



*IZTAPALAPA*

**Morfología del polen, su relación con el estigma y sus implicaciones  
en la biología reproductiva del género *Mimosa* (Leguminosae)**

**TESIS**

**Que para obtener el grado de**

**Maestro en Biología**

**PRESENTA**

**Biól. Eduardo Laurent Martínez Olivares**

**Directora: Dra. Rosaura Grether González**

**Julio, 2014**

**La Maestría en Biología de la Universidad Autónoma Metropolitana pertenece al Padrón de Posgrados de excelencia del CONACyT**

**Esta tesis se realizó en el laboratorio de Biosistemática de Leguminosas, del Departamento de Biología, de la Universidad Autónoma Metropolitana Iztapalapa, bajo la tutoría de:**

**Dra. Rosaura Grether González (Directora)**

**Dra. Sara Lucía Camargo Ricalde (Asesora)**

**M. en C. Angélica Martínez Bernal (Asesora)**

**El jurado designado por la  
División de Ciencias Biológicas y de la Salud  
de la Unidad Iztapalapa aprobó la tesis que presentó**

**Eduardo Laurent Martínez Olivares**

El día 9 de Julio de 2014

**Comité tutorial**

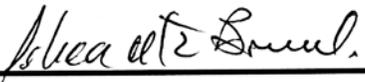
**Directora:** Dra. Rosaura Grether  
González

  
\_\_\_\_\_

**Asesora interna:** Dra. Sara Lucía  
Camargo Ricalde

  
\_\_\_\_\_

**Asesora interna:** M. en C. Angélica  
Martínez Bernal

  
\_\_\_\_\_

**Sinodal:** Dra. Guadalupe Judith  
Márquez Guzmán

  
\_\_\_\_\_

**Sinodal:** Dra. María Hilda Flores  
Olvera

  
\_\_\_\_\_

## **Agradecimientos**

### **A mis padres**

Por todo el cariño, los consejos, el apoyo incondicional y sobre todo la paciencia para ayudarme a alcanzar y lograr mis metas.

### **A mis queridos hermanos**

Cada uno con su forma de apoyarme de aconsejarme de quererme, que en casi ningún momento dejaron de demostrarme el cariño y el amor que me tienen.

**Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT), por la beca otorgada para la realización de mi proyecto de tesis de Maestría (CVU: 328534 / Becario: 233571).**

A la Universidad Autónoma Metropolitana-Iztapalapa, por la beca otorgada para realizar y culminar este trabajo.

A la Dra. Rosaura Grether por ser mi guía, consejera y una honorable directora de quién siempre recibí apoyo para lograr todas mis metas y que nunca dejo de creer en mi potencial para lograr lo que me proponía.

A la Dra. Sara Camargo por el apoyo incondicional como asesora y consejera, ante todos retos que se presentaron en el camino para lograr culminar mi trabajo y desarrollarme como una persona paciente y honorable.

A la M. en C. Angélica Martínez por ser parte importante en mi formación y el apoyo incondicional en mi trabajo de tesis.

Al Dr. José David Sepúlveda Sánchez por el la supervisión, el apoyo y consejos ante el trabajo de mi tesis parte importante que me permitió desarrollar técnicas clave en este trabajo, en el Laboratorio de Microscopía Electrónica de Barrido de Ciencia y Tecnología Ambiental (CyTAM), UAM-Iztapalapa.

A la Dra. Judith Márquez Guzmán por su amistad, por ser una guía importante en el desarrollo de este trabajo y su ánimo para lograr alcanzar las metas propuestas, además del incondicional recibimiento para el desarrollo de las técnicas histológicas en el Laboratorio de Desarrollo de Plantas de la Facultad de Ciencias, Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM).

A la Dra. Edith Cortés Barberena y a la Dra. Alda Rocío Ortiz Muñoz, que gracias al apoyo y colaboración en el Laboratorio de Biología Celular y Citometría de Flujo, del Departamento de Ciencias de la Salud de la UAM-Iztapalapa, me permitieron desarrollar técnicas novedosas y su apoyo incondicional en el trabajo de laboratorio, así como, ser parte de mi formación académica.

A la Dra. Lourdes Georgina Iglesias Andreu, por su grata bienvenida en una nueva ciudad, además de, sus acertados consejos en el desarrollo de las técnicas de Viabilidad y germinación de los granos de polen, en el Instituto de Biotecnología y Ecología Aplicada de la Universidad Veracruzana, campus Xalapa.

A la Dra. María Félix Ramos por brindarme apoyo incondicional en cada momento del desarrollo de mi tesis, por su paciencia y amistad y por todo el trabajo invertido en mí de manera incondicional.

A la M. en F. Ana Isabel Bieler por su amistad, consejo y apoyo en el desarrollo de nuevas habilidades y el conocimiento de elementos importantes para la obtención de las fotomicrografías

que ilustran parte de este trabajo, desarrollado en el laboratorio de Microcine de la Facultad de Ciencias de la UNAM.

M. en C. Mónica Pérez de la Facultad de Ciencias, UNAM, por brindarme su apoyo, consejo, tiempo y todo el esfuerzo dedicado en mi formación en el área anatómica, además de brindarme su agradable trato y su amistad.

A la M. en B. Dafne Zárate, mi compañera y amiga incondicional que siempre me apoyo con sus consejos me animo cada día para seguir el camino y alcanzar mis metas.

A la M. en B. Susana Montaña por ofrecerme su amistad y consejo incondicional, así como del gran apoyo en el trabajo de campo para lograr culminar este trabajo.

Y por último a todos esos compañeros amigos, colegas y profesores de la UAM-I, que siempre mostraron un gran interés y disposición en acompañarme, apoyarme, aconsejarme y sobre todo darme ánimos cuando más los necesitaba.

## Resumen

Los granos de polen en *Mimosa*, se asocian en: tétrades, bitétrades y políades de 12-16 granos, que varían en tamaño y morfología, características relacionadas con la forma y la profundidad del estigma. El objetivo de este trabajo es mostrar la relación entre la forma y tamaño de polen y el tipo de estigma. Se colectaron inflorescencias con flores en antesis y en botón floral, y ramas con frutos de 3 individuos de cinco especies: *Mimosa camporum*, *M. benthamii* var. *benthamii*, *M. luisana*, *M. pigra* var. *pigra* y *M. quadrivalvis* var. *quadrivalvis*. Comparativamente, se analizó la morfología del polen y el estigma con técnicas anatómicas, microscópicas de luz y electrónica de barrido; la morfometría de las inflorescencias y flores; y la viabilidad, producción y germinación del polen. El número de flores varía entre 30 y 280 por inflorescencia; la producción del polen es de 542-1142 políades/antera; la viabilidad del polen no mostró variación entre los tratamientos de Acetocarmín, Lugol y Azul de algodón; la germinación se observó sólo en un medio de cultivo, con una longitud del tubo polínico de ca. 5µm. La forma del estigma varía entre las especies, y se observaron cuatro tipos: oblicuamente crateriforme, poriforme, tubular y cupuliforme, que se relacionan directamente con el tamaño de las asociaciones del polen (8-35µm) y con la cantidad de políades que puede captar cada estigma. También, se registró el número de frutos/inflorescencia y semillas/fruto como una estimación del éxito reproductivo. Se observaron 3 estrategias reproductivas: a) Xenogamia no facultativa en *M. benthamii* var. *benthamii*, con antesis asincrónica en una misma inflorescencia, estambres y gineceo de igual longitud; *M. luisana*, con antesis hemisincrónica en una inflorescencia, con estambres más cortos que el gineceo; ambos taxa con polinización anemócora; b) Xenogamia facultativa en *M. pigra* var. *pigra*, antesis sincrónica en una inflorescencia y con estambres más cortos que el gineceo. En este taxon se sugiere una marcada diferenciación espacial de las estructuras reproductoras, por lo que la polinización necesariamente requeriría de la presencia de los

polinizadores; c) Autogamia en *M. quadrivalvis* var. *quadrivalvis* y *M. camporum* con antesis sincrónica en una inflorescencia y con estambres del mismo tamaño que el gineceo. En Ambos taxa, el gineceo y los estambres estarían en contacto directo, lo que sugeriría la posibilidad de autopolinización. Estas características sugieren implicaciones en las estrategias reproductivas de *Mimosa*, la interacción polen-estigma se suma a las áreas de investigación en Mimosoideae como la morfología floral y la biología del polen y del pistilo, que contribuyen al entendimiento del éxito reproductivo de las especies del género *Mimosa*.

## Abstract

Pollen grains, in *Mimosa* are associated in: tetrads, bitetrads and 12-16-grained polyads, which varies in size and shape; these features are related to the shape and depth of the stigma. The purpose of this paper is to study the relationships between the shape and size of pollen and the type of stigma. Flowering inflorescences were collected at anthesis and floral buds, and fruit branches of 3 individuals of five different taxa: *Mimosa camporum*, *M. benthamii* var. *benthamii*, *M. luisana*, *M. pigra* var. *pigra* and *M. quadrivalvis* var. *quadrivalvis*. We analyzed pollen morphology and stigma using comparatively anatomy technics, light microscopy and scanning electron microscopy. Furthermore, inflorescence and flower morphometry, as well as viability and pollen germination were studied. The number of flowers ranges 30-280 flowers per inflorescence, pollen production was of about 542-1142 polyads/anther, pollen viability showed no variation among the treatments used, and germination was only observed in a culture medium, with pollen tube length *ca.* 5  $\mu\text{m}$ . Stigma shape varies among species; four types were observed: obliquely crater-shaped, pore-shaped, tubular-shaped and cup-shaped, which are directly related to the size of pollen associations (8-35 $\mu\text{m}$ ) and the amount of polyads that each stigma can capture. The number of fruits/inflorescence and seeds/pod were recorded as an estimate of reproductive success. Three reproductive strategies were observed: a) Xenogamous not facultative in *M. benthamii* var. *benthamii* with asynchronous in the same inflorescence anthesis, stamens and gynoecium of equal length; *M. luisana* with hemynchronous anthesis in an inflorescence, with the gynoecium shorter stamens; both taxa with anemocorous pollination; b) Facultative xenogamous in *M. pigra* var. *pigra*, synchronous in an inflorescence and gynoecium shorter than the stamens in anthesis. In this kind of space differentiation, marked reproductive structures are suggested, that is why pollination necessarily require the presence of pollinators; c) Autogamous in *M. quadrivalvis* var. *quadrivalvis* and *M*

*camporum* with synchronous anthesis in an inflorescence and stamens of the same size as the gynoecium. In both taxa, the ovary and the stamens would be in direct contact, suggesting self-pollination possibility. These features suggest implications in the reproductive strategies of *Mimosa*, pollen-stigma interaction adds the research areas in Mimosoideae, as floral morphology and biology of pollen and pistil, which would contribute to the knowledge of the successful reproduction of the genus *Mimosa*.

## Contenido

Agradecimientos.....	v
Resumen .....	ix
Abstract .....	vi
1. INTRODUCCIÓN.....	2
2. ANTECEDENTES .....	6
2.1. Sistemas de cruza.....	6
2.2. Polinización en Mimosoideae .....	9
2.3. Polinización en el género <i>Mimosa</i> .....	10
3. OBJETIVOS .....	15
3.1. Objetivo general.....	15
3.2. Objetivos particulares .....	15
3.3. Hipótesis .....	15
4. MATERIALES Y MÉTODOS.....	16
4.1. Criterios para la selección de los taxa.....	16
4.2. Revisión de material de herbario y colecta del material fresco .....	19
4.3. Revisión de las características morfológicas de las inflorescencias y las flores .....	20
4.4. Registro del número de granos de polen por antera.....	20
4.5. Viabilidad del polen y germinación de los granos de polen .....	21
4.6. Morfología del gineceo por medio de microscopía electrónica de barrido (MEB) .....	22
4.7. Técnicas histológicas para observar el gineceo en microscopía de luz .....	23
4.8. Procesamiento de botones florales para la obtención del polen y su análisis en microscopía de luz (ML) y en microscopía electrónica de barrido (MEB).....	24
4.9. Registro del número de frutos por inflorescencia y del número de semillas por fruto.....	25

4.10. Análisis estadísticos .....	25
5. RESULTADOS .....	28
5.1. Características morfológicas de las inflorescencias y las flores .....	28
5.1.1. Tamaño de las brácteas florales (longitud y anchura) .....	30
5.1.2. Morfología de la flor .....	31
5.1.3. Longitud total de la flor .....	34
5.1.4. Longitud del cáliz y de la corola.....	35
5.1.5. Longitud de los estambres .....	36
5.1.6. Longitud del gineceo .....	37
5.1.7. Longitud del estípite del ovario .....	38
5.2. Producción de polen.....	41
5.2.1. Registro del número de granos de polen y políades por antera .....	41
5.2.2. Registro del número de políades por flor y por inflorescencia.....	42
5.3. Viabilidad y germinación de los granos de polen.....	45
5.3.1. Viabilidad del polen.....	45
5.3.2. Germinación de los granos de polen.....	49
5.4. Micromorfología y anatomía comparada del gineceo .....	50
5.5. Morfología comparada del polen.....	64
5.5.1. Descripciones palinológicas .....	64
5.5.2. Análisis comparativo de la morfometría de las políades .....	69
5.5.3. Análisis comparativo de la morfometría de los granos de polen individuales (mónades) .....	70
5.6. Relación polen-estigma.....	72
5.6.1. <i>M. camporum</i> .....	73
5.6.2. <i>M. benthamii</i> var. <i>benthamii</i> .....	75
5.6.3. <i>M. luisana</i> .....	77

5.6.4. <i>M. pigra</i> var. <i>pigra</i> .....	79
5.6.5. <i>M. quadrivalvis</i> var. <i>quadrivalvis</i> .....	81
5.7. Estimación del éxito reproductivo: Número de frutos por inflorescencia y número de semillas producidas por individuo.....	83
5.7.1. Número de frutos por inflorescencia .....	83
5.7.2. Número de semillas producidas por individuo .....	84
6. DISCUSIÓN .....	86
6.1. Morfología comparada del polen.....	86
6.2. Morfología y anatomía del gineceo .....	87
6.3. Relación polen-estigma.....	89
6.4. Calidad, producción y germinación del polen .....	94
6.5. Morfología de las inflorescencias y las flores .....	96
6.6. Estimación del éxito reproductivo y estrategias reproductivas .....	99
7. CONCLUSIONES .....	102
8. LITERATURA CITADA .....	104
9. ANEXOS .....	116
9.1. Anexo 1 .....	116
9.2. Anexo 2.....	118
10. Índice de Figuras.....	123

## 1. INTRODUCCIÓN

La biología reproductiva de las especies del género *Mimosa* L. ha sido poco estudiada debido a la complejidad de sus inflorescencias que se presentan en racimos, capítulos o espigas. Esta complejidad se debe a varios factores como son *i*) el tipo de granos de polen, ya que no se presentan de manera individual, sino como un complejo estructural denominado políade, y *ii*) la variación en el tipo de estigma, en ocasiones poriforme, cupuliforme u oblicuamente crateriforme o tubular. Aunado a esto, las flores son similares y relativamente sencillas en cuanto a su organización estructural, las cuales presentan filamentos prominentes, libres, no fusionados con anteras dorsifijas, introrsas eglandulares (Martínez-Bernal y Grether, 2006). Estos verticilos, determinan el tamaño, la forma y el color de la inflorescencia (Kenrick, 2003). Las inflorescencias muestran adaptaciones importantes para la polinización, como generar un alto número de granos de polen y un número considerable de flores; por lo que la inflorescencia es considerada como la unidad de polinización (Arroyo, 1981).

El género *Mimosa* forma parte de las Leguminosas, que se destacan por su gran diversidad a nivel mundial, es la tercera familia más grande de angiospermas, después de las orquídeas y las asteráceas; constituida por *ca.* 727 géneros y 19,325 especies (Lewis *et al.*, 2005). En la actualidad, se reconocen *ca.* 18,320 especies distribuidas en tres subfamilias, Caesalpinioideae con 4 tribus y *ca.* 2,250 especies, Mimosoideae con 4 tribus y *ca.* 3,270 especies y Papilionoideae con 28 tribus y *ca.* 13,800 especies (Lewis *et al.*, 2005). La gran diversidad de la familia se ve reflejada en el hábito, encontrándose hierbas, árboles, arbustos y lianas, así como algunas plantas acuáticas. Por otro lado, la familia se encuentra distribuida ampliamente en todos los hábitats, desde el ecuador hasta donde se presentan climas extremos como en los casos de los desiertos secos y fríos (Grether, 1997).

Los integrantes de este grupo son de gran utilidad para el hombre, ya que incluyen plantas usadas para la alimentación, forraje, son fijadoras de nitrógeno del suelo, maderables, medicinales, de uso artesanal, y ornamental; para la construcción de cercas vivas, combustible, insecticidas y en la industria, por lo que también forman parte de la diversidad cultural y productiva a nivel mundial (Camargo-Ricalde *et al.*, 2001).

La subfamilia Mimosoideae está representada por *ca.* 76 géneros (Lewis *et al.*, 2005) que se distribuyen en las regiones tropicales, subtropicales y templadas a lo largo del planeta. Una gran mayoría de los taxa conocidos se han agrupado en tres géneros: *Acacia* con *ca.* 1,450 (Rico-Arce, 2007), *Mimosa* con *ca.* 530 (Simon *et al.*, 2011; com. pers., Grether) e *Inga* con *ca.* 350 a 400 (Pennington, 1997). Para México, se han registrado en *Acacia* *ca.* 117 especies (Rico-Arce, 2007) y en *Mimosa* *ca.* 110 (Martínez-Bernal *et al.*, 2008).

De acuerdo con Lewis y Elias (1981) y Lewis *et al.* (2005), *Mimosa* está incluido en la Tribu *Mimoseae*, que comprende 39 géneros y 650-725 especies en el mundo (Martínez-Bernal *et al.*, 2006). Por otro lado, Barneby (1991) ubica a las especies de *Mimosa* en cinco secciones: *Mimadenia*, *Batocaulon*, *Calothamnos*, *Habbasia* y *Mimosa*, con base en características florales, nectarios peciolares, presencia o ausencia de setas en los tallos y la forma de los tricomas de las hojas.

A nivel mundial, el género *Mimosa* cuenta con una gran variedad de especies (Simon *et al.*, 2011), de las cuales el 90% se distribuyen desde el sur de Estados Unidos de Norteamérica hasta Argentina, en el continente Americano, y el restante 10% en África, y Asia; sin embargo, varias especies se han introducido en Australia. En su mayoría, los taxa se encuentran en regiones tropicales, zonas áridas y semiáridas, desde el nivel del mar hasta 2,250 m de altitud; aunque, algunos crecen en zonas templadas a mayor altitud, desde 2,000 hasta 3,300 m (Grether, 1997; Martínez-Bernal, 2003; Martínez-Bernal *et al.*, 2008).

En el género *Mimosa*, se encuentran árboles, arbustos, lianas y plantas herbáceas, erectas, a veces trepadoras, rastreras y decumbentes, generalmente con aguijones; presentan hojas bipinnadas, eglandulares o con glándulas en el pecíolo y/o raquis primario; las flores dispuestas en capítulos, racimos o espigas. Las flores son pequeñas, sésiles en la mayoría de los taxa, a veces pediceladas; tetra o pentámeras, rara vez trímeras; generalmente son bisexuales, en ocasiones pistiladas o estaminadas en la parte basal de la inflorescencia; el cáliz es gamosépalo de longitud variable, la corola gamopétala con 4 a 5 lóbulos valvados, los estambres de igual número que los lóbulos de la corola (flores haplostémonas) o el doble de estos (flores diplostémonas), filamentos libres o rara vez fusionados en la base, exsertos o salientes con anteras eglandulosas, dorsifijas, introrsas y con dehiscencia longitudinal (Martínez-Bernal *et al.*, 2006; Grether *et al.*, 2007; Martínez-Bernal *et al.*, 2008)

El gineceo en *Mimosa* está constituido por un ovario unicarpelar, unilocular, varía de sésil a estipitado, de forma cilíndrica o lateralmente comprimido, linear a oblongo o elíptico, glabro a pubescente o setoso; la placentación es marginal, los óvulos anátropos, alternos en dos hileras; el estilo es filiforme y generalmente más largo que los estambres, con el extremo apical por lo general atenuado y el estigma en la mayoría de los taxa, es un poro terminal, como en *M. polyantha* Bentham; en otros taxa es cupuliforme como en *M. xanthocentra* Martius y en otras como *M. ursina* Martius es oblicuamente infundibuliforme o puede ser tubular como en *M. candollei* Grether (Grether, 1997; Martínez-Bernal, 2003).

La legumbre en el género presenta diversas formas como: linear, oblonga, lanceolada a lanceolado-oblonga, elíptica y tetragonal, generalmente comprimida, membranácea o coriácea, bivalvada y dehiscente, las valvas enteras o divididas transversalmente en artejos y el margen persistente. Las semillas son lenticulares, en general más o menos isodiamétricas, en algunos casos,

pueden ser elípticas u oblongas o a veces tetragonales a rómbicas y oblicuamente truncadas, la testa es lisa y brillante o porosa y opaca, de color ocre a pardo-rojizo o negro. La línea fisural en forma de herradura está bien definida y es conspicua en ambas caras, varía en tamaño con respecto a la longitud de la semilla; en algunos casos desde  $1/5$  a  $1/4$  de la longitud de ésta y en otros de  $3/4$  a  $5/6$ , llegando a ser casi tan larga como la semilla (Grether, 1997; Martínez-Bernal, 2003).

El polen se agrupa en tétrades, bitétrades y políades de 12 a 16 granos, pequeñas, radiosimétricas o bisimétricas, de tipo acalimado; las aberturas son de tipo porado, presentes en posición subdistal (Guinet, 1981; Caccavari, 1987; 1988; Grether, 1997; Martínez-Bernal, 2003; Flores-Cruz, 2004; Flores-Cruz *et al.*, 2006).

