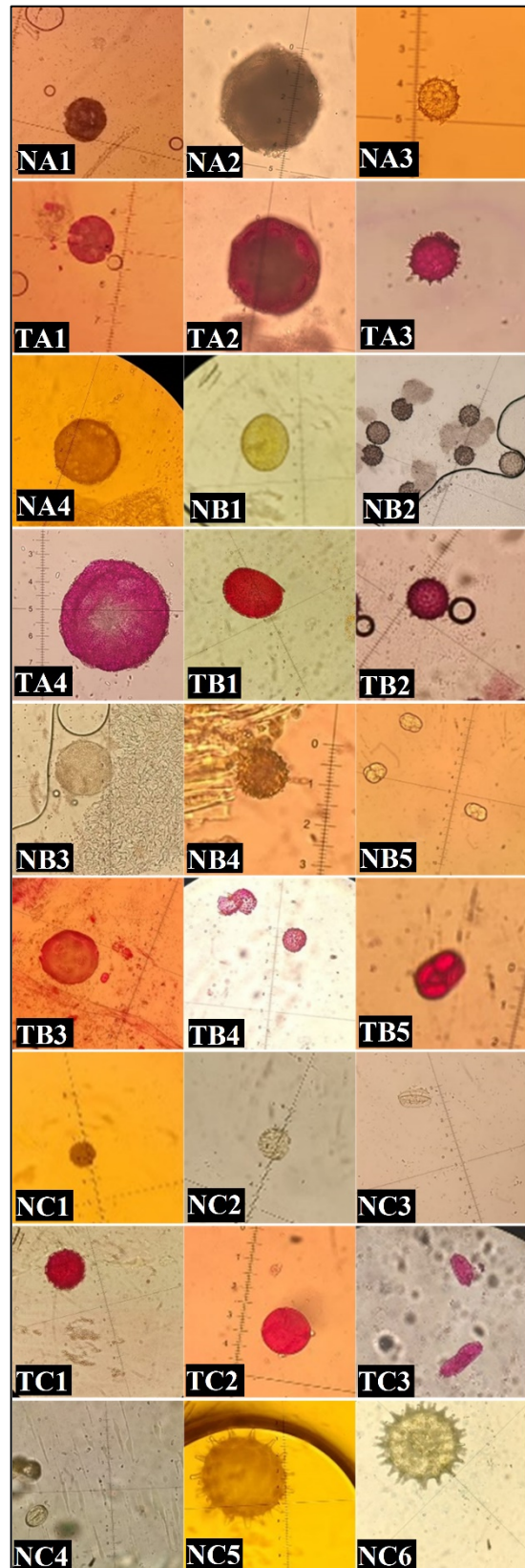


Figura 4. Microscopia de luz (NX0) y teñido con rosa fucsina (TX0)

del atractivo para los polinizadores, por lo que se han desarrollado diversas morfologías florales, aromas, colores, incremento o decremento en el tamaño o en número floral (Waser, 1983; Fornero *et al.* 2012). Dichos caracteres han evolucionado para atraer a los polinizadores y, al realizarse la visita floral, se genera la adhesión del polen con el cuerpo del visitante, por consiguiente la polinización es una interacción simbiótica.

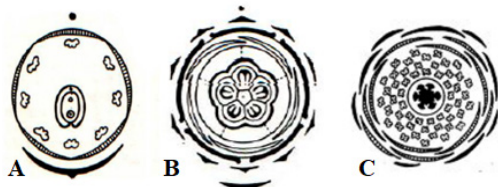


Figura 3. Diagramas florales de diversas morfologías. Tomado de Freire, 2016

En la interacción planta-polinizador, el acople de los rasgos morfológicos podría representar una alta calidad en el servicio de polinización de comunidades vegetales y un alto aprovechamiento en el uso de los recursos (Dohzono *et al.* 2011). La representación esquemática de la flor nos permite comparar las diferencias morfológicas de las diversas especies. La flor de *Bougainvillea* es zigomorfa con los pétalos fusionados, ver diagrama floral en la Fig. 3A. Las flores de *Hibiscus* y *Opuntia* son actinomorfas, la primera con