Si bien, ya se cuenta con un avance importante en el estudio comparativo de la morfología del polen de los taxa mexicanos y centroamericanos de *Mimosa* (Flores-Cruz, 2004; Martínez-Bernal, 2003; Grether, 1997), no existe un estudio comparativo detallado de la morfología del estigma en las flores de este género, ni su relación con la forma y el tamaño de los granos de polen agrupados en tétrades, bitétrades y políades. En forma adicional, el estudio de la viabilidad de los granos de polen y el desarrollo de los tubos polínicos proporcionaría información importante para relacionar con el número de óvulos por ovario y el número de semillas por fruto. Las relaciones morfológicas de las estructuras implicadas en la biología reproductiva del género, permitirá explorar elementos de gran relevancia en el estudio de los sistemas de cruzamiento y del éxito reproductivo en este grupo de plantas.

## 2. ANTECEDENTES

### 2.1. Sistemas de cruza

Un aspecto fundamental de la biología reproductiva de las plantas comprende la expresión sexual, que es muy compleja y variada. Una planta bisexual es aquella que presenta flores perfectas o flores femeninas y flores masculinas en un mismo individuo (monoecia), caracterizada por la funcionalidad de ambos componentes sexuales, androceo y gineceo. En otros casos, se encuentran individuos con flores en las que sólo los estambres son funcionales (flores estaminadas) y, por otra parte, individuos con gineceos funcionales (flores pistiladas) (Gurevitch *et al.*, 2006).

Otro tipo de expresión sexual en plantas es definido por el desarrollo floral en etapas diferentes para evitar la autopolinización (dicogamia), como la protandría, caso en que las anteras maduran y liberan el polen antes que el estigma de la misma flor sea receptivo; por el contrario, la protoginia es cuando el estigma es receptivo, antes que el polen se libere de las anteras en la misma flor (Sousa y Zárate, 1983; Arroyo, 1981).

La fecundación puede ser alógama o autógama. La alogamia, también llamada fecundación cruzada, puede ocurrir de dos maneras: fecundación cruzada entre flores de la misma planta (geitonogamia) o entre flores de plantas separadas (xenogamia) (Endress, 1994; Percival, 1969). Además, la xenogamia facultativa hace alusión al tipo de sistema reproductivo de polinización cruzada, ligada de manera directa con la presencia del polinizador, ya sea por animales en general (zoofilia), en particular por insectos (entomofilia), o por otros factores, como el viento (anemofilia) (Pacini, 1992).

Por otra parte, la autogamia puede ser mediante la casmogamia y la cleistogamia. La casmogamia o autogamia facultativa, se define como la autofecundación, mientras las flores de la planta permanecen abiertas, en ausencia de polinizadores. La cleistogamia o autogamia obligada, es

el sistema de autopolinización y autofecundación, donde la flor llega a su madurez y sin presentar antes se autofecunda, es decir se fecunda en botón floral (Lord, 1981; Font Quer, 1979; Cruden, 1977).

Dos tipos de mecanismos en los sistemas de entrecruzamiento, influyen directamente a las plantas con flores produciendo cambios evolutivos como el cambio de xenogamia a autogamia, registrado a través de la disminución del tamaño y las alteraciones en la morfología floral (Ornduff, 1969), lo que reduce el costo energético por flor y facilita la autopolinización. Además, se ha observado que este cambio viene acompañado por un decremento en la relación del número de granos de polen y el número de óvulos (P/O) (Cruden, 1977).

Los sistemas de entrecruzamiento en plantas se ven afectados directamente por distintos procesos biológicos, tales como la fenología, la variación climática y la disponibilidad de nutrimentos del suelo y su reciclaje dentro del sistema biológico; así como la disponibilidad de polinizadores que permitan la fecundación de las flores (Bawa y Beach, 1981).

Distintos trabajos como el de Haring *et al.* (1990) y el de Barrett (1992) han reportado que las plantas que presentan flores autoincompatibles y algunos otros taxa xenógamos producen mayor cantidad de granos de polen (en Asclepiadaceae, Wyatt *et al.*, 2000 y en Orchidaceae, Johnson y Edwards, 2000) que los que están relacionados con la autocompatibilidad y son taxa autógamos. En contraste, Cruden (1977) menciona que, con otras características florales, el número de óvulos por ovario en algunos taxa no disminuye.

Analizar y entender los diferentes sistemas de entrecruzamiento, los tipos de polinizadores involucrados en estos sistemas y la expresión sexual de las plantas constituye la base fundamental para comprender la relación estigma-estilo-ovario con respecto al tamaño del polen; esta relación ha sido analizada por distintos autores que han contribuido al conocimiento de la biología reproductiva

en plantas (Cruden, 2009; Cruden y Lyon, 1985; Arroyo, 1981; Cruden y Miller-Ward, 1981; Cruden, 1977).

Uno de los principales retos para analizar las correlaciones entre estas estructuras, es tratar de definir y entender la profundidad del estigma; Cruden y Lyon (1985) la definen como la estimación de la distancia que el tubo polínico debe recorrer, desde su formación en la superficie estigmática, hasta alcanzar el tejido de transmisión en el estilo y además, se tiene que correlacionar directamente el tamaño del grano de polen con la profundidad del estigma y la longitud del estilo. Otros autores como Owens y Lewis, (1989) y Owens, (1990) señalan características del gineceo que pudieran ser importantes en los sistemas de reproducción sexual como es el caso de algunos géneros de leguminosas (cesalpinoideas: *Cassia*, *Chamaecrista* y *Senna*), que presentan una cámara estigmática que permitiría la captación de los granos de polen. Por otro lado, el éxito de la correlación polen-estigma se manifiesta en la formación de frutos viables que pueden ser afectados, en algunos casos, por la calidad y la cantidad de polen viable para la fertilización (Edlund *et al.*, 2004; Dafni y Firmage, 1999).

Además, la calidad del grano de polen es determinada por los nutrimentos que la planta reserva para la formación de estructuras reproductivas; sin embargo, la cantidad de granos de polen, que llegan al estigma, se ve influenciada por la presencia del polinizador, durante la marcha floral. Por otro lado, la reserva de nutrimentos exógenos para la germinación de los granos de polen, se ve afectada por la presencia o ausencia de almidón en el polen. Además, es importante mencionar que, en los taxa *Smyrniium perfolitatum* (Apiaceae) (Weber, 1994) y *Solanum gardneri* (Solanaceae) (Hokche y Ramírez, 2006) los nutrimentos que los granos de polen necesitan para germinar, también están presentes en el tejido de transmisión del estilo, que permite que el tubo polínico penetre hasta el ovario y pueda fecundar a los óvulos. Por ello, distintos autores como Swanson *et al.* (2004) y

Harder y Johnson (2008) han analizado la relación P/O como parte exploratoria y complementaria en los procesos que intervienen en los diferentes tipos de sistemas reproductivos en plantas.

Otra característica importante que se debe considerar, es la estructura y función de la superficie receptiva del estigma; Heslop-Harrison y Shivanna (1977) elaboraron una clasificación con subdivisiones para los tipos de estigmas. La primera subdivisión es la de estigmas secos, con o sin superficie secretora al momento de la antesis, en contraste la segunda donde se ubican los estigmas de tipo húmedo que se distinguen por tener una superficie secretora, que libera un fluido.

La siguiente subdivisión de esta clasificación se basa en la forma y disposición de las células de la superficie estigmática; dentro de los estigmas secos, del mismo modo Heslop-Harrison y Shivanna (1977), señalan dos grupos: el grupo I, estigmas plumosos con células receptoras dispersas, en ramificaciones multiseriadas; el grupo II, estigmas con células receptoras concentradas en distintas zonas o ejes; este subgrupo se subdivide en: A) superficies no papiladas y B) superficies distintivamente papiladas; del mismo modo el grupo B, se subdivide en: i) papilas unicelulares y ii) papilas multicelulares; a su vez el grupo ii, se subdivide en: a) papilas uniseriadas y b) papilas multiseriadas. Los estigmas húmedos se subdividen en dos grupos: el grupo III estigmas con superficies receptoras, con un nivel bajo a mediano de papilas y el fluido de secreción inunda los espacios intersticiales; el grupo IV estigmas con superficies receptoras no papiladas, con células necróticas al madurar, generalmente con más superficie llena de fluido que el grupo III.

## **2.2. Polinización en Mimosoideae**

Existen pocos estudios sobre polinización en Mimosoideae, Stone *et al.* (2003), elaboraron una revisión de la ecología de la polinización del género *Acacia* a nivel mundial, en la que discuten el tipo de recompensa que ofrecen las flores a sus visitantes; en general, para los taxa de este género,

las recompensas son el néctar y el polen, los cuales están sólo a disposición de algunos polinizadores como las abejas y algunas aves. Raine *et al.* (2007), estudiaron una comunidad de cuatro especies simpátricas de *Acacia*: *A. farnesiana* (L.) Willdenow, *A. hindsii* (Bentham); *A. macracantha* (Humboldt *et* Bonpland ex. Willdenow) y *A. (Acaciella) angustissima* (Miller) Kuntze; analizaron la potencialidad heteroespecífica de transferencia del polen, con relación a la variabilidad de los visitantes florales, en una región de clima tropical de México. Estas taxa presentan una alta sincronía diaria en la liberación del polen, pero en cada una de las especies la dehiscencia de las anteras ocurre en diferentes momentos del día, de esta manera una gran cantidad de polen está disponible para los polinizadores durante el día; esta sincronía se refleja de manera importante, cuando estas especies comparten el hábitat.

### **2.3. Polinización en el género *Mimosa***

Para el género *Mimosa* sólo se ha realizado un trabajo sobre la polinización en *M. lewisii* Barneby, un arbusto de 2-5 m de alto, que presenta panículas de capítulos, cada uno en forma de cepillo de 10 mm de alto por 14 mm de diámetro, con flores bisexuales, con un período de antesis activo sólo por una noche y son polinizadas por murciélagos, ya que estos obtienen el néctar que les proporcionan las flores, el cual alcanza un volumen de 103.5 a 173  $\mu$ l por capítulo (Vogel *et al.*, 2005). En las especies mexicanas de este género, los polinizadores comúnmente observados incluyen: hormigas, abejas, avispas y abejorros (com. pers., Camargo-Ricalde, Grether y Martínez-Bernal).

Los estudios palinológicos de *Mimosa* constituyen una base fundamental para iniciar los estudios de biología reproductiva en las especies de este género. Importantes son las aportaciones de Sorsa (1969) que contribuye con un estudio palinológico, avances taxonómicos y discute las

relaciones filéticas de 202 taxa, que representan a 50 de los géneros de la subfamilia Mimosoideae con base en la morfología del polen. Por otro lado, con las mismas características del polen, Guinet (1981) realizó un estudio con fines sistemáticos, evolutivos y de clasificación entre géneros de Mimosoideae incluyendo a *Mimosa*. Además, Caccavari (1985, 1987, 1988), sugiere líneas evolutivas del polen; tomando en cuenta el tipo de asociación de los granos de polen, presenta una clave palinológica y señala que las especies que conforman una serie, además generalmente presentan el mismo tipo de asociación.

Otros estudios comparan los tipos de asociaciones del polen como Grether (1997), que señala los tipos de asociación del polen en las diferentes secciones y series del género *Mimosa*, como apoyo al tratamiento taxonómico de las especies que se encuentran en el área Mesoamericana; Martínez-Bernal (2003), observó la morfología del polen de los taxa del género *Mimosa* distribuidas en Puebla y Tlaxcala; los taxa que se ubican en la sección *Batocaulon*, presentan polen en bitétrades rotadas elipsoidales y tétrades cruzadas, aplanadas, elipsoidales; en la sección *Habbasia*, se presentan tétrades cruzadas oviformes a piriformes y en la sección *Mimosa*, tétrades tetraédricas esféricas. Flores-Cruz *et al.* (2006), analizan la morfología del polen para unificar a los miembros de la serie *Quadrivalves*, ya que presentan granos de polen asociados en tétrades cruzadas, ligeramente comprimidas, de forma elíptica. Esto permitió confirmar la ubicación de estos taxa dentro de dicha serie; que se separan de otras series del género. Lima e Lima *et al.* (2008), realizan un estudio palinológico de especies de *Mimosa*, en una región semi-árida al sureste de Brasil; reconocen seis tipos y dos subtipos de polen. Los tipos, los clasifican con base en el número de mónades, la forma de la políade y con base en las unidades de dispersión, haciendo notar, los rangos promedio de las asociaciones del polen en cada uno de los tipos: i) granos de polen en políades de 12(8-16) mónades con contorno subtriangular (tritétrades) 21-25 $\mu$ m x 14-21 $\mu$ m; ii) granos de polen en bitétrades de (8)

mónades, dos tétrades tetragonales o una tétrade decusada y una tétrade tetragonal ó una tétrade tetraédrica y una tetragonal o dos tétrades decusadas, 10-19 $\mu$ m x 8-20 $\mu$ m; iii) mónades en tétrades decusadas y con algunas formas romboidales de contorno esferoidal o elíptico, 15-41 $\mu$ m x 10-33 $\mu$ m; iv) granos de polen en tétrades decusadas y tetraédricas elípticas, 20-26 $\mu$ m x 13-19 $\mu$ m; v) granos de polen en tétrades tetraédricas y decusadas esféricas, 8-11 $\mu$ m x 8-11 $\mu$ m; vi) granos de polen en diádes o mónades con contorno triangular 15-26 $\mu$ m x 15-18 $\mu$ m; todos estos tipos presentan granos de polen de tamaño pequeño y considera dos subtipos del tipo iii: i) tétrades de tamaño medio considerando la media del diámetro 23-41 $\mu$ m x 15-33 $\mu$ m; y ii) tétrades de tamaño pequeño considerando la media del diámetro, 15-25 $\mu$ m x 10-18 $\mu$ m. Los autores mencionados, en este párrafo, realizan aportaciones importantes, que han permitido conocer y describir la morfología del polen como apoyo al conocimiento de la taxonomía del grupo.

En general, existen muy pocos estudios relacionados con la biología reproductiva, de la subfamilia Mimosoideae, entre ellos destacan los de Kenrick y Knox (1989) y Kenrick (2003), en la Tribu Acacieae, donde describen las relaciones polen-pistilo en especies australianas del género *Acacia*; se analizan las características de la inflorescencia y del polen, junto con la potencialidad de germinación de los granos de polen y su relación con las características distintivas del estigma; además, explican las posibilidades de fertilización y auto-incompatibilidad, relacionadas con los mecanismos de polinización y la formación de frutos.

Para este mismo género, Baranelli *et al.* (1995), realizaron un trabajo con *A. caven* (Mol.) Mol., en la región central de Argentina, analizaron el tipo de polinización dominante, así como la eficiencia reproductiva de las políades, utilizaron la relación del número de granos de polen y el número de óvulos por flor, además los períodos de floración y fructificación, en condiciones naturales; a través de las observaciones y registros de las variaciones en las características florales

como: el número de flores por capítulo, estambres por flor, políades por antera, granos de polen por políade y óvulos por ovario. Observaron una adaptación muy marcada, entre la políade y el estigma, en donde sólo una políade puede depositarse en el estigma, y la relación uno a uno entre los granos de polen en una políade con los óvulos y el número de semillas en un ovario. Con base en esto, la relación políades y óvulos, sugiere que se lleva a cabo la xenogamia facultativa en este taxon de *Acacia*.

Por otra parte, Taisma (2008), elaboró un estudio sobre el crecimiento de tubos polínicos y su eficiencia reproductiva en *A. glomerosa* Benth., en un bosque seco premontado a 300 m de altitud; asimismo, analizó distintas variables involucradas en la reproducción sexual tomando en cuenta la relación del número de flores por inflorescencia, estambres por flor, políades por estambre, polen por políade, pistilos con políades viables y no viables y número de tubos polínicos por políade viable; también analizó el número de frutos por inflorescencia, de semillas por fruto y de óvulos por ovario y la viabilidad de los granos de polen cuando se depositan en un estigma receptivo. De los pistilos con políades (127), el 61.05% presenta políades viables y el resto (81) inviables; las políades viables presentaron siempre tubos polínicos en los estilos, concluyendo que *ca.* el 90% de los pistilos con políades viables, presentaban seis o más tubos polínicos en desarrollo.

Gassama-Dia *et al.* (2003), realizaron otro estudio de biología reproductiva con *Faidherbia albida* (Del.) A. Chev., de la tribu Acacieae, en una zona semiárida de Senegal en África. En este estudio se analizó la fenología, la floración y fructificación en cinco poblaciones naturales, aportando detalles de los mecanismos de polinización de esta especie. Se considera que la inflorescencia para esta especie, actúa como la unidad de polinización y se evalúa la receptividad del estigma, que alcanza su punto máximo, inmediatamente después de la antesis. Señalan que, cuando el estilo se elonga por completo, el estigma se llena de un exudado que permite la adhesión del polen; entre el

75-80% por ciento de estigmas observados después de la antesis presentaron sólo una políade en su superficie y del 16 al 25% dos políades.

En la tribu Ingeae, Taisma (2007), realizó un estudio morfométrico de las inflorescencias (espigas y racimos), en 19 taxa de los géneros *Albizia*, *Calliandra*, *Enterolobium*, *Inga*, *Pithecellobium*, *Zapoteca* y *Zigia*; analizó las correlaciones entre las dimensiones del raquis de las inflorescencias y el número total de las flores por inflorescencia, número de estambres por flor, número de estambres por inflorescencia, número de granos de polen por flor, número de granos de polen por inflorescencia y relación polen-óvulo. En cuanto a tipos morfológicos de inflorescencia, sexualidad y tipo de políade para los taxa estudiados, se encontró una correlación significativa entre las dimensiones del raquis de las inflorescencias y las variables cuantitativas; relacionadas con la asignación de recursos en la formación de estructuras masculinas y femeninas.

Para la tribu Mimoseae, Seijo y Solís (2004), analizaron los mecanismos de formación de las políades y su significado en la biología reproductiva de *Mimosa bimucronata* Kuntze, observaron que, las anteras contienen cuatro sacos de polen con *ca.* 500 políades por lóculo, de 16.5 x 11.5  $\mu\text{m}$  cada una, sumando un total de *ca.* 2000 políades por antera; este taxon, presenta ocho anteras por flor, y alcanza a producir *ca.* 16,000 políades por flor. El estigma tiene forma de pozo (pit-shaped) y sus dimensiones internas son tan estrechas, de manera que sólo una políade puede introducirse, con el eje mayor paralelo al eje longitudinal del estigma. También analizaron la relación del número de políades por flor con el número de óvulos por ovario. En esta relación observaron que el número de granos de polen por políade (8), coincide con el número promedio de óvulos por ovario ( $8.06 \pm 0.36$ ).

### **3. OBJETIVOS**

#### **3.1. Objetivo general**

Conocer las características morfológicas y el tamaño de los granos de polen, así como su relación con la forma y el tamaño del estigma de la flor y con el desarrollo de los tubos polínicos para contribuir al conocimiento de la biología reproductiva del género *Mimosa*.

#### **3.2. Objetivos particulares**

- Describir la morfología de los granos de polen de cinco especies de *Mimosa*.
- Describir y analizar comparativamente la morfología y anatomía del gineceo de cinco especies de *Mimosa*.
- Analizar de manera comparativa la relación polen-estigma en cinco especies de *Mimosa*.
- Analizar de forma comparativa la viabilidad del polen
- Observar y registrar el número de granos de polen por antera.
- Observar y describir la germinación de los granos de polen.
- Describir y analizar de modo comparativo el número de flores bisexuales y estaminadas por inflorescencia.
- Registrar el número de óvulos por ovario, frutos por inflorescencia y producción de semillas por fruto.

#### **3.3. Hipótesis**

Si la forma, el tamaño y el tipo de asociación del polen están relacionados con la forma y el tamaño del estigma de la flor en las especies de *Mimosa*, entonces, las características morfológicas de estas estructuras repercutirán en la biología reproductiva de las especies estudiadas del género.

#### **4. MATERIALES Y MÉTODOS**

Los materiales y métodos se presentan de la siguiente manera: 1) Criterios para la selección de especies; 2) Revisión de material de herbario y colecta de material fresco; 3) Revisión de las características morfológicas de las inflorescencias y las flores; 4) Registro del número de granos de polen por antera; 5) Viabilidad del polen y germinación de los granos de polen, 6) Morfología del gineceo por medio de microscopía electrónica de barrido (MEB); 7) Técnicas histológicas para observar el gineceo en microscopía de luz (ML); 8) Procesamiento de botones florales para la obtención del polen y su análisis en microscopía de luz (ML) y en microscopía electrónica de barrido (MEB); 9) Registro del número de frutos por inflorescencia y del número de semillas por fruto; 10) Análisis estadísticos.

##### **4.1. Criterios para la selección de los taxa**

Las características que permitieron elegir a los taxa; destacan la forma de crecimiento; en *Mimosa* se observan desde hierbas anuales o bianuales hasta árboles. En este trabajo se incluyeron taxa con las siguientes formas de vida: árboles, arbustos erectos, hierbas rastreras y sufruticosas. Además se incluyen taxa con una distribución restringida a un área en particular, con amplia distribución en México, amplia distribución en América y con distribución pantropical. Otro criterio utilizado fue el tipo de hábitat en que se desarrollan los taxa; desde climas cálido-secos hasta calido-húmedos y con algunas particularidades como dunas costeras.

Las inflorescencias en los taxa seleccionados, enmarcan la variedad de formas en el género; desde espigas laxas y cortas a espigas densas y largas ó capítulos globosos y subglobosos. Las legumbres pueden ser sésiles o estipitadas con valvas enteras o divididas en artejos, no comprimidas

entre las semillas a comprimidas, con o sin margen persistente, y con indumento desde hispido, seríceo a tomentoso; los taxa seleccionados representan parte de la amplia variación de las características que conforman a los frutos en el género.

La variación en la forma del estigma permitió elegir los tipos más destacados, desde el que presenta un ápice filiforme o poro terminal, incluyendo los de tipo cupuliforme y tubular hasta el oblicuamente infudibuliforme. Por otro lado, las asociaciones del polen, representadas en los taxa seleccionados; tienen tétrades esferoidales cruzadas y aplanadas, tétrades elipsoidales y bitétrades elipsoidales cruzadas; además de la variación en el tamaño.

Con la representación de esta amplia gama de características, hábitat y distribución geográfica, se seleccionaron los siguientes taxa como objeto de estudio: *Mimosa camporum* Benth.; *M. benthamii* J. F. Macbr. var. *benthamii*; *M. luisana* Brandege; *M. pigra* L. var. *pigra* y *M. quadrivalvis* L. var. *quadrivalvis* (Cuadro 1).

**Cuadro 1 Características consideradas para la selección de los taxa en estudio.**

Taxa	Tipo de Inflorescencia	Tipo de estigma	Tipo de asociación del polen	Tipo de fruto	Forma de vida	Hábitat	Distribución geográfica
<i>M. camporum</i>	Capítulos globosos	Infundibuliforme	Tétrades esferoidales	oblongo, recto, ligeramente comprimido entre las semillas, artejos 1-3	Hierbas anuales a sufruticosas erectas o decumbentes 20-60 cm	Ambientes cálido-húmedos	Amplia distribución en América Tropical
<i>M. benthamii</i> var. <i>benthamii</i>	Espigas	Ápice del estilo atenuado	Bitétrades elipsoidales rotadas	curvado, no comprimido entre las semillas, artejos (4-)5-9(-10)	Arbustos o árboles 1.0-6.0 m	Ambientes secos	Endémica de México (Gto., Gro., Jal., Méx., Michoacán, Mor., Nay., Oax., Pue. y Zac.)
<i>M. luisana</i>	Espigas	Ápice del estilo atenuado	Bitétrades elipsoidales rotadas	linear, curvado, comprimido entre las semillas, artejos (2-)3-8	Arbustos o árboles 1.0-4.5 m	Ambientes secos	Endémica del Valle de Tehuacán-Cuicatlán, Puebla y Oaxaca
<i>M. pigra</i> var. <i>pigra</i>	Capítulos globosos	Ápice de estilo Angostamente cupuliforme	Tétrades elipsoidales aplanadas	oblongo, recto a curvado, no comprimido entre las semillas, artejos 7-25, cartilaginoso, indehiscente, sellado por membranas laterales	Arbustos 1.0-3.0 m	Ambientes cálido-húmedos, áreas inundables	Distribución pantropical
<i>M. quadrivalvis</i> var. <i>quadrivalvis</i>	Capítulos globosos	Ápice del estilo tubular	Tétrades elipsoidales aplanadas	linear o linear-oblongo, recto, no comprimido entre las semillas, valvas enteras, 1-3.5 mm.	Hierbas erectas o rastreras de 0.4-1.0 m	Ambientes cálido-húmedos, dunas costeras	Endémica de México (Veracruz)

Tomado de: Grether, 1997; Martínez-Bernal, 2003; Martínez-Bernal y Grether, 2006; Grether *et al.*, 2007; Martínez-Bernal *et al.*, 2008

#### 4.2. Revisión de material de herbario y colecta del material fresco

Se realizó una revisión de ejemplares botánicos de los cinco taxa de *Mimosa* a estudiar depositados en el Herbario Metropolitano “Ramón Riva y Nava Esparza” (UAMIZ), para obtener información sobre los períodos de floración y de fructificación, y de algunas localidades para obtener los itinerarios de las salidas de campo. Posteriormente, se realizaron varias excursiones a los estados de Puebla, Oaxaca y Veracruz, para coleccionar el material fresco de inflorescencias en botón y en anthesis, así como de ramas con frutos maduros; se colectó material de tres individuos por taxa; elegidos al azar. Todos los ejemplares herborizados de referencia, de cada uno de los individuos, se depositaron en la colección del Herbario Metropolitano (Cuadro 2).

**Cuadro 2. Colectores, número de colecta y de registro de los ejemplares depositados en el Herbario Metropolitano “Ramón Riba y Nava Esparza”.**

Taxa	E. L. Martínez-Olivares <i>et al.</i> N° de colecta	N° Registro del Herbario UAMIZ
<i>M. camporum</i>	19	74275, 74276, 74277
	20	74281, 74282, 74283
	21	74281, 74282 74283
<i>M. benthamii</i> var. <i>benthamii</i>	40	74284, 74285, 74286
	41	74287, 74288, 74289
	42	74290, 74291, 74292
<i>M. luisana</i>	6	74293, 74294, 74295
	9	74296, 74297, 74298
	10	74299, 74300, 742301
<i>M. pigra</i> var. <i>pigra</i>	24	74266, 74267, 74268
	25	74269, 74270, 74271
	27	74272, 74273, 74274
<i>M. quadrivalvis</i> var. <i>quadrivalvis</i>	22	74257, 74258, 74259
	34	74260, 74261, 74262
	35	74263, 74264, 74265
<b>Colectores: Grether, Camargo-Ricalde, Martínez-Bernal y Montaña-Arias</b>		

Los botones florales se colocaron en bolsas de papel, una parte a temperatura ambiente y otros humedecidos con alcohol al 70% dentro de bolsas de plástico y se mantuvieron a 4°C. Las inflorescencias con flores en antesis se fijaron con glutaraldehído al 3% en amortiguador de fosfatos 1N (Bozzola y Russell, 1999) y con FAA (López-Curto *et al.*, 2005).

#### **4.3. Revisión de las características morfológicas de las inflorescencias y las flores**

Las inflorescencias con flores en antesis, previamente fijadas en glutaraldehído; se colocaron en alcohol al 70%. Se analizó una inflorescencia por individuo y por taxon, con un microscopio estereoscópico Leica GZ6 y con una reglilla micrométrica. Se midieron las características morfológicas y se elaboró una base de datos. Las características florales registradas se registran en el Cuadro 5; cada verticilo se midió desde la base hasta el ápice.

#### **4.4. Registro del número de granos de polen por antera**

La producción de granos de polen por antera en los taxa estudiados, se obtuvo cuantificando el número de políades por antera y haciendo una estimación de los granos individuales por antera. Para contabilizar el número de granos por antera se utilizó una cámara Neubauer, se disgregó el contenido de una antera en una solución de lactofenol y glicerina 3:1 (Hokche y Ramírez, 2006), con azul de anilina al 1%, en un volumen de 0.3 ml. Los conteos se realizaron 10 replicas por cada uno de los individuos registrando un total de 30 conteos por cada taxa, para calcular la concentración de políades en un volumen conocido (0.3 ml).

#### 4.5. Viabilidad del polen y germinación de los granos de polen

La viabilidad de los granos de polen se observó a través de tres de métodos de tinción: Aceto-carmín, Lugol y Azul de Algodón (Tivo e Iglesias-Andreu, 2003). Se utilizaron inflorescencias en botón, se eligieron 10 botones por individuo y por cada taxa al azar, para obtener entre 8-10 anteras por cada botón seleccionado, dependiendo del taxon y se colocaron en portaobjetos con cada uno de los colorantes señalados, colocando los cubreobjetos y se realizó un squash para liberar los granos de polen de las anteras. Con cada uno de los métodos de tinción se realizaron tres repeticiones para cada uno de los individuos con un total de 9 repeticiones por taxa. Posteriormente, se contabilizaron 300 granos por cada repetición por medio de una reticula ocular a 40X.

Los granos de polen fueron considerados viables, en cada uno de los tratraminetos; cuando se observaron con el citoplasma teñido y la pared celular completa, es decir sin rupturas. El polen obtenido de botones florales frescos recién colectados y de muestras almacenadas entre 6 a 11 meses, mantenidos en refrigeración a  $-10^{\circ}\text{C}$ , en el Laboratorio de Biosistemática de Leguminosas de la UAM-I, se sometieron a tres tratamientos para detectar su viabilidad.

La germinación *in vitro*, se realizó mediante cinco métodos: tres con distintas concentraciones de sacarosa (10%, 30%, 50%) y ácido bórico al 1%, en agua destilada; dos medios de cultivo, se prepararon de acuerdo al método propuesto por Krishnamurthy (1988), con una variante del mismo, correspondiente a la concentración de los nutrimentos agregados en los medios de cultivo 4 y 5 (Cuadro 3).

Se mantuvo la concentración de sacarosa al 10% y con distintas concentraciones de nutrimentos. Los medios de cultivo con los granos de polen se revisaron cada 30 minutos y se mantuvieron en un horno a  $26^{\circ}\text{C}$ , posteriormente, se verificaron cada dos horas, para registrar si ocurría la germinación de los granos, tomando una pequeña muestra y observándola en un

microscopio óptico (Cuadro 3). La germinación del polen se consideró, cuando el tubo polínico emitido presentó una longitud de mayor o igual tamaño al diámetro de la mónade (González *et al.*, 1995).

**Cuadro 3. Medios de cultivo utilizados para la germinación de granos de polen.**

Medio de cultivo 1	Medio de cultivo 2	Medio de cultivo 3	Medio de cultivo 4	Medio de cultivo 5
<b>8 horas</b>			<b>32 horas</b>	
sacarosa 10%	sacarosa 30%	sacarosa 50%	Sacarosa 10 %	Sacarosa 10%
ácido bórico 1%	ácido bórico 1%	ácido bórico 1%	ácido bórico 6 mg	ácido bórico 2mg
			Agua 20cc	agua 20cc
			CaNO <sub>3</sub> 6 mg	KNO <sub>3</sub> 9.3 mg
			MgSO <sub>4</sub> 2 mg	CaCl 5.3 mg
			MnSO <sub>4</sub> 2 mg	MgSO <sub>4</sub> 2 mg
				MnSO <sub>4</sub> 2 mg

#### 4.6. Morfología del gineceo por medio de microscopía electrónica de barrido (MEB)

Se obtuvieron flores en antesis de inflorescencias frescas, de las cuales se separaron los gineceos para su observación en microscopía electrónica de barrido. Para el análisis de los gineceos se usaron dos fijadores; el primero con glutaraldehído al 3% en una solución de amortiguador de fosfatos 1N durante dos horas (Bozzola y Russell, 1999); posteriormente se realizaron tres lavados con amortiguador de fosfatos para eliminar el excedente del fijador. El segundo tratamiento se realizó con tetraóxido de osmio (OsO<sub>4</sub>) al 1% y se mantuvieron por dos horas como máximo a una temperatura de 4°C, se retiró el fijador y se realizaron tres a cuatro lavados con amortiguador de fosfatos y se procedió a realizar la técnica de deshidratación y desecación a punto crítico. La

deshidratación del material se hizo con alcohol etílico con concentraciones variables, desde el 10% hasta el 96%, los cambios se realizaron cada 20 minutos. El material se colocó en cápsulas microporosas de 120  $\mu\text{m}$  embebidas en alcohol absoluto.

La desecación consiste en sustituir el alcohol por  $\text{CO}_2$  líquido, sometiendo el material a una temperatura de  $36.1^\circ\text{C}$  y a una presión de  $1070 \text{ lb/pg}^2$ . Para que el  $\text{CO}_2$  se mantenga líquido y sustituya al alcohol es necesario enfriar la cámara en donde se encuentran las muestras, controlando la presión (Bozzola y Russell, 1999). Una vez eliminado el alcohol, se induce la desecación a punto crítico llevando el  $\text{CO}_2$  a la temperatura crítica para transformarlo de la fase líquida a la gaseosa. El  $\text{CO}_2$  es eliminado muy lentamente y sustituido por aire. Una vez que la cámara en donde están las muestras alcanza una presión normal, las muestras se retiran para ser recubiertas lo más pronto posible con oro-paladio. Las muestras se pueden conservar en las cápsulas microporosas, dentro de un desecador que contenga sílica-gel y después, ser recubiertas con oro-paladio.

El montaje de las muestras se realizó sobre portaespecímenes de aluminio, para adherir las muestras se utilizó cinta de carbón de doble cara; las muestras de gineceos se colocaron de tal manera que se pudieran observar todas las características a analizar; después, se realizó el recubrimiento de oro-paladio. Las muestras se observaron y se fotografiaron en un Microscopio electrónico de barrido Jeol-5900LV a un voltaje de 12 Kv; utilizando electrones retrodispersados y secundarios.

#### **4.7. Técnicas histológicas para observar el gineceo en microscopía de luz**

Los gineceos fijados en glutaraldehído se procesaron por medio de la aplicación de la técnica de inclusión en LR-White (López-Curto *et al.*, 2005), para ello, se realizaron cambios graduales en alcohol, desde el 70% hasta el alcohol absoluto, posteriormente, se realizó la inclusión del material en una mezcla de etanol 96% y de la resina LR-White, en distintas proporciones, cada cambio con

un tiempo promedio de una hora, exceptuando el de LR-White al 100%, que se dejó por 24 horas, en todos los casos a 4°C.

Posteriormente, los gineceos se colocaron en cápsulas de gelatina con resina al 100% y se orientaron de tal manera que quedaran lo más cercanos a la parte convexa de la cápsula; las cápsulas se colocaron dentro de una estufa, durante 24 horas a 56° C; para la polimerización de la resina (LR-White puro); una vez polimerizada la resina, se realizaron cortes con un ultramicrotomo Leica ultracut UCT.

Los cortes obtenidos se montaron sobre portaobjetos y se tiñeron por medio de la técnica de Azul de toluidina (López-Curto *et al.*, 2005); los cortes se montaron en resina (Entellan); las muestras se observaron y fotografiaron.

#### **4.8. Procesamiento de botones florales para la obtención del polen y su análisis en microscopía de luz (ML) y en microscopía electrónica de barrido (MEB)**

Para realizar el estudio comparativo de los granos de polen se utilizó la técnica de acetólisis (Erdtman, 1960) modificada por (Martínez-Hernández, 1970) y para *Mimosa* (com. pers., Martínez-Bernal y Grether; Anexo 1), el material se montó con gelatina glicerinada, se procesaron 8 laminillas por taxa y se tomaron fotomicrografías del polen por medio de un microscopio de campo claro Olympus, marca provis AX70.

Las características morfométricas del polen se analizaron midiendo 30 granos de polen por individuo, resultando un total de 90 granos de polen por taxa, se tomaron en cuenta las siguientes características: diámetro mayor (DM) y diámetro menor (dm) de la asociación del polen; eje polar (ep), eje ecuatorial (ee), grosor de la exina, ornamentación y número de aperturas de las mónades.

Por otra parte, del material que se reservó al realizar la técnica de acetólisis, se desecó a punto crítico (Bozzola y Russell, 1999) para el procesamiento y montaje de los granos de polen en portaespecímenes y obtención de fotomicrografías en microscopía electrónica de barrido (MEB) (Anexo 2).

#### **4.9. Registro del número de frutos por inflorescencia y del número de semillas por fruto**

De los tres individuos por taxon que se colectaron, se seleccionaron varias ramas con frutos al azar. De las ramas se eligieron un total de 90 inflorescencias por taxon, 30 por individuo y se registró el número de frutos por inflorescencia, así como el número de semillas por fruto, los datos obtenidos se incorporaron a una base de datos. Estos valores junto con el número de flores/inflorescencia de cada individuo, se utilizaron para estimar la producción de semillas por individuo.

#### **4.10. Análisis estadísticos**

Se aplicó un análisis univariado para cada una de las variables, con el objetivo de obtener el máximo, mínimo, media, mediana, moda, error estándar, desviación estándar. Posteriormente, se aplicó el análisis univariado para cada taxon con el fin de obtener el máximo, mínimo, media, mediana, moda, error estándar, desviación estándar de los individuos y de los taxa. Se elaboraron cuadros comparativos entre los individuos de cada taxon y entre los cinco taxa.

Una vez realizado el análisis univariado, se aplicó una prueba paramétrica (análisis de varianza, ANOVA  $P < 0.05$ ), siempre y cuando se hubieran cumplido los supuestos de normalidad y homocedasticidad, seguida por una prueba de Tukey ( $P < 0.05$ ), cuando se encontraron diferencias significativas entre los taxa (Daniel, 2008). De lo contrario, se aplicó una prueba no paramétrica de

Kruskal-Wallis, seguida de una prueba de Comparación Múltiple del valor de “Z” (Dunn’s), con el fin de evaluar diferencias significativas entre los taxa (Zar, 2010).

Los gráficos incluidos en los resultados se elaboraron con los valores promedio representados por las barras y del error estándar señalado por las líneas sobre las barras, de cada una de las características analizadas. Los análisis estadísticos aplicados a cada una de las variables de describen a detalle en el cuadro 5.

**Cuadro 4. Pruebas estadísticas aplicadas a los caracteres medidos; (✓) se aplicó la prueba, (✗) no se aplicó la prueba.**

<b>Variables analizadas</b>	<b>Estadística Descriptiva</b>	<b>ANOVA</b>	<b>Tukey</b>	<b>Kruskal-Wallis</b>
<b>Características morfométricas</b>				
Número de flores por inflorescencia	✓	✓	✓	✗
Longitud de la bráctea floral	✓	✗	✗	✓
Anchura de la bráctea floral	✓	✓	✓	✗
Longitud total de la flor	✓	✓	✗	✗
Longitud del cáliz	✓	✓	✓	✗
Longitud de la corola	✓	✓	✓	✗
Longitud de los estambres medianos	✓	✗	✗	✓
Longitud de los estambres largos	✓	✓	✓	✗
Longitud del gineceo	✓	✓ P<0.06	✓	✗
Longitud del estípite del ovario	✓	✗	✗	✓
<b>Producción y viabilidad del polen</b>				
Producción del políades por antera	✓ raíz cuadrada	✓	✓	✗
Producción de granos de polen por antera	✓ raíz cuadrada	✓	✓	✗
Producción del políades por antera/flor	✓ raíz cuadrada	✓	✓	✗
Producción del políades por antera/flor/inflorescencia	✓ log 10	✓	✓	✗
Viabilidad del polen con Acetocarmín	✓	✓	✓	✗
Viabilidad del polen con Lugol	✓	✓	✓	✗
Viabilidad del polen con Azul de algodón	✓	✗	✗	✓
Viabilidad de granos de polen por tratamiento	✓	✓ factorial	✗	✗
<b>Características morfométricas del polen</b>				
Diámetro mayor de las políades	✓	✗	✗	✓
Diámetro menor de las políades	✓	✗	✗	✓
Longitud del eje polar de las mónades	✓	✗	✗	✓
Longitud del eje ecuatorial de las mónades	✓	✗	✗	✓
<b>Estimación del éxito reproductivo</b>				
Número promedio de frutos por inflorescencia	✓	✓	✓	✗
Número promedio de semillas por individuo	✓	✓	✓	✗

## 5. RESULTADOS

Los resultados de este trabajo se presentan en forma comparativa para los taxa estudiados: *Mimosa camporum*, *M. benthamii* var. *benthamii*, *M. luisana*, *M. pigra* var. *pigra* y *M. quadrivalvis* var. *quadrivalvis*. Los diferentes aspectos que se tomaron en cuenta para el estudio de la biología reproductiva, fueron organizados de la siguiente manera: 5.1) Características morfológicas de las inflorescencias y las flores; 5.2) Producción de polen; 5.3) Viabilidad y germinación de los granos de polen; 5.4) Micromorfología y anatomía comparada del gineceo; 5.5) Morfología comparada del polen; 5.6) Relación polen-estigma y, 5.7) Estimación del éxito reproductivo: Número de frutos por inflorescencia y del número de semillas producidas por individuo.

### 5.1. Características morfológicas de las inflorescencias y las flores

Los taxa estudiados presentan dos tipos de inflorescencias: capítulos y espigas, con diferentes arreglos como se describe a continuación (Figura 1).

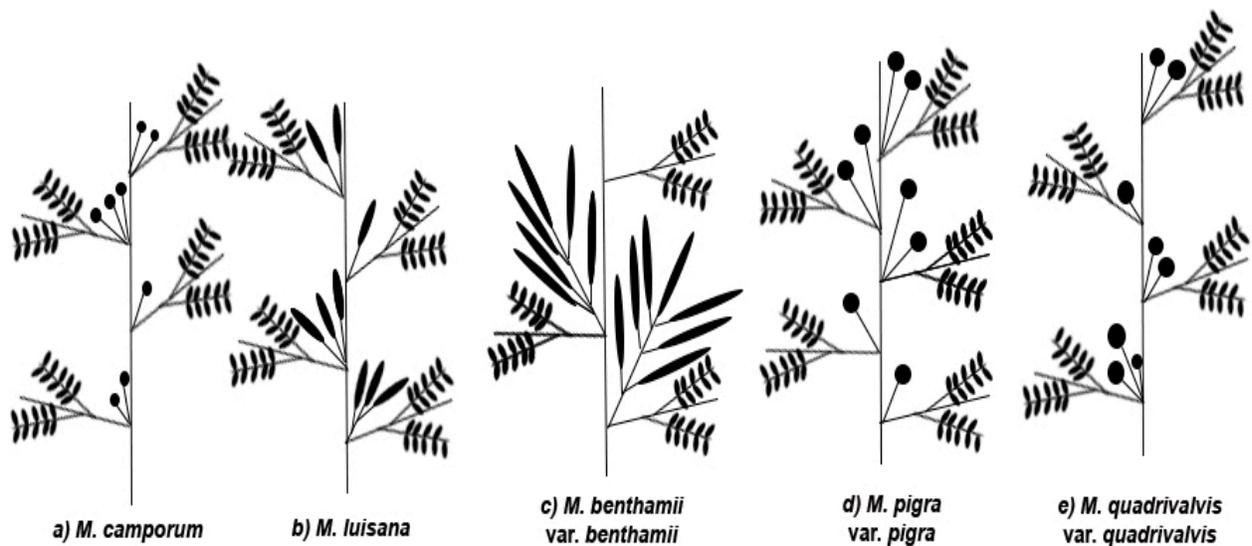


Figura 1. Tipos de inflorescencias, con respecto a su forma y tamaño a) Capítulos globosos; b) Espigas cortas; c) Pseudoracimo de espigas; d) Capítulos globosos a subglobosos; e) Capítulos globosos.

El número de flores por inflorescencia interespecifica mostró diferencias significativas ( $F_{4,15}=395.17$ ;  $P<0.0001$ ; Figura 2).