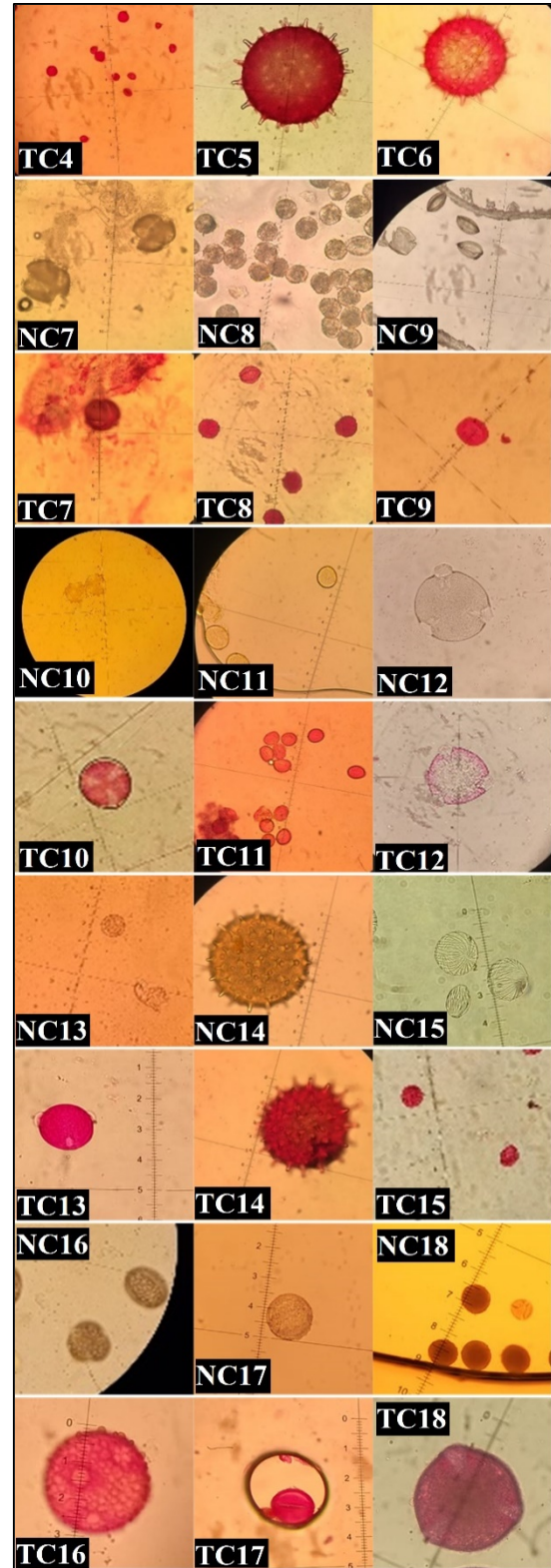


Figura 4. Microscopia de luz (NX0) y teñido con rosa fucsina (TX0)



fusión en el estigma y pétalos y la segunda tiene múltiples pistilos (Fig. 3 B, C).

Nuestros resultados sugieren una relación directa entre el tamaño de la flor y el tamaño del polen, las flores de mayor tamaño presentaban un polen en la categoría de muy grande ($>100\ \mu\text{m}$) (ej., *Hibiscus*, *Yucca*, *Opuntia* y *Ipomoea*). Por el contrario, las flores de menor tamaño presentaban un polen pequeño o mediano, de $<50\ \mu\text{m}$ (ej., *Mimosa*, *Mesembryanthemum* y *Lantana*).

Los estudios palinológicos son ampliamente utilizados para la identificación taxonómica de familias, géneros e incluso especies vegetales que resultan complicadas de identificar por su morfología externa (González & Valero, 2018). En las áreas de estudio donde se llevó a cabo la recolecta de flores se encontraron varias plantas de la familia Cactaceae (Fig 2.) y, al ser revisadas en fluorescencia, las especies pertenecientes a este taxón emiten en los 3 filtros, por lo que se puede decir que son especies con polinizadores generalistas. Se encontraron diferencias en el polen de las cactáceas principalmente en tamaño, número de aperturas, tipo de aperturas y su

ornamentación (ver tabla 1). Por ejemplo, los géneros *Opuntia* y *Cylindropuntia sp* poseen más de 6 aperturas de tipo Porus (Fig. 5, A1, A2, A4, B3), mientras que para la especie *Stenocereus queretaroensis* se observaron 3 aperturas (Fig.4, TC18), siendo estas de tipo Colpus.

La única especie en presentar granos no unitarios corresponde a *Mimosa borealis* (Fig. 4, TB5), la cual presenta granos en tétradas. Un aspecto particular de las estructuras reproductivas de Mimosoideae es que el polen es liberado, en la mayoría de las especies, en unidades permanentemente compuestas que reciben el nombre general de políades (Taisma, 2007).

Ornamentaciones. Existen diversas morfologías del polen, entre los cuales están los equinados que se caracterizan por presentar espinas o aguijones como en *Ipomoea* (Fig.4, NB2), que a su vez se diferencian entre ellos mismos, unos por presentar aguijones cercanos, con una punta más ancha o redondeada, como lo son los pilos en *Yucca* (Fig.4, TC5), con aguijones o báculos más largos como en *Hibiscus* (Fig. 4, TC6, NC14), sin embargo, también llegan a presentarse con aguijones



separados y que son micro espínulas por ejemplo en *Verbesina* (Fig. 4,TA3,NB4). Estas diferencias dependen de las especies y de la coevolución presentada con sus polinizadores. Gracias a la fluorescencia se pueden observar las diferencias en ornamentación del género *Opuntia* (Fig. 5,A1,A2,A4), siendo A1 el que mayor diferencias presenta debido a que se aprecia un contorno grueso negrozco que podría indicar una ornamentación lofada, la cual ha sido reportada en el género, mientras que para A2 y A4 se muestra una ornamentación psilada.