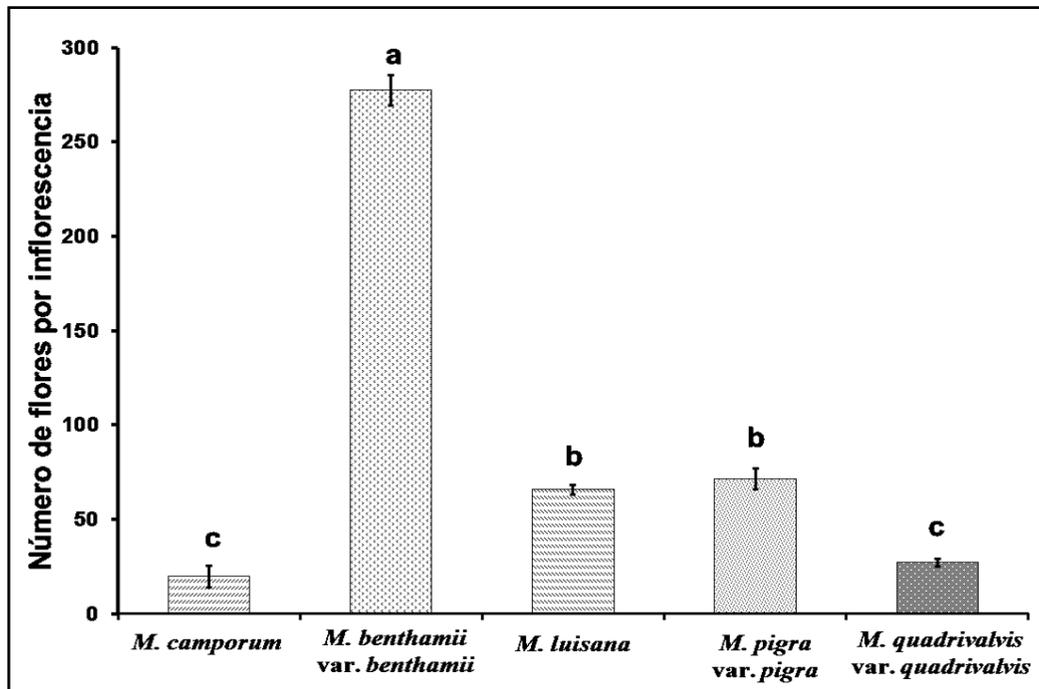


Figura 2. Producción de flores por inflorescencia entre los taxa; letras diferentes indican diferencias significativas (Tukey).

Las inflorescencias en *Mimosa camporum* están organizadas en capítulos globosos de 5-9 mm de diámetro, con 10-30 flores, con una proporción sexual de (9-29) bisexuales y (1) estaminada, axilares, solitarios o en fascículos de dos; brácteas tan largas como la corola o más que ella, con (2.2-3.1(-3.7) mm de largo y (0.9-)1.0(-1.3) mm de ancho, lanceolado-elípticas, setosas o glabras, estriadas, el margen setoso.

Por otro lado, *M. benthamii* var. *benthamii* tiene espigas de 5.0-12.5 cm de largo, densas, con 263-291 flores, sólo bisexuales, axilares y en fascículos de 2-5 y arregladas en panículas; brácteas de (1.0-)1.3(-1.7) mm de largo y (0.2-)0.4(-0.6) mm de ancho, espatuladas, seríceas, margen seríceo.

En el caso de *Mimosa luisana*, presenta espigas de 1.0-2.8 cm de largo, laxas, con 62-71 flores bisexuales, axilares, solitarias y en fascículos de 2(-3) y en panículas; brácteas (0.7-)1.2(1.9) mm de largo y (0.2-)0.4(-0.5) mm de ancho, oblanceoladas, seríceas.

En *Mimosa pigra* var. *pigra*, las inflorescencias se presentan en capítulos globosos a subglobosos de 1.0-1.8 cm de diámetro, densos, con 63-82 flores bisexuales, axilares, solitarios o en fascículos de 2-4 y en ramas racemiformes axilares y terminales; brácteas (1.2-)1.5(-1.8) mm de largo y (0.4-)0.6(-0.7) mm de ancho linear-lanceoladas u oblanceoladas, densamente estrigosas a hispídas y puberulentas o glabras o puberulentas, no estriadas, el margen largamente setoso o ciliado.

En *Mimosa quadrivalvis* var. *quadrivalvis*, las inflorescencias se presentan en capítulos, globosos, de 1-2 cm de diámetro; laxos, con 24-31 flores, con una proporción sexual de (16-25) bisexuales y (2-8) estaminadas, axilares, solitarios o en fascículos de dos, brácteas (0.7-)0.9(-1.2) mm de longitud y (0.2-)0.3(-0.4) mm de anchura, espatuladas, glabras, el margen liso.

Las características de la morfometría de las flores que se registraron se describen a detalle en el Cuadro 6.

### **5.1.1. Tamaño de las brácteas florales (longitud y anchura)**

Las brácteas florales tienen distintos tamaños entre los taxa. En cuanto a la longitud de la bráctea, se observaron diferencias significativas ( $H_4=12.033$ ;  $P=0.017$ ), por lo que, la longitud de la bráctea en *M. camporum*, difiere con respecto de *M. luisana* y *M. quadrivalvis* var. *quadrivalvis*; mientras que, *M. pigra* var. *pigra* difiere sólo de *M. quadrivalvis*. La longitud de la bráctea en *M. benthamii* var. *benthamii* no presenta diferencias significativas con respecto a los otros taxa (Figura 3).

En la anchura de la bráctea, se observaron diferencias significativas ( $F_{4, 15}=96.49$ ;  $P=0.0001$ ), *M. camporum* se diferencia de los otros cuatro taxa, por tener la bráctea más ancha; por

otro lado, *M. benthamii* var. *benthamii*, *M. luisana* y *M. quadrivalvis* var. *quadrivalvis* que no presentaron diferencias significativas entre sí, se caracterizan por tener la bráctea más angosta. Sin embargo, *M. pigra* var. *pigra*, difiere significativamente de los demás taxa; por presentar un tamaño intermedio de la bráctea con respecto a los otros taxa (Figura 3).

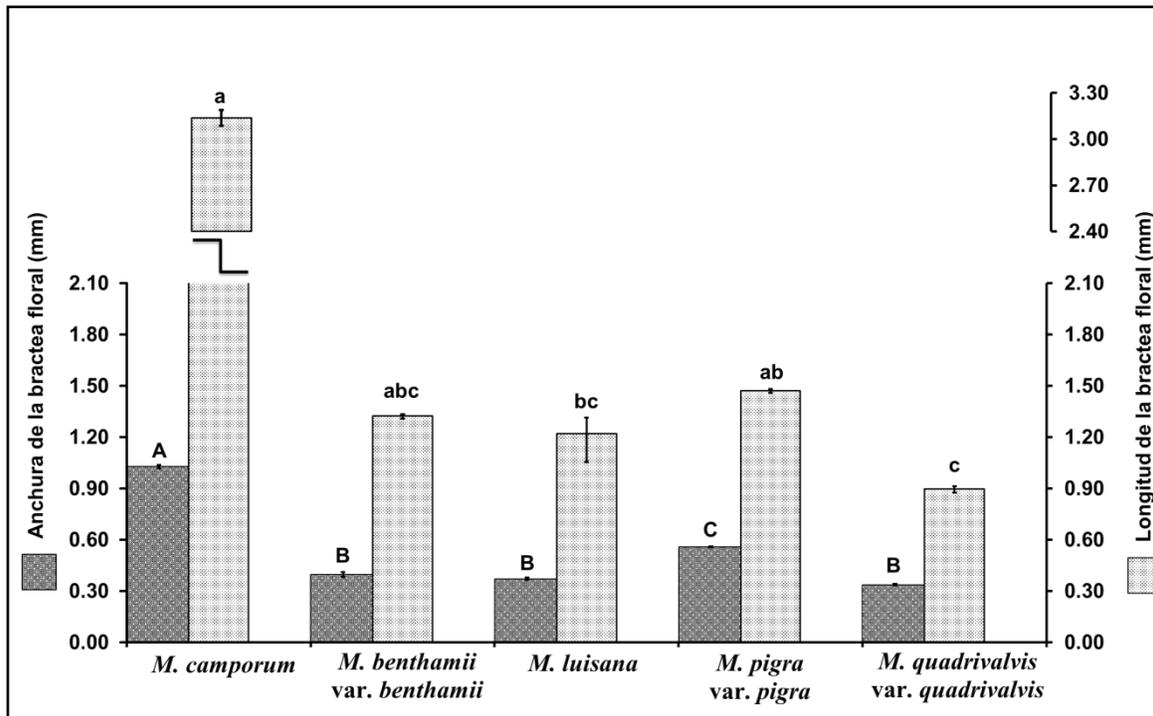


Figura 3. Tamaño de la bráctea floral (longitud y anchura) entre los taxa; las letras diferentes señalan diferencias significativas. Mayúsculas señalan la anchura de la bráctea (Tukey). Minúsculas señalan el largo de la bráctea (Kruskal-Wallis).

### 5.1.2. Morfología de la flor

En *M. camporum* las flores son bisexuales, sésiles; cáliz (0.3-)-0.4(-0.5) mm de largo, 4-lobado, campanulado, glabro, el margen escasamente ciliado; corola (1.8-)-2.4(-3.6) mm de largo, 4-lobada, rosada a púrpura, los lóbulos son glabros a escasamente setosos, lóbulos libres en 1/3 de la longitud de la corola; estambres 8, los filamentos libres de color lila, ovario sésil, largamente hispido, el estilo es sólido y el estigma es oblicuamente crateriforme (Figura 4 a, b).

Para *M. benthamii* var. *benthamii* todas las flores son bisexuales, sésiles; cáliz (0.8-) 1.1(-1.6) mm de largo, campanulado, 5-lobado, seríceo margen largamente ciliado; corola (1.6-)2.1(-2.7) mm de largo, 5(-6)-lobada, rosada a purpúrea, seríceo, lóbulos libres en 1/3 de la longitud de la corola; estambres 10, filamentos libres, de color lila; ovario sésil a ligeramente estipitado, seríceo, estilo es sólido y el estigma es poriforme (Figura 4 c, d).

En el caso de *M. luisana* tiene flores bisexuales sésiles; cáliz (0.4-)0.5(-0.7) mm de largo, campanulado, 4(-5)-lobado, margen ciliado, seríceo; corola (1.9-)2.2(-2.5) mm de largo, 4(-5)-lobada, rosada, a purpúrea, seríceo, lóbulos libres en 1/3 de la longitud de la corola; estambres 8(-10), filamentos libres, lila; ovario estipitado, seríceo, el estilo es sólido, estigma poriforme (Figura 4 e).

Las flores en *M. pigra* var. *pigra* son bisexuales, sésiles; el cáliz (0.5-)0.7(-0.8) mm de largo, 4-lobado, laciniado, el margen liso; corola (2.4-)2.9(-3.5) mm de largo, 4-lobada, estambres 8, los filamentos fusionados en la base, de color lila; ovario sésil a ligeramente estipitado, largamente hispido o pubescente, el estilo es sólido, el estigma es tubular (Figura 5 a, b).

En *M. quadrivalvis* var. *quadrivalvis* se presentan flores bisexuales y algunas estaminadas, cortamente pediceladas, el pedicelo de 0.2 mm; cáliz (0.6-)0.8(-0.9) mm de longitud, 5-lobado, campanulado, glabro, el margen liso, corola (2.2-)2.7(-3.5) 5-lobada, rosada, glabra, los lóbulos libres en 1/3-1/2 de la longitud de la corola; estambres 10, los filamentos libres, de color lila; ovario sésil a cortamente estipitado, glabro a pubescente, con el margen ligeramente equinado, el estilo es sólido y el estigma cupuliforme (Figura 5 c, d).

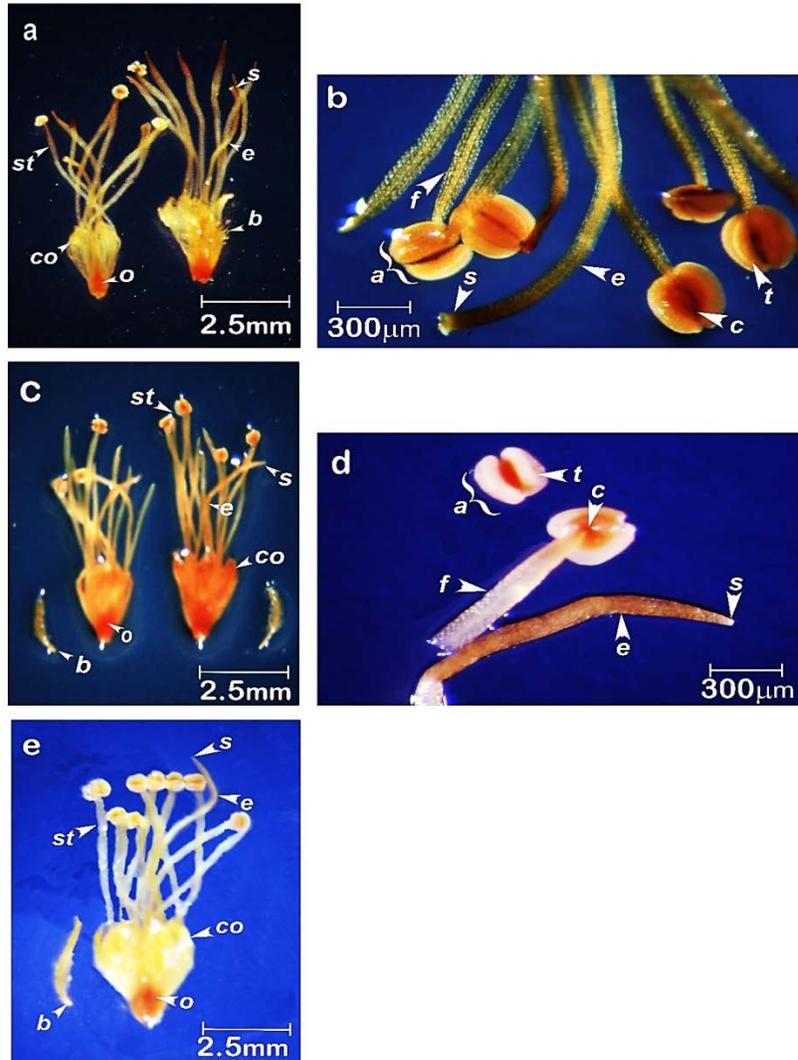


Figura 4. Fotomicrografías en ML de las flores de *Mimosa*. a. Flores de *M. camporum*; b. Acercamiento de los estambres, estilo y estigma de *M. camporum*; c. Flores y brácteas de *M. benthamii* var. *benthamii*; d. Acercamiento de los filamentos y las anteras, estilo y estigma de *M. benthamii* var. *benthamii*; e. Flor y bráctea de *M. luisana*. (b=bráctea, co=corola, o=ovario, e=estilo, s=estigma st=estambres, f=filamento, a=antera, c= conectivo, t=teca).

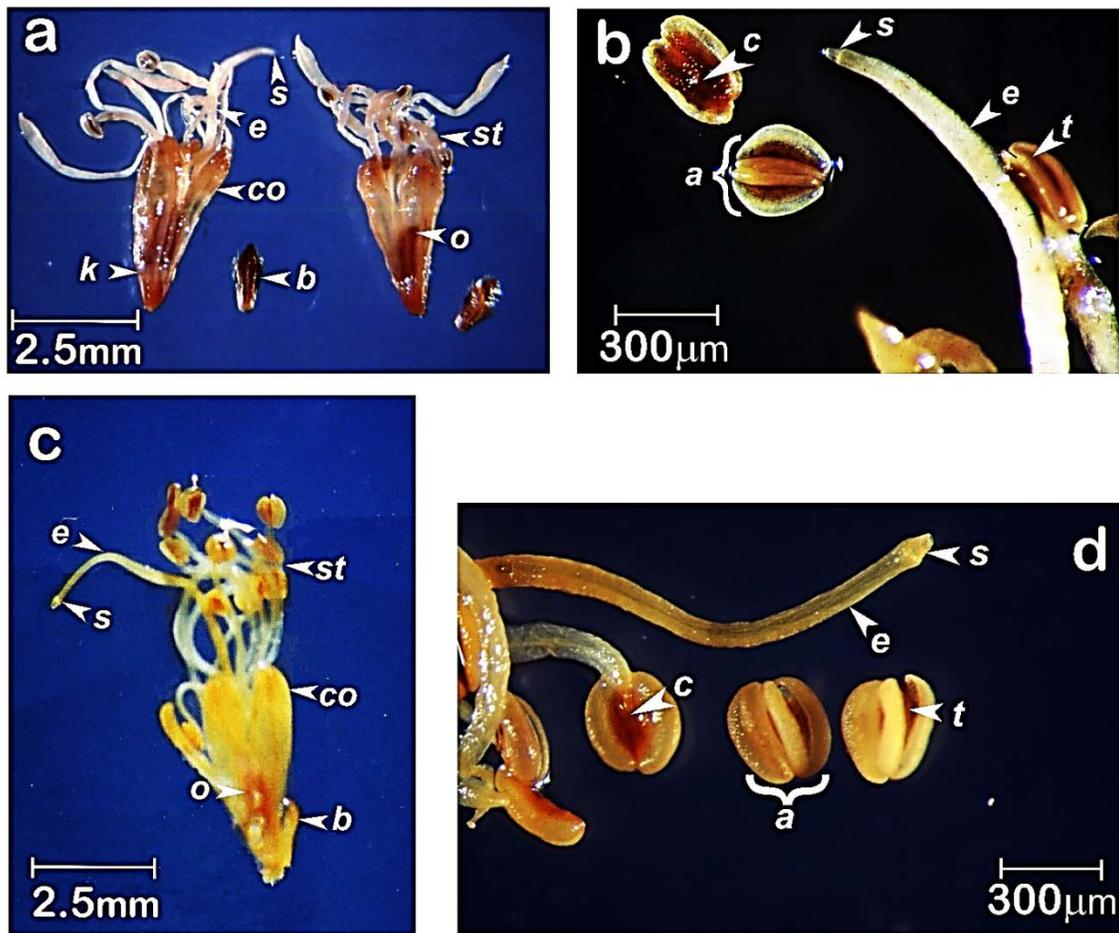


Figura 5. Fotomicrografías en ML de las flores de *Mimosa*. a. Flores de *M. pigra* var. *pigra*; b. acercamiento de las anteras, estilo y estigma de *M. pigra* var. *pigra*; c. Flor de *M. quadrivalvis* var. *quadrivalvis*; d. acercamiento de las anteras, estilo y estigma de *M. quadrivalvis* var. *quadrivalvis*. (b=bráctea, k=cáliz, co=corola, o=ovario, e=estilo, s=estigma st=estambres, a=antera, c= conectivo, t=teca).

### 5.1.3. Longitud total de la flor

La longitud total de la flor registrada de la base de la corola al ápice del estigma, no mostró diferencias significativas ( $F_{4, 15}=2.97$ ;  $P= 0.074$ ) entre los taxa. Sin embargo, es importante señalar, el valor promedio de esta estructura en cada uno de los taxa: *M. luisana* con ca. 7.28 mm, *M. camporum* con ca. 6.89 mm, *M. benthamii* var. *benthamii* con ca. 6.81 mm, *M. quadrivalvis* var.

*quadrivalvis* con ca. 6.77 mm; el rango de longitud no es amplio, lo que permite señalar que la longitud de las flores entre los taxa no varía (Cuadro 6).

#### **5.1.4. Longitud del cáliz y de la corola**

Con respecto a la prueba aplicada a la longitud del cáliz, se observó que existen diferencias significativas ( $F_{4, 15} = 58.52$ ;  $P < 0.0001$ ); *M. benthamii* var. *benthamii* tiene el cáliz de mayor longitud con respecto de los otros taxa, seguido de *M. pigra* var. *pigra* y *M. quadrivalvis* var. *quadrivalvis* con una longitud del cáliz similar, por último, se diferencian *M. camporum* y *M. luisana* por presentar el cáliz más corto entre los taxa. En cuanto a la longitud de la corola, se observaron diferencias significativas ( $F_{4, 15} = 14.45$ ;  $P = 0.0003$ ), donde *M. pigra* var. *pigra* y *M. quadrivalvis* var. *quadrivalvis* presentan la corola con mayor longitud; sin embargo, y *M. quadrivalvis* var. *quadrivalvis* no difiere de *M. camporum*, pero sí de los otros tres taxa; *M. benthamii* var. *benthamii* y *M. luisana* se distinguen, de las tres anteriores, por tener la corola más corta entre los taxa (Figura 6, Cuadro 6).

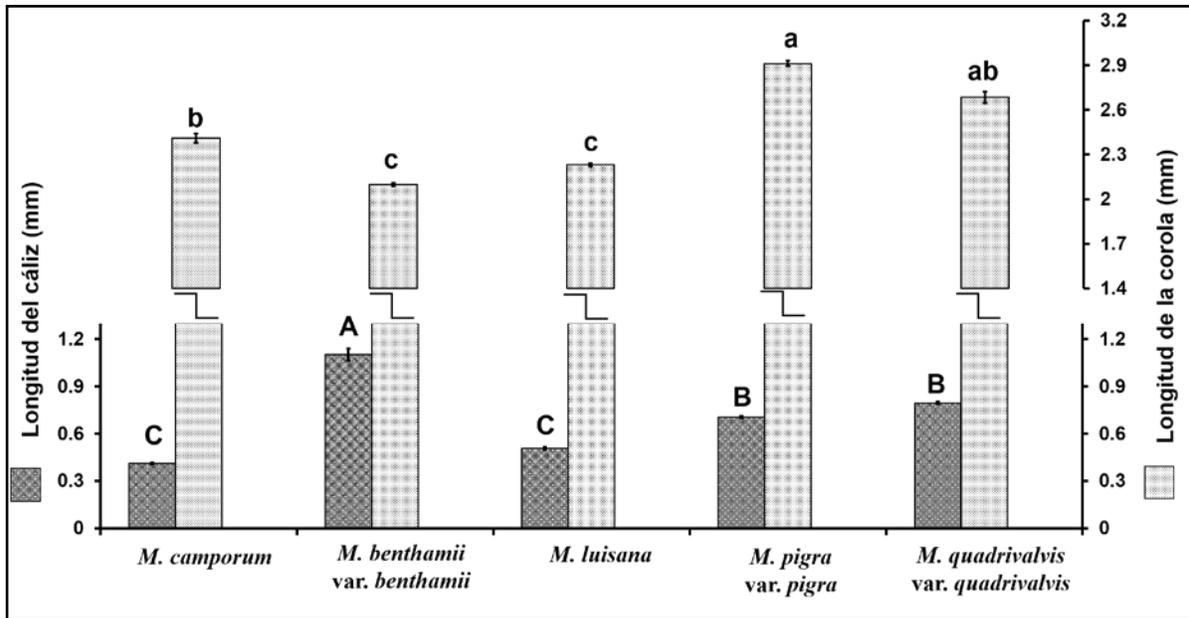


Figura 6. Longitud del cáliz y de la corola entre los taxa, las letras diferentes señalan diferencias significativas, mayúsculas señalan la longitud del cáliz; minúsculas señalan la longitud de la corola (Tukey).

### 5.1.5. Longitud de los estambres

Los estambres presentaron longitudes variables, en un rango de 1-10 mm, por lo cual se separaron en dos tamaños diferentes, medianos (3-6 mm) y largos (6.1-10 mm).

Los estambres medianos y largos se registraron en todos los taxa, en la longitud de los estambres medianos (4.5-5.6 mm) se observaron diferencias significativas ( $F_{4, 15}=11.67$ ;  $P=0.0008$ ) entre *M. camporum* y *M. pigra* var. *pigra*, mientras que, *M. pigra* var. *pigra* difiere significativamente de *M. luisana* y *M. quadrivalvis* var. *quadrivalvis*, pero no de *M. benthamii* var. *benthamii*. Entre *M. luisana*, *M. benthamii* var. *benthamii* y *M. quadrivalvis* var. *quadrivalvis* no se observaron diferencias (Figura 7).

Por otro lado, en la longitud de los estambres largos, se observaron diferencias significativas ( $F_{4, 15}=4.46$ ;  $P=0.0251$ ) sólo entre *M. quadrivalvis* var. *quadrivalvis* y *M. camporum*; mientras que,

*M. pigra* var. *pigra*, *M. luisana* y *M. benthamii* var. *benthamii* no difieren significativamente de los otros taxa (Figura 7).

#### **5.1.6. Longitud del gineceo**

Los datos de la longitud del gineceo muestran que hay diferencias significativas entre los taxa con un nivel de confianza del 94% ( $F_{4, 15}=3.47$ ;  $P=0.0503$ ;  $\alpha<0.06$ ). El gineceo más largo se observó en *M. luisana* y el de menor longitud en *M. pigra* var. *pigra*; ambos taxa difieren de la longitud del gineceo de *M. camporum*, *M. benthamii* var. *benthamii* y *M. quadrivalvis* var. *quadrivalvis*, no se observaron diferencias entre estos tres taxa y a su vez no difieren significativamente de los dos primeros.

Si bien la longitud de cada una de las partes que conforman el gineceo (estípita en su caso, ovario, estilo y estigma) es diferente en cada uno de los taxa, en *M. benthamii* var. *benthamii* y *M. luisana* el ovario es el más corto de todos los taxa, en *M. camporum* y *M. quadrivalvis* var. *quadrivalvis* la longitud del ovario es ligeramente mayor que en las dos anteriores y en *M. pigra* var. *pigra* (Figura 7, Cuadro 6).

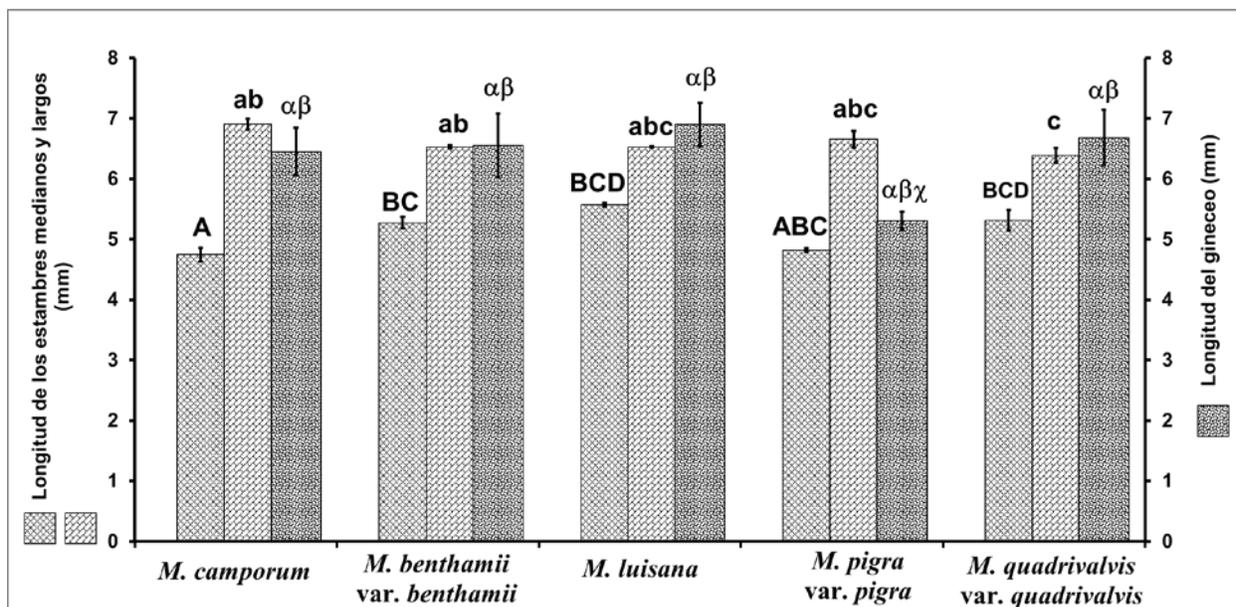


Figura 7. Longitud de los estambres y del gineceo; las letras diferentes señalan diferencias significativas, mayúsculas señalan la longitud de los estambres medianos; minúsculas señalan la longitud de los estambres largos; letras griegas señalan la longitud del gineceo (Tukey).

### 5.1.7. Longitud del estípite del ovario

En *M. camporum* y *M. quadrivalvis* var. *quadrivalvis*, el ovario es sésil, mientras que, en los otros tres taxa, el ovario es estipitado. Los datos sometidos al análisis, mostraron que la longitud del estípite presenta diferencias significativas ( $F_{2, 9}=11.51$ ;  $P=0.0088$ ); señalando que la longitud del estípite en *M. pigra* var. *pigra* no difiere significativamente de la de *M. benthamii* var. *benthamii* y *M. luisana*, pero entre estos dos últimos taxa, sí se observaron diferencias significativas. El ovario con el estípite más largo se observó en *M. luisana* y el más pequeño en *M. benthamii* var. *benthamii* (Cuadro 6).

**Cuadro 5. Características morfométricas de las inflorescencias y de las flores de los taxa estudiados de *Mimosa*. Se presentan los valores mínimo y máximo, el promedio, así como el error estándar, para cada característica.**

<b>Características de las inflorescencias y de las flores</b>	<i>M. camporum</i>	<i>M. benthamii</i> var. <i>benthamii</i>	<i>M. luisana</i>	<i>M. pigra</i> var. <i>pigra</i>	<i>M. quadrivalvis</i> var. <i>quadrivalvis</i>
<b>Número de flores por inflorescencia</b>	10-30 19.667 ±5.783	263-291 277.333 ±8.0897	62-71 65.667 ±2.7284	63-82 71.333 ±5.607	24-31 27 ±2.081
<b>Número de flores bisexuales/ inflorescencia</b>	9-29 18.667 ±5.783	263-291 277.333 ±8.089	62-71 65.667 ±2.728	63-82 71.333 ±5.607	16-25 21.667 ±2.848
<b>Número de flores estaminadas/ inflorescencia</b>	1	0	0	0	2-8 5.333 ±1.763
<b>Longitud de la bráctea floral (mm)</b>	2.205-3.693 3.137 ±0.050	1.0256-1.6996 1.324 ±0.009	0.7155-1.9487 1.219 ±0.095	1.153-1.820 1.472 ±0.008	0.717-1.156 0.898 ±0.013
<b>Anchura de la bráctea floral (mm)</b>	0.879-1.284 1.028 ±0.010	0.2308-0.6325 0.398 ±0.014	0.249-0.538 0.371 ±0.007	0.461-0.743 0.557 ±0.003	0.256-0.435 0.337 ±0.004
<b>Longitud total de la flor (mm)</b>	5.019-7.643 6.898 ±0.120	5.307-8.048 6.812 ±0.059	6.197-8.412 7.282 ±0.062	5.564-7.628 6.649 ±0.015	5.641-7.794 6.775 ±0.068
<b>Anchura de la bráctea floral (mm)</b>	0.8791/1.2845 1.0286 0.0103	0.2308-0.6325 0.398 ±0.014	0.249-0.538 0.371 ±0.007	0.461-0.743 0.557 ±0.003	0.256-0.435 0.337 ±0.004
<b>Longitud del cáliz (mm)</b>	0.273-0.476 0.411 0.005	0.820-1.623 1.102 ±0.038	0.409-0.667 0.508 ±0.008	0.538-0.794 0.705 ±0.006	0.641-0.907 0.795 ±0.007
<b>Longitud de la corola (mm)</b>	1.794-3.566 2.410 ±0.031	1.6068-2.6829 2.098 ±0.010	1.968-2.454 2.230 ±0.009	2.359-3.487 2.911 ±0.016	2.179-3.445 2.684 ±0.038

**Cuadro 6. Continuación...**

<b>Características de las inflorescencias y de las flores</b>	<i>M. camporum</i>	<i>M. benthamii</i> var. <i>benthamii</i>	<i>M. luisana</i>	<i>M. pigra</i> var. <i>pigra</i>	<i>M. quadrivalvis</i> var. <i>quadrivalvis</i>
<b>Longitud de estambres medianos (mm)</b>	4.534-4.926 4.747 ±0.114	5.081-5.372 5.273 ±0.095	5.515-5.622 5.572 ±0.031	4.760-4.858 4.824 ±0.031	4.9949-5.560 5.315 ±0.167
<b>Longitud de estambres largos (mm)</b>	6.805-7.089 6.909 ±0.090	6.492-6.577 6.528 ±0.025	6.516-6.541 6.528 ±0.007	6.389-6.847 6.657 ±0.137	6.153-6.548 6.393 ±0.121
<b>Longitud del gineceo (mm)</b>	4.033-8.825 6.448 ±0.394	1.025-8.169 6.551 ±0.524	4.045-7.858 6.903 ±0.359	4.179-6.000 5.304 ±0.152	3.794-7.781 6.684 ±0.460
<b>Longitud del estilo y estigma (mm)</b>	2.922-7.238 5.192 ±0.244	3.461-7.00 5.571 ±0.422	3.208-6.625 5.798 ±0.392	2.538-4.205 3.748 ±0.111	2.769-6.533 5.645 ±0.372
<b>Longitud del ovario (mm)</b>	0.815-1.619 1.2554 ±0.100	0.410-1.050 0.747 ±0.059	0.741-0.948 0.828 ±0.004	1.025-1.564 1.325 ±0.013	0.743-1.235 1.051 ±0.058
<b>Longitud del estípite del ovario (mm)</b>	0	0.128-0.267 0.179 ±0.014	0.191-0.409 0.2680 ±0.0013	0.102-0.435 0.224 ±0.003	0

## 5.2. Producción de polen

### 5.2.1. Registro del número de granos de polen y políades por antera

En el caso del número de políades, se encontraron diferencias significativas. En este conteo se observaron diferencias significativas ( $F_{4, 15}=14.93$ ;  $P=0.0003$ ); entre *M. benthamii* var. *benthamii* con ca. 1,142.5 y *M. quadrivalvis* var. *quadrivalvis* con ca. 542.5, mientras que, los otros tres taxa no presentaron diferencias significativas con ninguna de las dos anteriores. La cantidad promedio de políades por antera en estos tres taxa es: *M. camporum* con ca. 863, *M. luisana* con ca. 687.1 y *M. pigra* var. *pigra* con ca. 1,045.42 (Figura 8, Cuadro 7).

Con base en el número de políades y de acuerdo al número de mónadas por políade, se hizo una estimación del número de granos de polen individuales producidos por antera. En los taxa que tienen políades de ocho granos, se obtuvieron los siguientes valores: *M. benthamii* var. *benthamii* con 9,140 y *M. luisana* con ca. 5,496 granos de polen por antera. En los taxa que presentan tétrades: *M. pigra* var. *pigra* con 4,181, seguida por *M. camporum* con ca. 3,455 y *M. quadrivalvis* var. *quadrivalvis* con ca. 2,170, granos de polen por antera; el análisis aplicado a estos valores mostró diferencias significativas ( $F_{4, 15}=4.07$ ;  $P=0.0326$ ), señalando que *M. benthamii* var. *benthamii* difiere sólo de *M. quadrivalvis* var. *quadrivalvis*, mientras que, cada una de estos taxa no presenta diferencias con ninguno de los otros tres taxa (Figura 8).

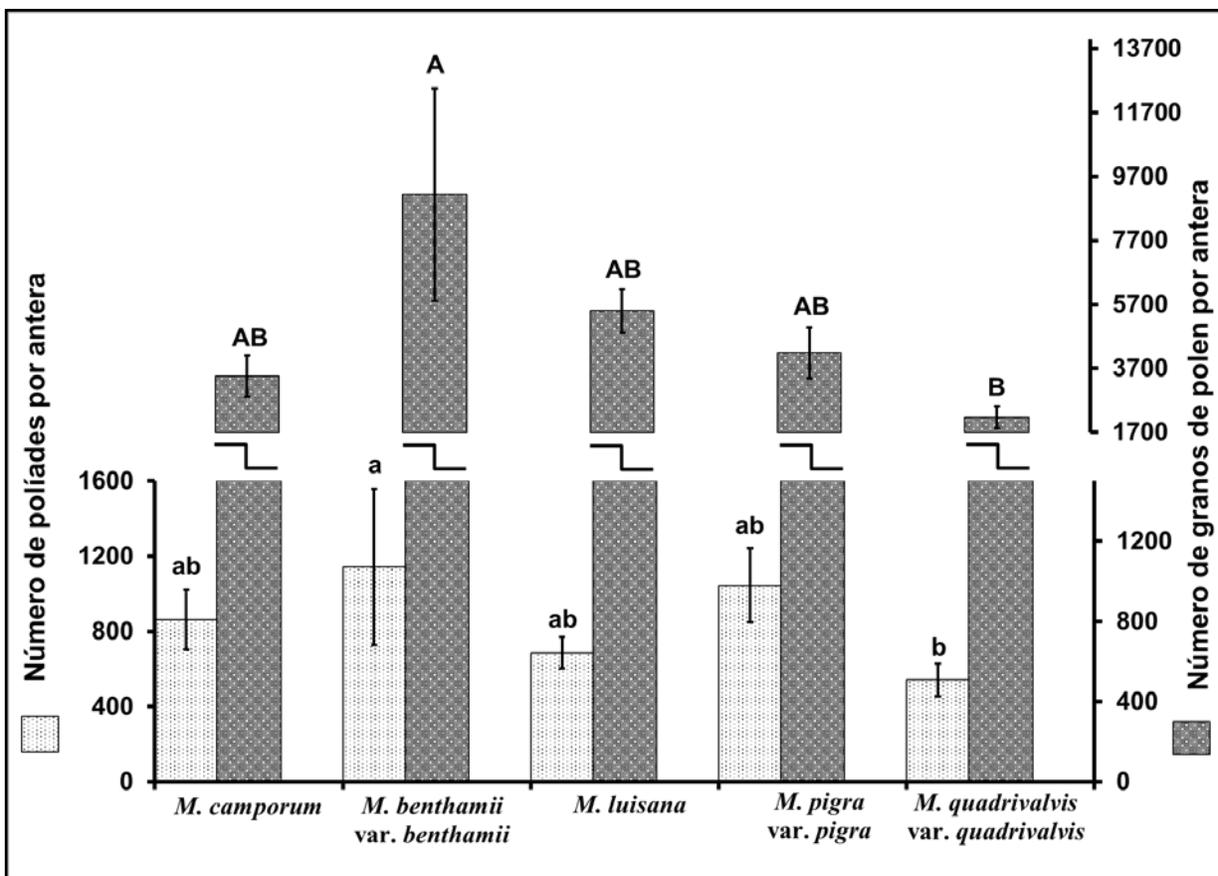


Figura 8. Producción de políades por antera y de granos de polen individuales por antera. Letras diferentes señalan diferencias significativas entre los taxa; minúsculas indican producción de políades por antera (Tukey), y mayúsculas, producción de granos de polen individuales por antera (Tukey).

### 5.2.2. Registro del número de políades por flor y por inflorescencia

Considerando el número de políades por antera, se hizo un cálculo relativo de la producción de políades por flor y por inflorescencia, conforme al número de estambres y al número de flores por inflorescencia. En el número de políades por flor no se observaron diferencias significativas ( $F_{4, 15}=1.40$ ;  $P=0.3038$ ); los valores obtenidos para cada una de los taxa se muestran en el Cuadro 7.

Con los valores obtenidos del número de políades por flor, se hizo una estimación del número de políades por inflorescencia, se observaron diferencias significativas ( $F_{4, 15}=33.69$ ;  $P=0.0001$ ), así

como la variabilidad en la producción de políades por inflorescencia entre los taxa. Se observaron tres grupos, el primero formado por *M. benthamii* var. *benthamii* con ca. 3, 135,113; el segundo grupo lo constituyen *M. luisana* con ca. 452, 812 y *M. pigra* var. *pigra* con 784,320; y el tercer grupo incluye a *M. camporum* con 133,020 y *M. quadrivalvis* var. *quadrivalvis* con 145,737 (Figura 9, Cuadro 7).

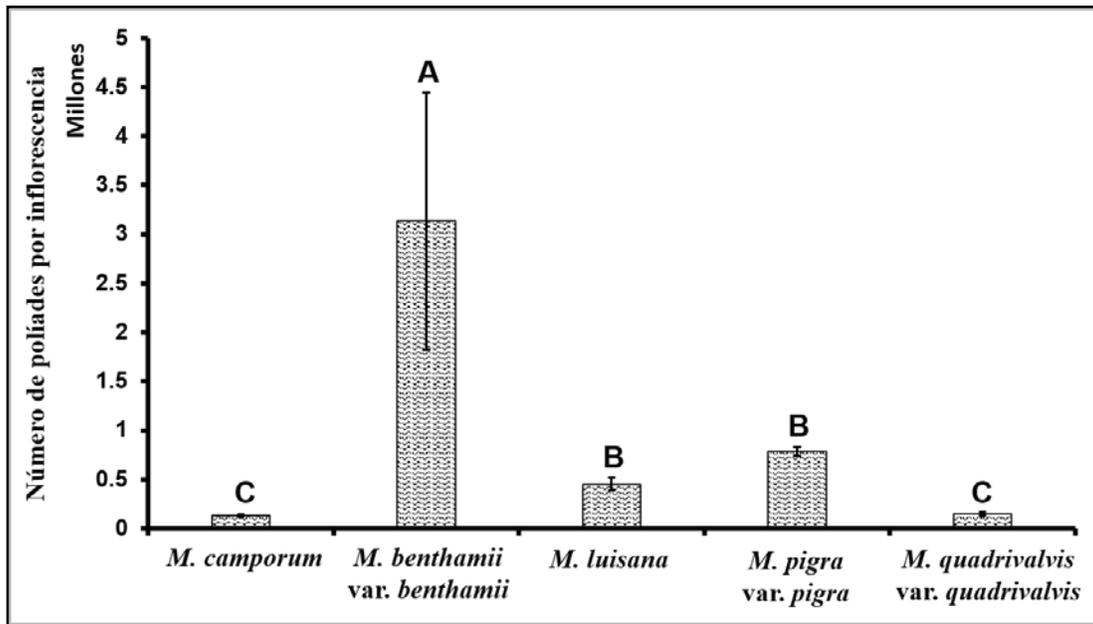


Figura 9. Producción de políades por inflorescencia. Las letras diferentes señalan diferencias significativas entre los taxa (Tukey).

**Cuadro 6. Características cuantitativas del polen y morfológicas de la flor y de las inflorescencias de los taxa estudiados de *Mimosa*. Se presentan los valores mínimo y máximo, el promedio, así como el error estándar, para cada conteo.**

Nombre del taxon y tipo de asociación del polen	Nº de políades por antera	Nº de granos de polen por antera	Nº de políades por flor	Nº de políades por inflorescencia	Tipo de inflorescencia
<i>M. camporum</i> <b>Tétrades</b>	667.5-1,181.25	2,670-4,725	<b>8 estambres</b>	112,860-160,200	Capítulo globoso
	863.75 ±160.22	3,455 ±640.88	5,340-12,600 7,960 ±2,326.46	133,020 ±14,109.4	
<i>M. benthamii</i> var. <i>benthamii</i> <b>Bitétrades</b>	705-1,972.5	5,640-15,780	<b>10 estambres</b>	1,587,862.5-5,739,975	Espiga
	1,142.5 ±415.21	9,140 ±3,321.63	6,037.5-19,725 11,087.5 ±4,339.34	3,135,112.5 ±1,310,078.6	
<i>M. luisana</i> <b>Bitétrades</b>	538.75-830	4,310-6,640	<b>10 estambres</b>	328,637-531,200	Espiga
	687.1 ±84.12	5,496.67 ±672.96	5,387.5-8,300 6,870.83 ±841.21	452, 812.5 ±62,796.6	
<i>M. pigra</i> var. <i>pigra</i> <b>Tétrades</b>	650-1,245	2,600-4,980	<b>8 estambres</b>	687,240-834,120	Capítulo globoso
	1,045.42 ±197.71	4,181.67 ±790.85	9,930-13,200 11,030 ±1,085.035	784,320 ±48,545.5	
<i>M. quadrivalvis</i> var. <i>quadrivalvis</i> <b>Tétrades</b>	450-716.25	1,800-2,865	<b>10 estambres</b>	108,000-186,225	Capítulo globoso
	542.5 ±86.94	2,170 ±347.74	4,500-7,162.5 5,425 ±869.36	145,737.5 ±22,623.4	

### 5.3. Viabilidad y germinación de los granos de polen

#### 5.3.1. Viabilidad del polen

Entre los granos de polen teñidos con Acetocarmín se observaron diferencias significativas ( $F_{4, 15}=9.18$ ;  $P=0.0022$ ), indicando la variabilidad de polen viable entre los taxa. Por un lado *M. luisana* con un 91.84%, junto con *M. benthamii* var. *benthamii* con un 82.18% de viabilidad, presentan el mayor número de granos viables y se agrupan de manera independiente de *M. camporum* con un 72.98%, *M. pigra* var. *pigra* con 76.25% y *M. quadrivalvis* var. *quadrivalvis* con 73.31%; el porcentaje de viabilidad entre estos tres taxa no mostró diferencias significativas (Figura 10).