Fluorescencia. Se revisaron solamente 18 muestras en los filtros de fluorescencia, debido a clausuras de laboratorio por infecciones de SARS-CoV-2. La única especie que no presentó fluorescencia en ningún filtro fue *Hibiscus sabdariffa* (Fig. 5,C6) y de las dos especies del género *Verbesina*, la segunda no presentó fluorescencia en el filtro azul. En la bibliografía se reporta que el género *Lantana* presenta 3 aperturas, en este trabajo se encontraron granos con 4 aperturas (Fig. 5,C2), fueron perceptibles solamente en la MF, por lo que pudiera ser

una posible hibridación/mutuación. Es destacable que los báculos del polen de *Hibiscus* (Fig.5,C6) si presentan transmisión de luz en contraste con el interior del grano, mientras que las demás estructuras eran uniformes con la fluorescencia del grano, esto se nota considerablemente en el polen de *Yucca* (Fig.5,C5) que comparte características morfológicas y son de tamaño similar.

La MF es una herramienta necesaria para el estudio del polen, debido a que, a diferencia de la microscopia de luz, nos permite observar mejor y distinguir algunas ornamentaciones más sencillas, como en el caso de *Zephyranthes fosteri* (Fig.5,B1), donde el patrón de la superficie se puede apreciar mejor, en este caso reticulado. Aunado a ello, en la MF, habiendo un mayor contraste en el grano se puede distinguir con mayor facilidad la apertura del poro (Fig.5,A4, B1, C2, C8).

Por lo anteriormente mencionado y lo revisado en microscopía, podríamos decir que el grano de polen está adaptado para el polinizador, generando estructuras accesorias y, un tamaño adecuado que le permitirá ser transportado fácilmente.



Tabla 1. Caracterización del polen

Muestra	Nombre	Forma	Tamaño (µm)	Clase	Apertura #	Apertura Tipo	Ornamentación
ANP Sierra de Lobos							
A1	<i>Opuntia sp 1</i>	Esférica	140	Porado	>6	Porus	Psilado
A2	<i>Opuntia sp 2</i>	Esférica	115	Porado	>6	Porus	Psilado
A3	<i>Verbesina sp 1</i>	Esférica	30	Colporado	3	Colporus	Equinado
A4	<i>Opuntia robusta</i>	Esférica	95	Porado	>6	Porus	Psilado
Jardín Botánico El Charco del Ingenio							
B1	<i>Zephyranthes fosteri</i>	Ovalada	88	Sulcado	1	Sulcus	Reticulada
B2	<i>Ipomoea squamosa</i>	Esférica	110	Lofado	>6	Porus	Equinado
B3	<i>Cylindropuntia sp</i>	Esférica	87	Colpado	>6	Porus	Psilado
B4	<i>Verbesina sp 2</i>	Esférica	35	Colporado	3	Colporus	Equinado
B5	<i>Mimosa borealis</i>	Irregular	15	Tétrada	0	Sin apertura	Psilado
DCNE							
C1	<i>Bougainvillea buttiana</i>	Esférica	30	Colpado	3	Colpus	Rugoso
C2	<i>Lantana camara</i>	Esférica	38	Colporado	4	Colporus	Psilado
C3	<i>Tradescantia pallida</i>	De bote	50	Sulcado	1	Sulcus	Fosulado
C4	<i>Mesembryanthemum cordifolium</i>	Esférica	18	Colpate	3	Colpus	Gemmado, escabrado, verrugoso
C5	<i>Yucca sp</i>	Esférica	125	Porada	>6	Porus	Equinado
C6	<i>Hibiscus sabdariffa</i>	Esférica	158	Porada	>6	Porus	Equinado
C7	<i>Plumbago auriculata</i>	Esférica	63	Colpado	3	Colpus	Porado, rugoso
C8	<i>Podranea ricasoliana</i>	Esférica	38	Colpado	3	Colpus	Crotonado
C9	<i>Tulbaghia violacea</i>	Esférica	43	Ulcerado	1	Ulcus	Psilado
C10	<i>Tecomaria sp</i>	Esférica	46	Colpado	3	Colporado	Reticulado
C11	<i>Chlorophytum sp</i>	Monosacciforme	37	Sulcado	1	Sulcus	Granulado
C12	<i>Thevetia peruviana</i>	Esférico	115	Colporado	3	Porus	Granulado
C13	<i>Plumeria alba</i>	Esférica	30	Colporado	3	Porus	Psilado
C14	<i>Hibiscus sp</i>	Esférica	157	Porado	>6	Poros	Equinado
C15	<i>Spathiphyllum wallisii</i>	Esférica	38	Plicado	0	Sin apertura	Plicado
C16	<i>Delonix regia</i>	Esférica	68	Colporado	3	Colporus	Reticulado
C17	<i>Oxalis livida</i>	Esférica	39	Colpado	3	Colpus	Psilado
C18	<i>Stenocereus queretaroensis</i>	Esférica	75	Colpado	3	Colpus	Psilado