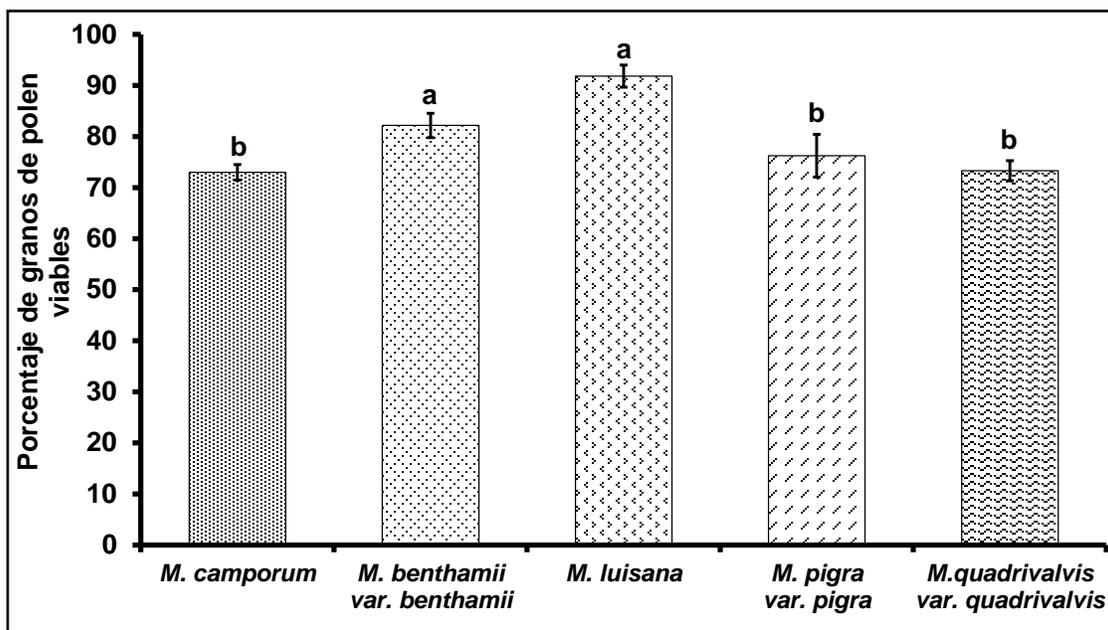


Figura 10. Viabilidad de los granos de polen con Acetocarmín. Letras diferentes señalan diferencias significativas (Tukey).

Los datos obtenidos de los granos de polen sometidos a tinción con Lugol, se evaluaron, por medio del análisis que fue estadísticamente significativo ( $F_{4, 15}=4.46$ ;  $P=0.0251$ ); la viabilidad del

polen entre los taxa varía de la siguiente manera: *M. luisana* con una viabilidad del 86.64% y *M. pigra* var. *pigra* con 78.64% no difieren entre sí; pero con respecto a los otros tres taxa, sí se observaron diferencias. El porcentaje de viabilidad en *M. camporum* fue del 74.73% y en *M. benthamii* var. *benthamii* del 74.52%, sin embargo, estos taxa no difieren significativamente de *M. quadrivalvis* var. *quadrivalvis* con 70.66% de polen viable, aunque ésta se distingue, por ser diferente con respecto a los taxa de mayor porcentaje de viabilidad con este método de tinción (Figura 11).

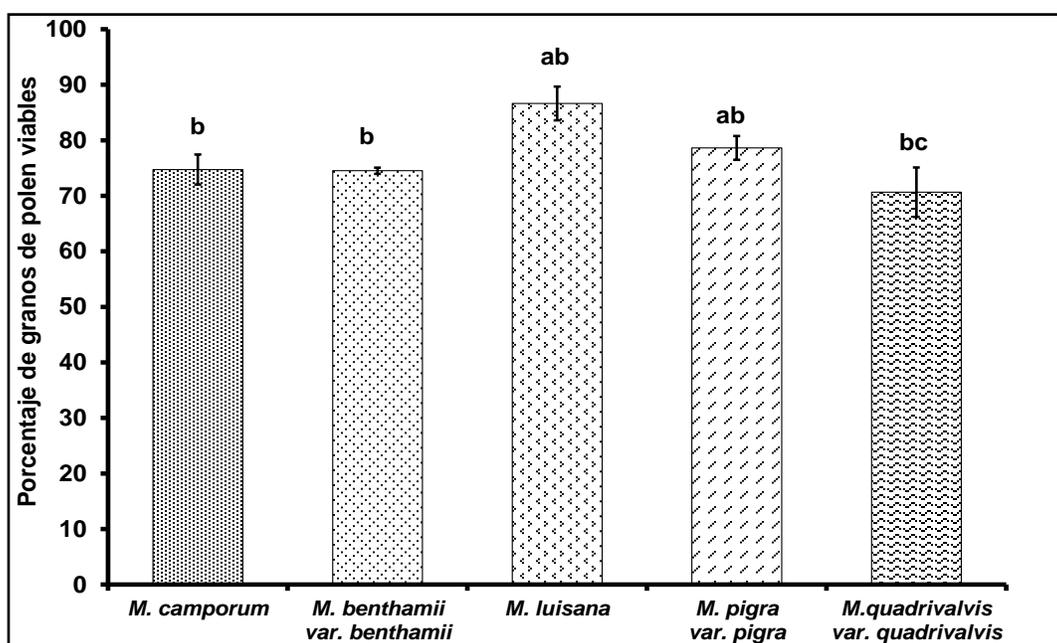


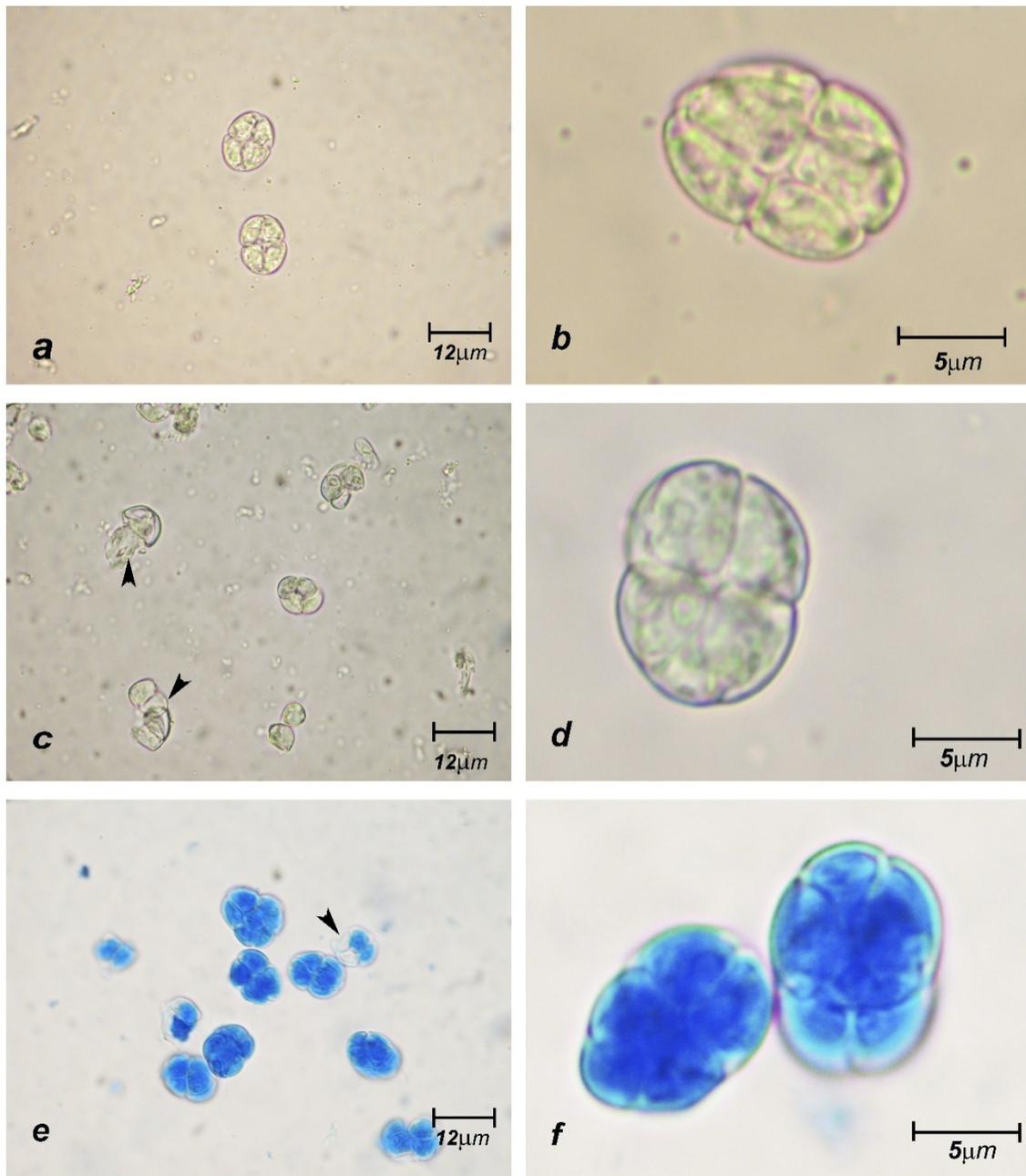
Figura 11. Viabilidad de los granos de polen según tinción con Lugol. Letras diferentes indican diferencias significativas (Tukey).

A los valores de viabilidad con tinción de Azul de Algodón, se aplicó un análisis que no mostró diferencias significativas ( $F_{4, 15}=1.03$ ;  $P=0.4372$ ); sin embargo, es importante mencionar el porcentaje de viabilidad en cada uno de los taxa. La viabilidad de los granos de polen más alta, se denota en *M. luisana* con 82.45%, seguida de *M. pigra* var. *pigra* con 81.53% y *M. benthamii* var.

*benthamii* con 81.05%; mientras que los dos taxa restantes, *M. quadrialvis* con 79.62% y *M. camporum* con 73.28%, presentan el menor porcentaje de granos de polen viables.

Los datos de porcentaje de viabilidad entre los tratamientos, no mostró diferencias significativas ( $F_{4, 15}=1.05$ ;  $P= 0.3639$ ), por lo que, los tres métodos son adecuados para probar la viabilidad del polen de los taxa estudiados.

En la Figura 12, se muestran los resultados obtenidos con los tres métodos aplicados a las bitétrades de *M. luisana*, en la que los porcentajes de viabilidad fueron de *ca.* 92 % con acetocarmín, *ca.* 89% con lugol y *ca.* 92% con azul de algodón.



**Figura 12.** Viabilidad de los granos de polen de *M. luisana* observada con diferentes tratamientos. Tinción con Acetocarmín (a, b); Tinción con Lugol (c, d), Tinción con Azul de Algodón (e, f). Nótese que en c y e se observan algunos granos de polen sin contenido celular, estos son considerados como no viables.

### 5.3.2. Germinación de los granos de polen

La germinación de los granos de polen, sólo se observó en tres taxa de los cinco en estudio (Cuadro 8). En *M. camporum*, los granos de polen iniciaron la formación del tubo polínico a los 30 minutos de haber sido colocados en el medio de cultivo (1), y se registró, al menos un grano de polen en proceso de germinación con un tubo de *ca.* 3  $\mu\text{m}$  de longitud. En la primera hora, seis granos de polen mostraban un ligero crecimiento del tubo polínico de *ca.* 5  $\mu\text{m}$ . En la cuarta hora, ya no se observó una elongación más pronunciada de los tubos polínicos. Debido a la baja respuesta de germinación, las muestras de polen de todas las taxa se cambiaron a los medios de cultivo (2) y (3), en los que, después de 48 hrs, no se observaron cambios en los granos de polen.

De las otras taxa, sólo en *M. benthamii* var. *benthamii* y *M. luisana* se observó la germinación en los medios de cultivo (2) y (3). En el primer taxa, se encontró un tubo polínico de 3  $\mu\text{m}$  de largo en la primera hora; a las cuatro horas se observó un tubo polínico de 5  $\mu\text{m}$  y después, de ocho horas, ya no se observó elongación del tubo polínico. En el segundo taxa, transcurridas las primeras tres horas, se encontró un tubo polínico de *ca.* 5  $\mu\text{m}$ ; posteriormente, ya no se observó mayor crecimiento. En ambos taxa, se detectaron por lo menos dos móradas en proceso de germinación. Después de transcurrir las primeras 24 hrs, en los medios de cultivo (1, 2 y 3), al no encontrar mayor crecimiento del tubo polínico, se cambió al medio de cultivo (4), después de 48 hrs de no observarse germinación alguna, se cambió al medio de cultivo (5), en donde tampoco se observó cambio alguno.

**Cuadro 7. Registro de la germinación de los granos de polen en taxones de *Mimosa*. Los números entre paréntesis señalan el medio de cultivo en que se mantuvieron los granos de polen. La numeración del 1-5 señala el medio de cultivo utilizado.**

Taxa	Tiempo transcurrido en el medio de cultivo			
	30 minutos	1 hora	3-4 horas	24-72 horas
<i>M. camporum</i>	Elongación de un tubo de 3 $\mu\text{m}$ de longitud (1)	Elongación de otro tubo de 5 $\mu\text{m}$ de longitud (2)	No se observó mayor crecimiento (3)	No se observó mayor crecimiento (4, 5)
<i>M. benthamii</i> var. <i>benthamii</i>	Se observó una ligera elongación (2)	Elongación de un tubo de 3 $\mu\text{m}$ de longitud (3)	Elongación de otro tubo de 5 $\mu\text{m}$ de longitud (3)	No se observó mayor crecimiento (4, 5)
<i>M. luisana</i>	No se observó germinación de polen	Se observó una ligera elongación (2)	Elongación de 2 tubos de 5 $\mu\text{m}$ de longitud (3)	No se observó mayor crecimiento (4, 5)
<i>M. pigra</i> var. <i>pigra</i>	No se observó germinación de polen	No se observó	No se observó	No se observó
<i>M. quadrivalvis</i> var. <i>quadrivalvis</i>	No se observó germinación de polen	No se observó	No se observó	No se observó

#### 5.4. Micromorfología y anatomía comparada del gineceo

Los taxa de *Mimosa* presentan gineceo con ovario súpero, unicarpelar y unilocular, la placentación es marginal. En *Mimosa camporum*, el ovario es sésil, hispido, de 1/6 de la longitud del gineceo; estilo sólido, largo y angosto, atenuado hacia el ápice; estigma oblicuamente crateriforme (Figura 13 a).

En *M. benthamii* var. *benthamii* se observó que el ovario es cortamente estipitado, tomentoso, de 1/8 de la longitud del gineceo; estilo sólido, largo y angosto, atenuado hacia el ápice y estigma poriforme (Figura 13 b). El gineceo en *M. luisana* presenta ovario estipitado, seríceo, de 1/8 de la longitud del gineceo; con estilo sólido, largo y angosto; estigma poriforme (Figura 13 c); mientras

que, en *M. pigra* var. *pigra* se observó un ovario estipitado, hispido, de 1/4 de la longitud del gineceo; estilo sólido, largo y angosto, atenuado hacia el ápice; estigma tubular (Figura 13 d).

En el caso de *M. quadrivalvis* var. *quadrivalvis* el ovario es sésil, glabro en sus caras laterales y ligeramente equinado en el margen, de 1/6 de la longitud del gineceo; estilo sólido, largo y angosto, atenuado hacia el ápice; estigma cupuliforme (Figura 13 e).

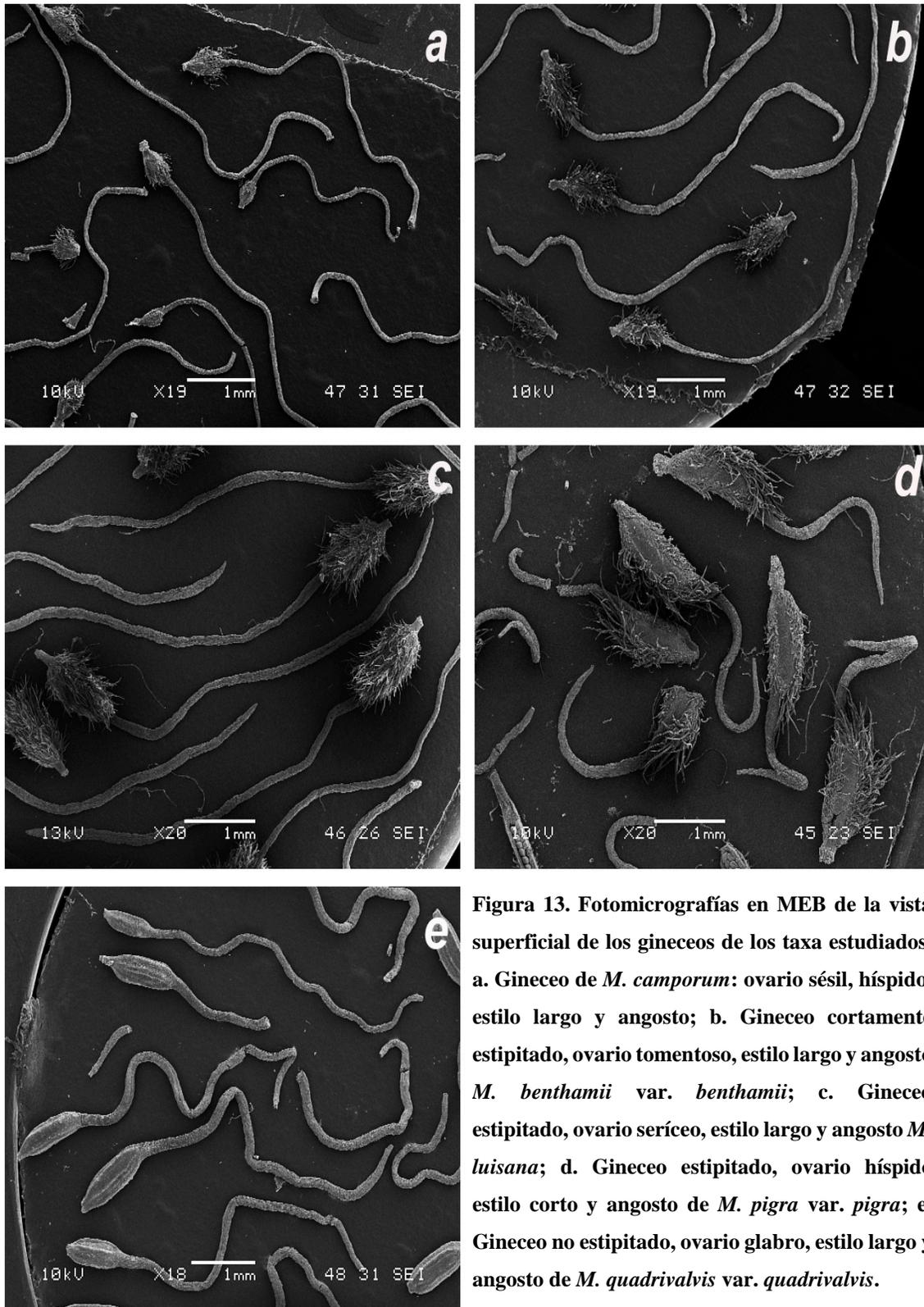


Figura 13. Fotomicrografías en MEB de la vista superficial de los gineceos de los taxa estudiados. a. Gineceo de *M. camporum*: ovario sésil, hispido, estilo largo y angosto; b. Gineceo cortamente estipitado, ovario tomentoso, estilo largo y angosto *M. benthamii* var. *benthamii*; c. Gineceo estipitado, ovario seríceo, estilo largo y angosto *M. luisana*; d. Gineceo estipitado, ovario hispido estilo corto y angosto de *M. pigra* var. *pigra*; e. Gineceo no estipitado, ovario glabro, estilo largo y angosto de *M. quadrivalvis* var. *quadrivalvis*.

En cada uno de los taxa, el número de óvulos por ovario varía de la siguiente manera, en *M. camporum* de 2 a 4 (Figura 14 b); en *M. benthamii* y *M. luisana* 8 a 10 (Figura 14 d, f); en *M. pigra* var. *pigra* y *M. quadrivalvis* var. *quadrivalvis* 16 a 20 (Figura 14 h, j).

En sección longitudinal del ovario, se encuentran tricomas pluricelulares, multiseriados en *M. camporum* y *M. pigra* var. *pigra* y uniseriados en *M. benthamii* var. *benthamii* y *M. luisana*. La epidermis externa de la pared del ovario es biestratificada con células rectangulares a cuadradas; hacia el interior, se encuentran varias capas de parénquima formado por células cuadrangulares a rectangulares; se observan elementos de vaso con engrosamiento helicoidal, (Figura 15 f); la epidermis interna está constituida por una a tres capas de células.

Los óvulos son anátropos, bitégmicos, crasinucelados; el funículo conformado por células rectangulares, la nucela está compuesta por varias capas de células rectangulares con citoplasma denso; la cálaza está formada por células más o menos cuadrangulares, en la base de la nucela, donde llega el haz vascular y convergen los tegumentos, el tegumento interno es reducido, conformado por células irregulares y el tegumento externo está constituido por células cuadrangulares a rectangulares, que cubren completamente al tegumento interno; el micrópilo es exóstomo, debido a que está formado por el tegumento externo. Debajo del micrópilo, se puede observar el obturador, conformado por un grupo de 4 a 10 células elipsoidales con paredes anticlinales, perpendiculares a la pared interna del ovario. (Figura 15 a-d y 16 a-e).

El saco embrionario en formación se observa en *M. camporum* y en *M. quadrivalvis* var. *quadrivalvis* (Figura 20 a, e)

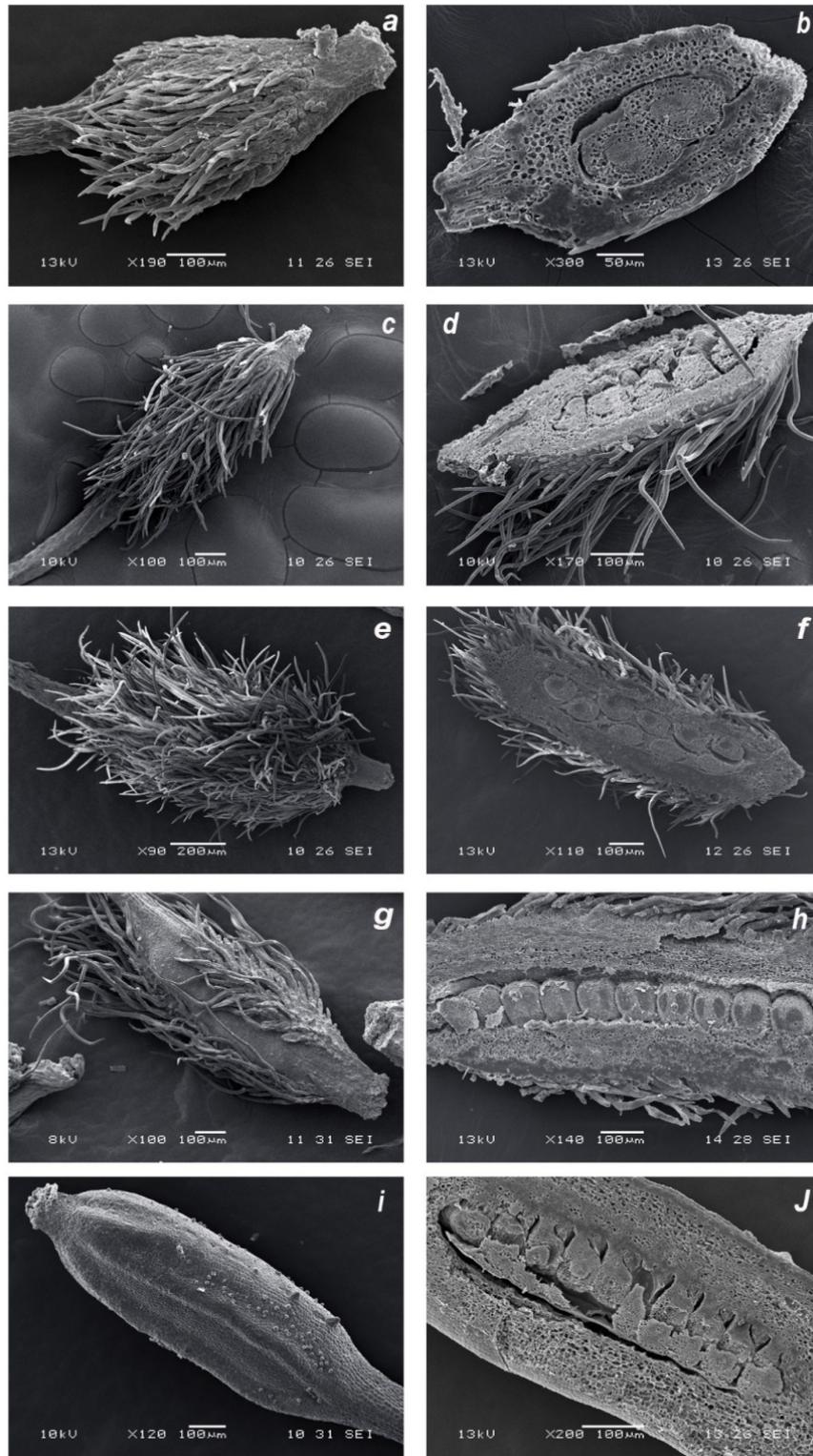


Figura 14. Fotomicrografías al MEB del ovario en vista superficial y en corte longitudinal. a, b. *M. camporum*; c, d. *M. benthamii* var. *benthamii*; e, f. *M. luisana*; g, h. *M. pigra* var. *pigra*; i, j. *M. quadrivalvis* var. *quadrivalvis*.

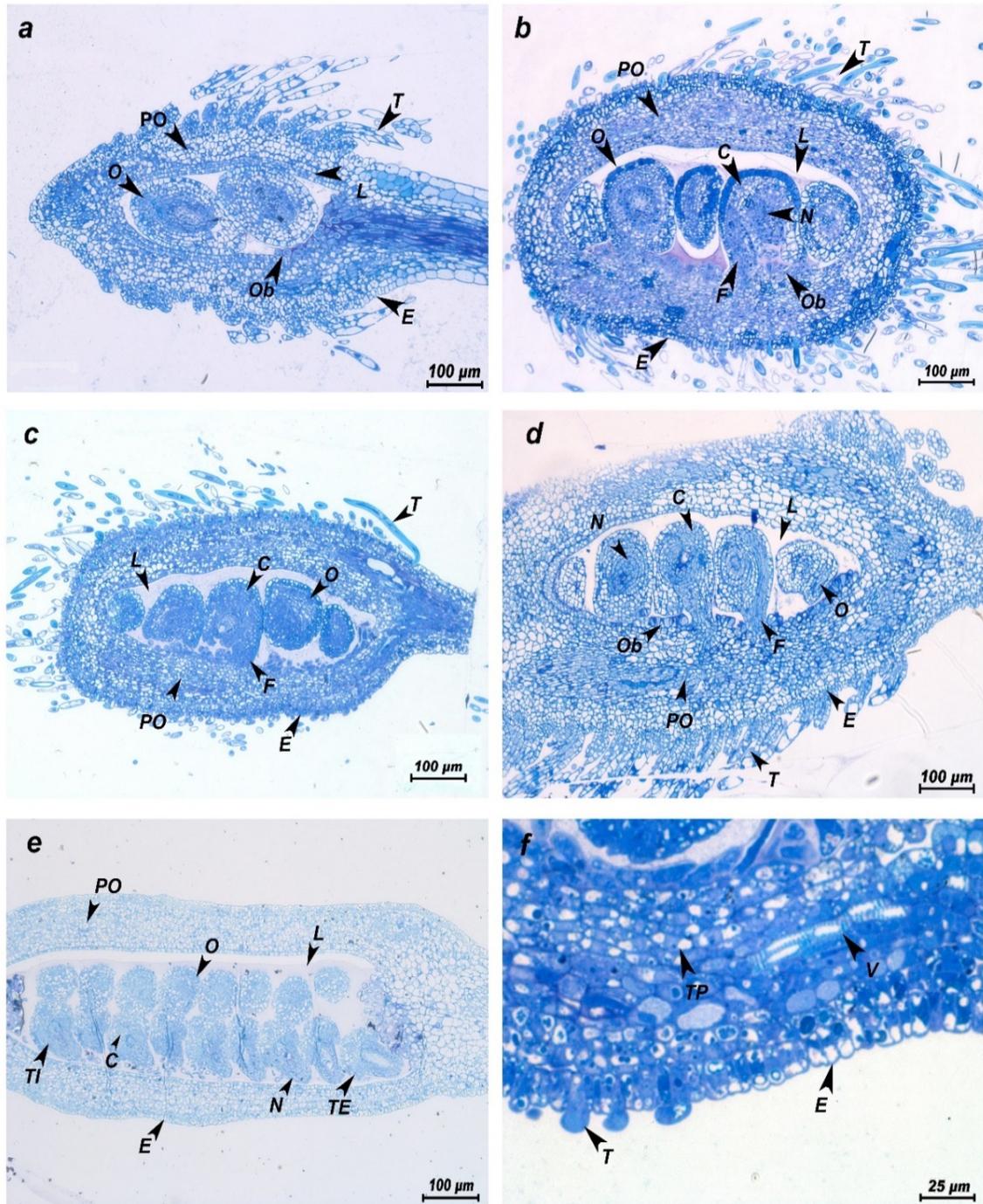


Figura 15. Fotomicrografías en ML del ovario en sección longitudinal. a. *M. camporum*; b. *M. benthamii* var. *benthamii*; c. *M. luisana*; d. *M. pigra* var. *pigra*; e. *M. quadrivalvis* var. *quadrivalvis*; f. Detalle de la sección longitudinal del ovario de *M. quadrivalvis*. T= tricomas E= epidermis, TP= tejido parenquimatoso, V= células con engrosamiento heliocoidal, TT= tejido de transmisión, L= lóculo, PO= pared del ovario, Ob= obturador, O= óvulo, TI= tegumento interno, TE= tegumento externo, N= nucela, C= calaza, F= funículo.

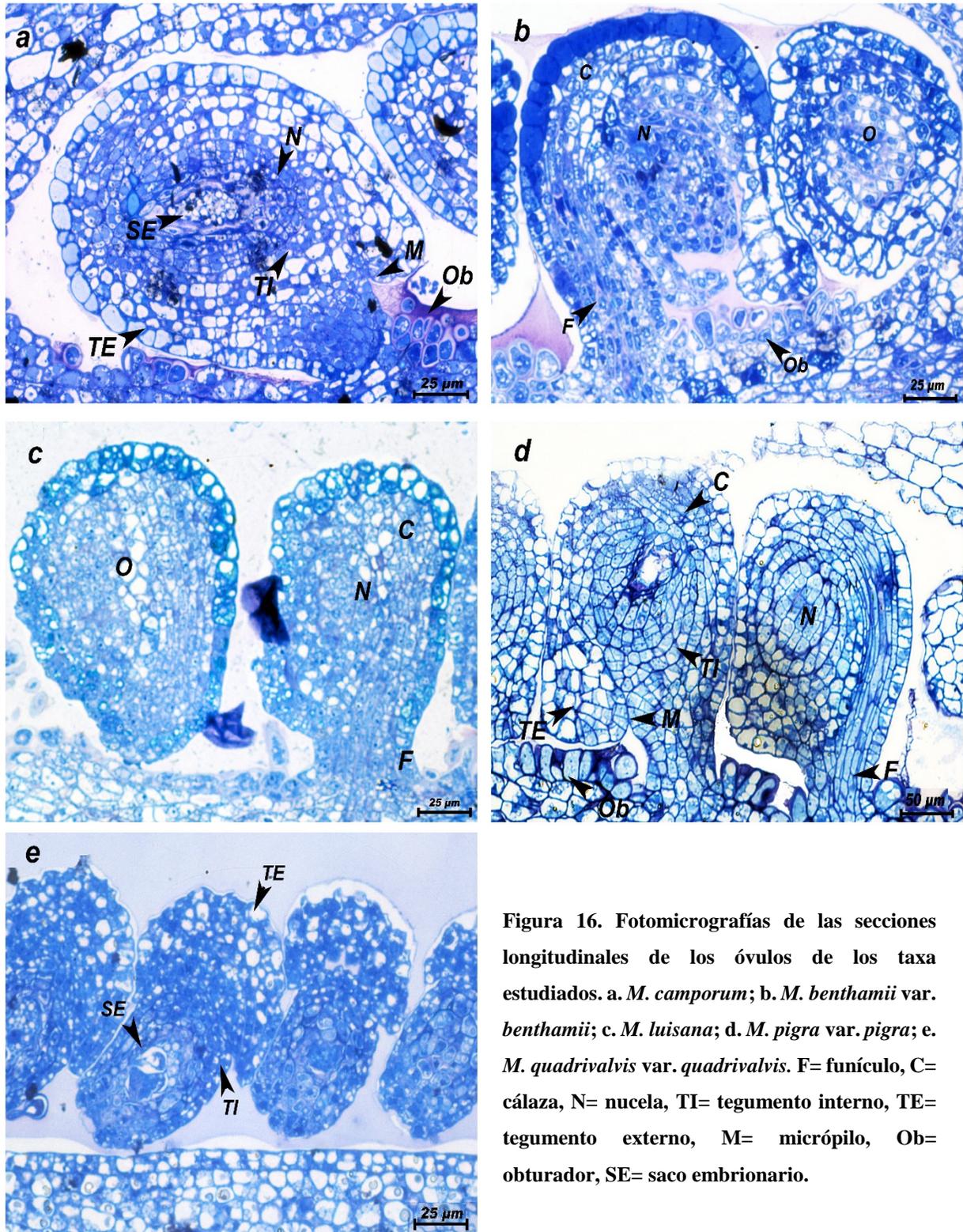
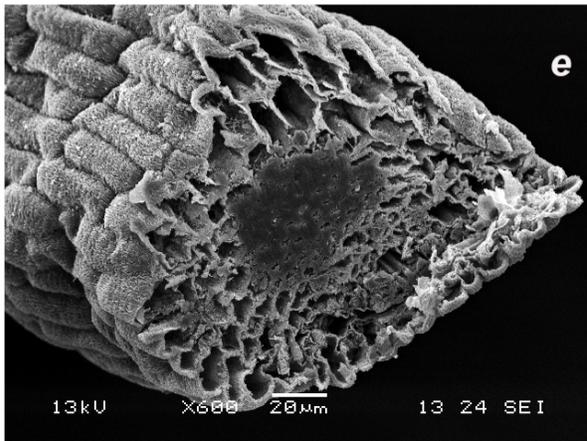
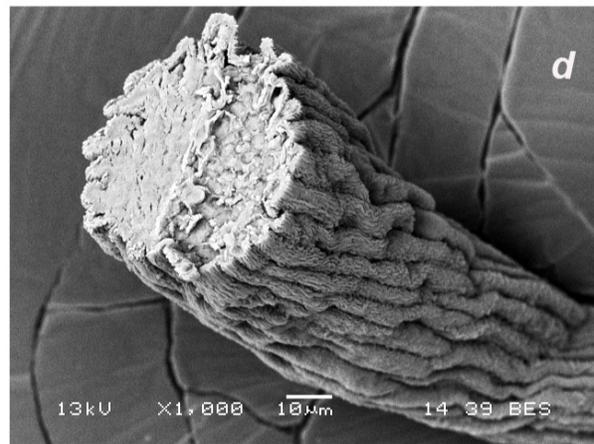
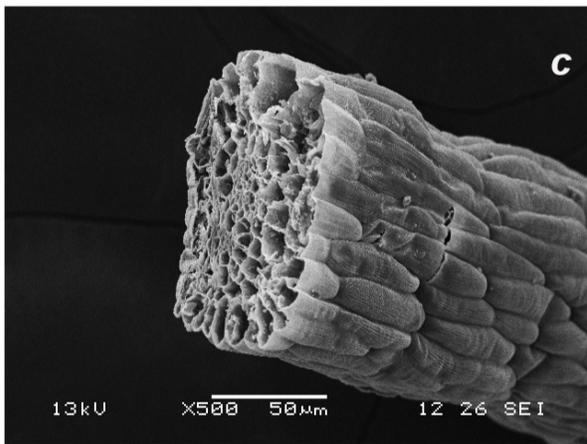
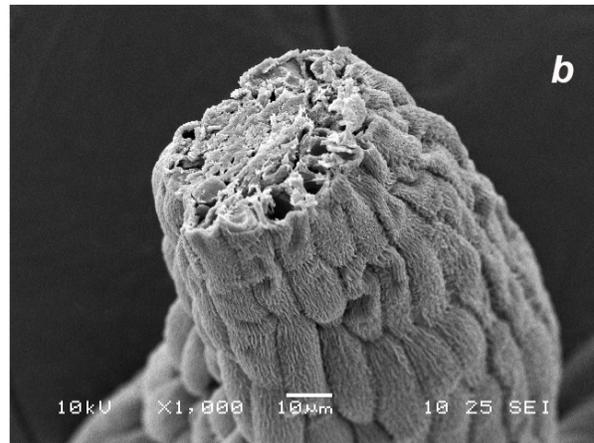


Figura 16. Fotomicrografías de las secciones longitudinales de los óvulos de los taxa estudiados. a. *M. camporum*; b. *M. benthamii* var. *benthamii*; c. *M. luisana*; d. *M. pigra* var. *pigra*; e. *M. quadrivalvis* var. *quadrivalvis*. F= funículo, C= cálaza, N= nucela, TI= tegumento interno, TE= tegumento externo, M= micrópilo, Ob= obturador, SE= saco embrionario.

El estilo, observado en microscopía electrónica de barrido (MEB), es delgado y sólido en todos los taxa; las células de la epidermis presentan la cutícula con una ornamentación rugulada. Las células epidérmicas son cilíndricas y de contorno rectangular en vista superficial, se unen a las células adyacentes dando la apariencia de una cuerda (Figura 17).

En sección longitudinal (microscopía de campo claro), se distingue una epidermis monoestratificada, con células rectangulares a isodiamétricas. Al interior, el parénquima está constituido por células rectangulares o fusiformes, con paredes oblicuas. En la porción central se distingue el tejido de transmisión, con células alargadas fusiformes, con la pared muy engrosada, el citoplasma denso y vacuolas abundantes; se observaron algunos elementos de vaso con engrosamiento helicoidal (Figura 18 b, d, f, h, j).

En sección transversal (microscopía de campo claro), las células de la epidermis son más o menos cuadrangulares y con la cutícula engrosada y con la ornamentación rugulada evidente, la cutícula se extiende hacia las caras anticlinales en mayor o menor grado; las células del parénquima son isodiamétricas; el tejido de transmisión se localiza en la parte central, junto a los tejidos vasculares, las células del tejido de transmisión tienen paredes gruesas sin espacios intercelulares (Figura 18 a, c, e, g, i).



**Figura 17. Fotomicrografías al MEB del estilo en vista superficial y en sección transversal.**

**a. *M. camporum***

**b. *M. benthamii* var. *benthamii***

**c. *M. luisana***

**d. *M. pigra* var. *pigra***

**e. *M. quadrivalvis* var. *quadrivalvis***

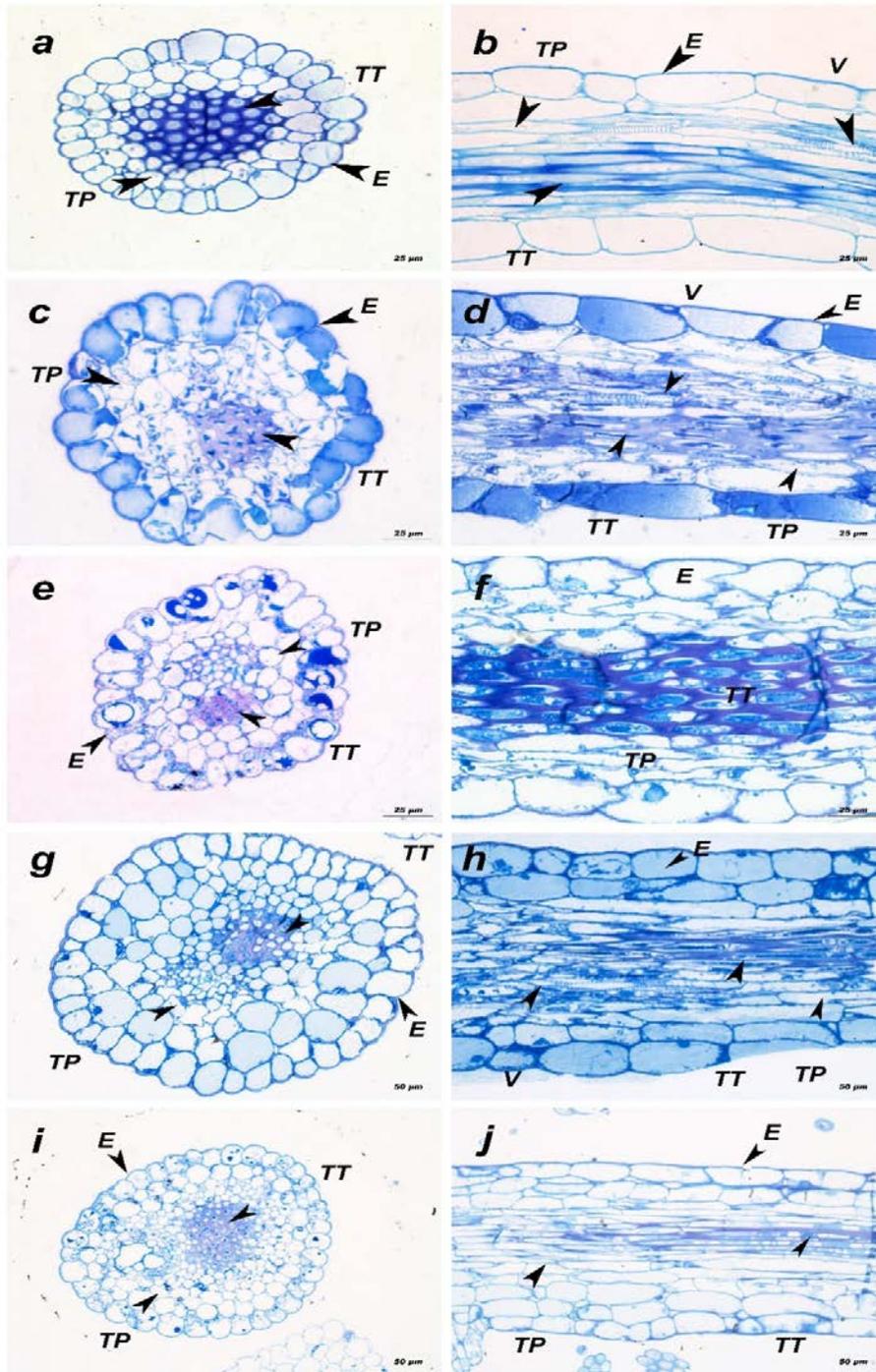


Figura 18. Fotomicrografías de microscopía de campo claro de las secciones transversales y longitudinales del estilo de los taxa estudiados. a, b. *M. camporum*; c, d. *M. benthamii* var. *benthamii*; e, f. *M. luisana*; g, h. *M. pigra* var. *pigra*; i, j. *M. quadrivalvis* var. *quadrivalvis*. E= epidermis, TP=tejido parenquimatoso, V= elementos de vaso con engrosamiento helicoidal, TT=tejido de transmisión.

La estructura del estigma se estudió usando microscopía electrónica de barrido y microscopía de campo claro. Se describen a detalle, los cuatro tipos de estigmas encontrados: oblicuamente crateriforme, poriforme, tubular y cupuliforme; en vista superficial al MEB la diferenciación de estilo y estigma no es conspicua, las células epidérmicas son uniformes en toda la estructura, excepto en *M. camporum* (Figura 19 a-j).

El estigma de *M. camporum* es oblicuamente crateriforme, al MEB se caracteriza por mostrar una superficie amplia y cóncava, no presenta cámara estigmática; en ML y en sección longitudinal (Figura 20 a), la epidermis está conformada por células pequeñas de forma más o menos isodiamétrica y se diferencian hacia la parte basal del estigma, con un cambio de tamaño y tendiendo a ser rectangulares en la porción apical del estilo. Las células del área central que constituyen el tejido de transmisión, son más o menos isodiamétricas a elípticas con las paredes engrosadas y, se continúa de la porción apical del estilo hasta la pared del ovario.

El estigma de tipo poriforme, se muestra en sección longitudinal en *M. benthamii* var. *benthamii* y *M. luisana* (Figura 20 b, c), el cual consiste de un orificio reducido en el ápice, seguido de un espacio interno hasta la base del estigma, donde se diferencia el tejido de transmisión; que continua, sin un cambio abrupto en la parte apical del estilo hasta la base del mismo. El espacio interno del estigma se denomina cámara estigmática; en estos dos taxa, la cámara tiene un área bastante reducida, en comparación con las de *M. pigra* var. *pigra* y *M. quadrivalvis* var. *quadrivalvis*. En la porción basal del estigma se encuentra el tejido de transmisión, que produce un exudado que está en contacto con los granos de polen, es continuo desde la base de la cavidad estigmática y a lo largo del estilo.

El estigma en *M. pigra* var. *pigra* es del tipo tubular en sección longitudinal (Figura 20 d), está constituido por una cámara estigmática, aunque el orificio apical es de mayor diámetro y tiene una profundidad y anchura mayor hacia la base del estigma, que en *M. benthamii* var. *benthamii* y *M. luisana*. El área de la cámara estigmática es continua en toda su dimensión; en este caso, no se observa un cambio conspicuo en el tejido de transmisión del estigma al estilo. La epidermis del estigma es continua a lo largo de todo el estilo, con células de forma rectangular; el tejido de transmisión se observa en la parte central, en la base de la cámara estigmática.

El estigma cupuliforme de *M. quadrialvis* var. *quadrialvis* en sección longitudinal (Figura 20 e), se caracteriza por una cámara estigmática reducida en el ápice y que se ensancha en la parte interna hacia la base; la epidermis recubre la cámara en la mitad superior, y consiste de células rectangulares, que son continuas con las células epidérmicas del estilo. El tejido de transmisión es abundante y está constituido como en los cuatro taxa anteriores, por células alargadas, de pared engrosada, se encuentra desde la parte basal de la cámara estigmática y continúa por todo el estilo.

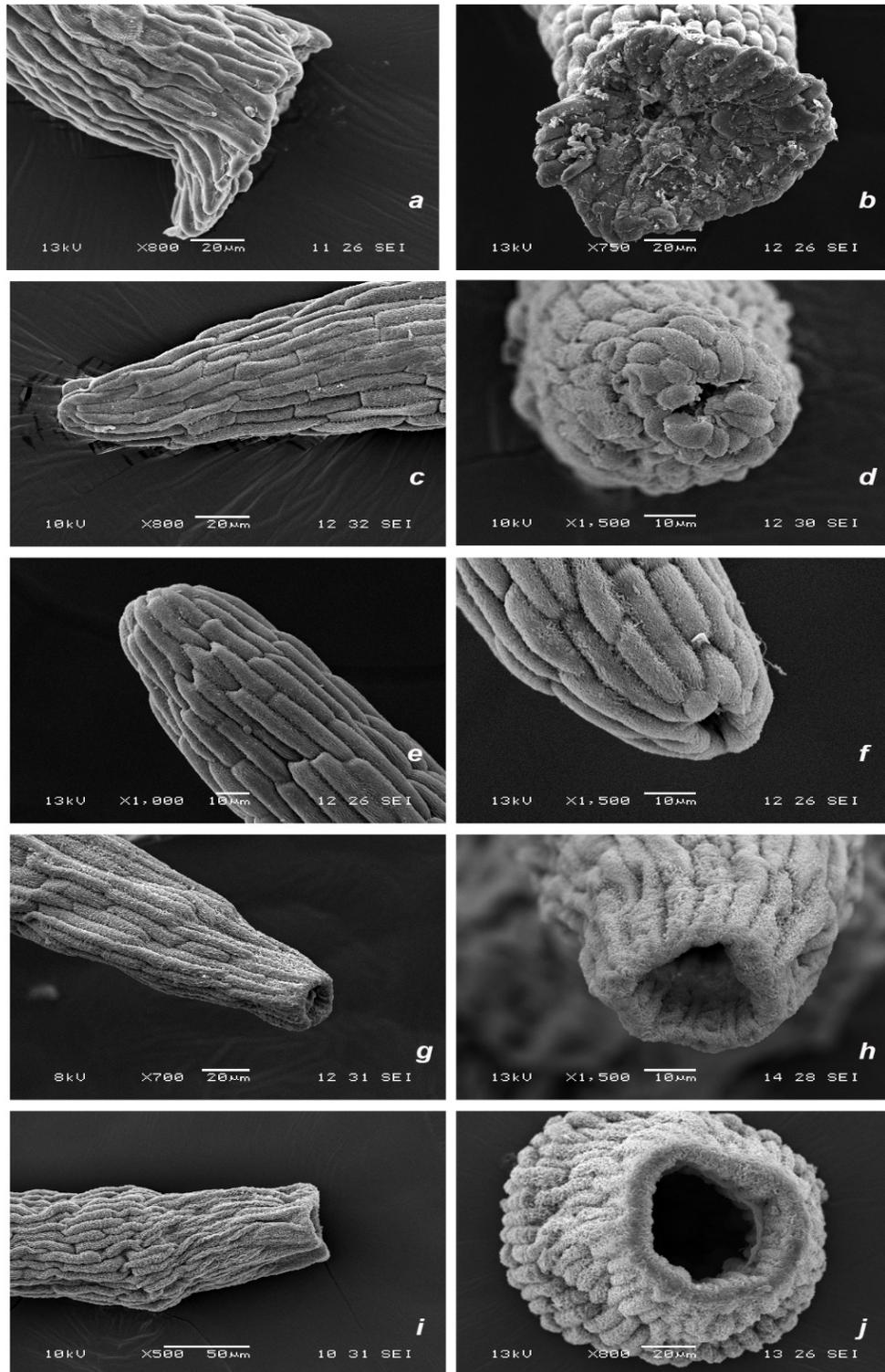


Figura 19. Fotomicrografías en MEB, en vista lateral y apical del estigma. a, b. estigma oblicuamente crateriforme de *M. camporum*; c, d. estigma poriforme de *M. benthamii* var. *benthamii*; e, f. estigma poriforme de *M. luisana*; g, h. estigma tubular de *M. pigra* var. *pigra*; i, j. estigma cupuliforme de *M. quadrivalvis* var. *quadrivalvis*.

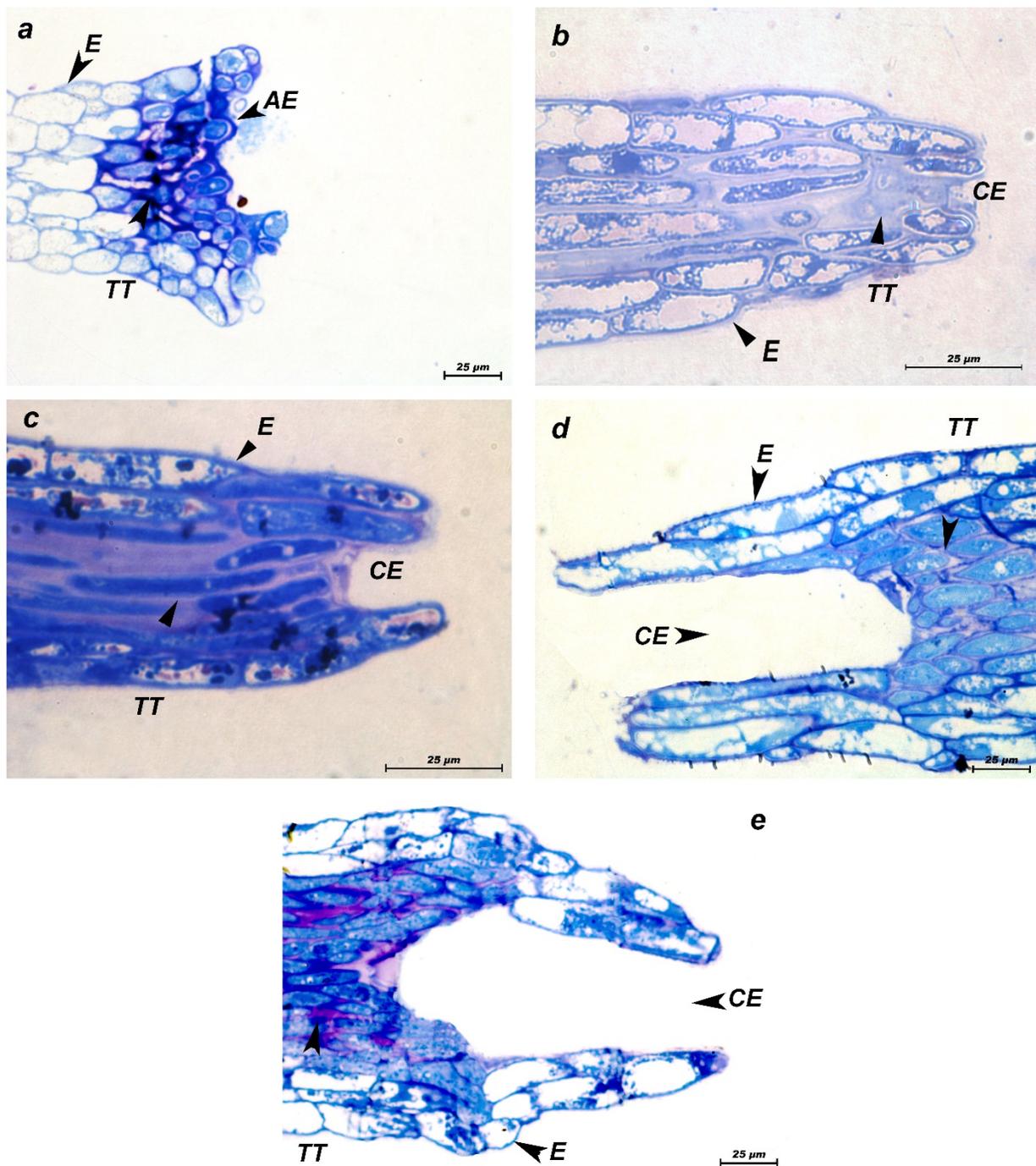


Figura 20. Fotomicrografías en microscopía de campo claro de las secciones longitudinales del estigma. a. estigma oblicuamente crateriforme de *M. camporum*; b. estigma poriforme de *M. benthamii* var. *benthamii*; c. estigma poriforme de *M. luisana*; d. estigma tubular de *M. pigra* var. *pigra*; e. estigma cupuliforme de *M. quadrivalvis* var. *quadrivalvis*. AE= área estigmática, CE= cámara estigmática, E= epidermis, TT= tejido de transmisión.

## 5.5. Morfología comparada del polen

El análisis de los granos de polen por MEB y ML, permitió observar las diferencias morfológicas y describir a detalle la estructura de los mismos. En los taxa estudiados los granos de polen están asociados en políades de cuatro y ocho mónades.

### 5.5.1. Descripciones palinológicas

#### *Mimosa camporum*

Tétrades cruzadas, esferoidales, bisimétricas, de tipo acalimado, con diámetro mayor de (23.26-) 23.65(-24.00)  $\mu\text{m}$  y diámetro menor de (21.83-)22.24(-22.60)  $\mu\text{m}$ . Granos individuales con caras proximales planas y una cara distal marcadamente convexa; los granos opuestamente unidos 2 a 2 por la cara proximal; eje polar de (12.36-)12.42(-12.50)  $\mu\text{m}$  y eje ecuatorial de (16.50-)16.71(-16.96)  $\mu\text{m}$ ; los poros 3-5 en los vértices y en los bordes de la cara distal, en posición subdistal. Exina delgada, de 1  $\mu\text{m}$  de grosor, ornamentación microverrugada al ML y al MEB (Figura 21 a, b; 22 a).

Nº de registro Colección Palinológica, UAMIZ: 127, 128, 129.

Ejemplar de referencia: E. L. Martínez-Olivares *et al.* 19 (74275, 74275, 74277); 20 (74281, 74282, 74283); 21 (74281, 74282 74283) (UAMIZ).

#### *Mimosa benthamii* var. *benthamii*

Bitétrades elipsoidales, bisimétricas, de tipo acalimado, con una zona ecuatorial y dos hemisferios bien definidos por las 2 tétrades, cada una con los 4 granos opuestos 2 a 2 en sentido longitudinal, siendo 2 centrales y 2 laterales. Las tétrades han sufrido una leve rotación en el sentido de su meridiano; diámetro mayor de (15.66-)16.12(-16.53)  $\mu\text{m}$  y diámetro menor de (11.93-)11.95(-11.97)

$\mu\text{m}$ . Granos individuales de forma piramidal con la cara distal como base, cuadrangular en los granos centrales y triangular en los laterales, con 4 y 3 caras proximales respectivamente; eje polar de (6.70- )6.95(-7.33)  $\mu\text{m}$  y eje ecuatorial de (9.10-)9.18(-9.33)  $\mu\text{m}$ ; los poros en los vértices de la cara distal, en posición subdistal. Exina delgada, de 1  $\mu\text{m}$  de grosor, ornamentación microverrugada al ML y al MEB (Figura 21 c, d; 22 b).

Nº de registro Colección Palinológica, UAMIZ: 136-137, 138.

Ejemplar de referencia: E. L. Martínez-Olivares *et al.* 40 (74284, 74285, 74286); 41 (74287, 74288, 74289); 42 (74290, 74291, 74292) (UAMIZ).

### ***Mimosa luisana***

Bitétrades elipsoidales, bisimétricas, de tipo acalimado, con una zona ecuatorial y dos hemisferios bien definidos por las 2 tétrades, cada una con los 4 granos opuestos 2 a 2 en sentido longitudinal, siendo 2 centrales y 2 laterales. Las tétrades han sufrido una leve rotación en el sentido de su meridiano; diámetro mayor de (15.50-)16.29(-17.00)  $\mu\text{m}$  y diámetro menor de (10.90-)11.50(-11.97)  $\mu\text{m}$ . Granos individuales de forma piramidal con la cara distal como base, cuadrangular en los granos centrales y triangular en los laterales, con 4 y 3 caras proximales respectivamente; eje polar de (6.60- )6.74(-6.87)  $\mu\text{m}$  y eje ecuatorial de (9.43-)9.62(-10.0)  $\mu\text{m}$ ; los poros en los vértices de la cara distal, en posición subdistal. Exina delgada, de 1  $\mu\text{m}$  de grosor, ornamentación microverrugada al ML y al MEB (Figura 21 e, f; 22 c).

Nº de registro Colección Palinológica, UAMIZ: 121, 122, 123.

Ejemplar de referencia: E. L. Martínez-Olivares *et al.* 6 (74293, 74294, 74295); 9 (74296, 74297, 74298); 10 (74299, 74300, 742301) (UAMIZ).

***Mimosa pigra* var. *pigra***

Tétrades cruzadas, aplanadas, elipsoidales, bisimétricas, de tipo acalimado, con diámetro mayor de (24.93-)25.21(-25.73)  $\mu\text{m}$  y diámetro menor de (17.86-)18.61(-19.06)  $\mu\text{m}$ . Granos individuales con 3 caras proximales planas y una cara distal marcadamente convexa; los granos opuestamente unidos 2 a 2 por la cara proximal; eje polar de (10.53-)10.81(-10.97)  $\mu\text{m}$  y eje ecuatorial de (14.10-)14.44(-14.87)  $\mu\text{m}$ ; los poros 3, en los vértices de la cara distal, en posición subdistal. Exina delgada, de 1  $\mu\text{m}$  de grosor, ornamentación microverrugada al ML y al MEB (Figura 21 g, h; 22 d).

Nº de registro Colección Palinológica, UAMIZ: 133, 134, 135.

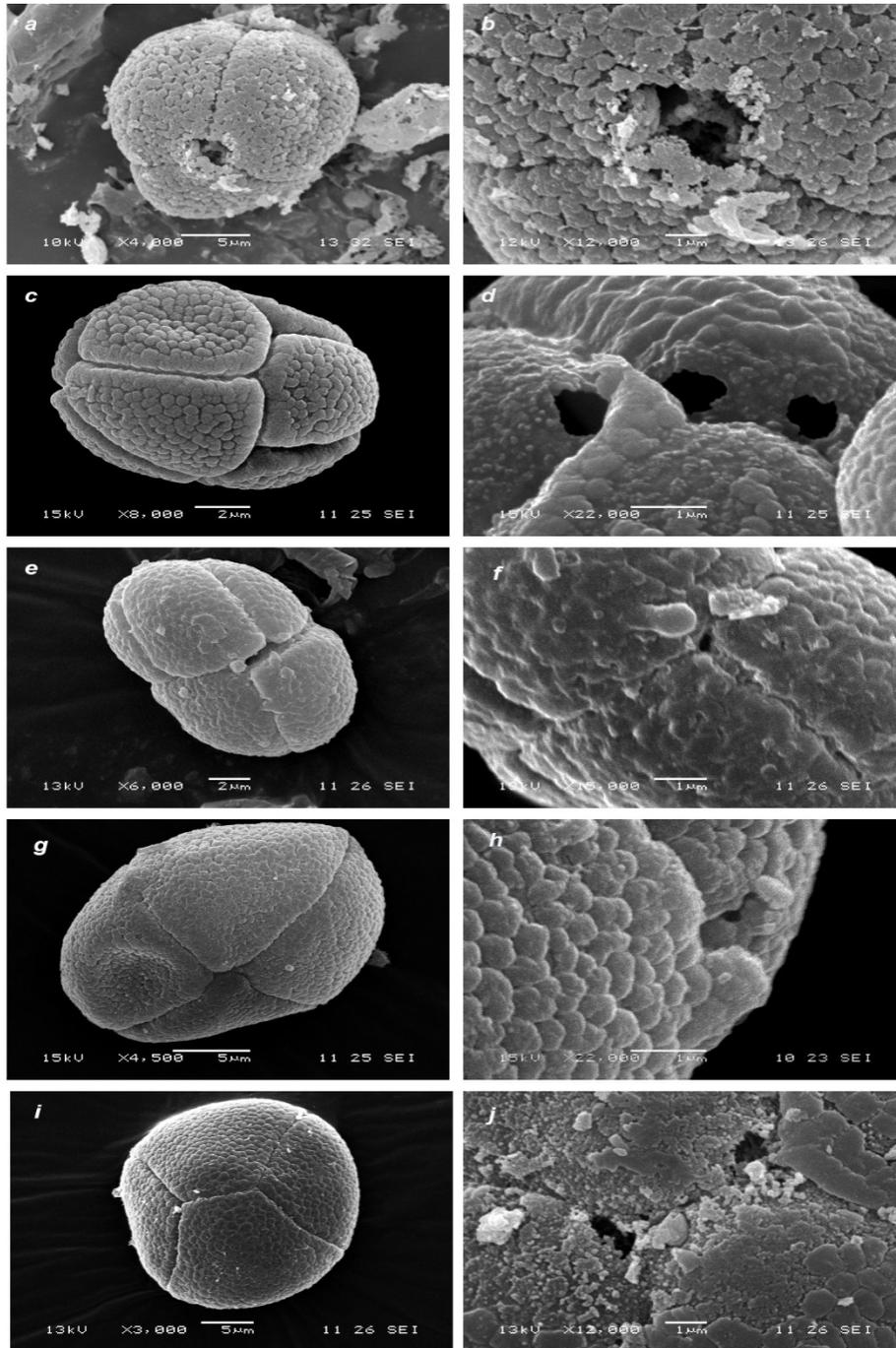
Ejemplar de referencia: E. L. Martínez-Olivares *et al.* 24 (74266, 74267, 74268); 25 (74269, 74270, 74271); 27 (74272, 74273, 74274) (UAMIZ).

***Mimosa quadrivalvis* var. *quadrivalvis***

Tétrades cruzadas, aplanadas, esferoidales, bisimétricas, de tipo acalimado, con diámetro mayor de (26.63-)30.03(-35.13)  $\mu\text{m}$  y diámetro menor de (24.37-)27.41(-32.70)  $\mu\text{m}$ . Granos individuales con 3 caras proximales planas y una cara distal marcadamente convexa; los granos opuestamente unidos 2 a 2 por la cara proximal; eje polar (13.40-)14.61(-16.57)  $\mu\text{m}$  y eje ecuatorial de (18.50-)20.46(-24.10)  $\mu\text{m}$ .; los poros de 3-5 en los vértices y en los bordes de la cara distal, en posición subdistal. Exina delgada, de 1  $\mu\text{m}$  de grosor, ornamentación microverrugada al ML y al MEB (Figura 21 i, j; 22 e).

Nº de registro Colección Palinológica, UAMIZ: 124-126.

Ejemplar de referencia: E. L. Martínez-Olivares *et al.* 22 (74257, 74258, 74259); 34 (74260, 74261, 74262); 35 (74263, 74264, 74265) (UAMIZ).



**Figura 21.** Fotomicrografías en MEB de los granos de polen de los taxa estudiados. (a, b) *M. camporum*, a. Vista polar de una tétrade cruzada esferoidal; (c, d) *M. benthamii* var. *benthamii*, c. vista ecuatorial de una bitétrade elipsoidal rotada; (e, f) *M. luisana*, e. vista ecuatorial de una bitétrade elipsoidal rotada; (g, h) *M. pigra* var. *pigra*, g. Vista ecuatorial de una tétrade elipsoidal aplanada; (I, j) *M. quadrivalvis* var. *quadrivalvis*, i. Vista polar de una tétrade esferoidal aplanada; (b, d, f, h, j) Detalle de la ornamentación microverrucada y de los poros.

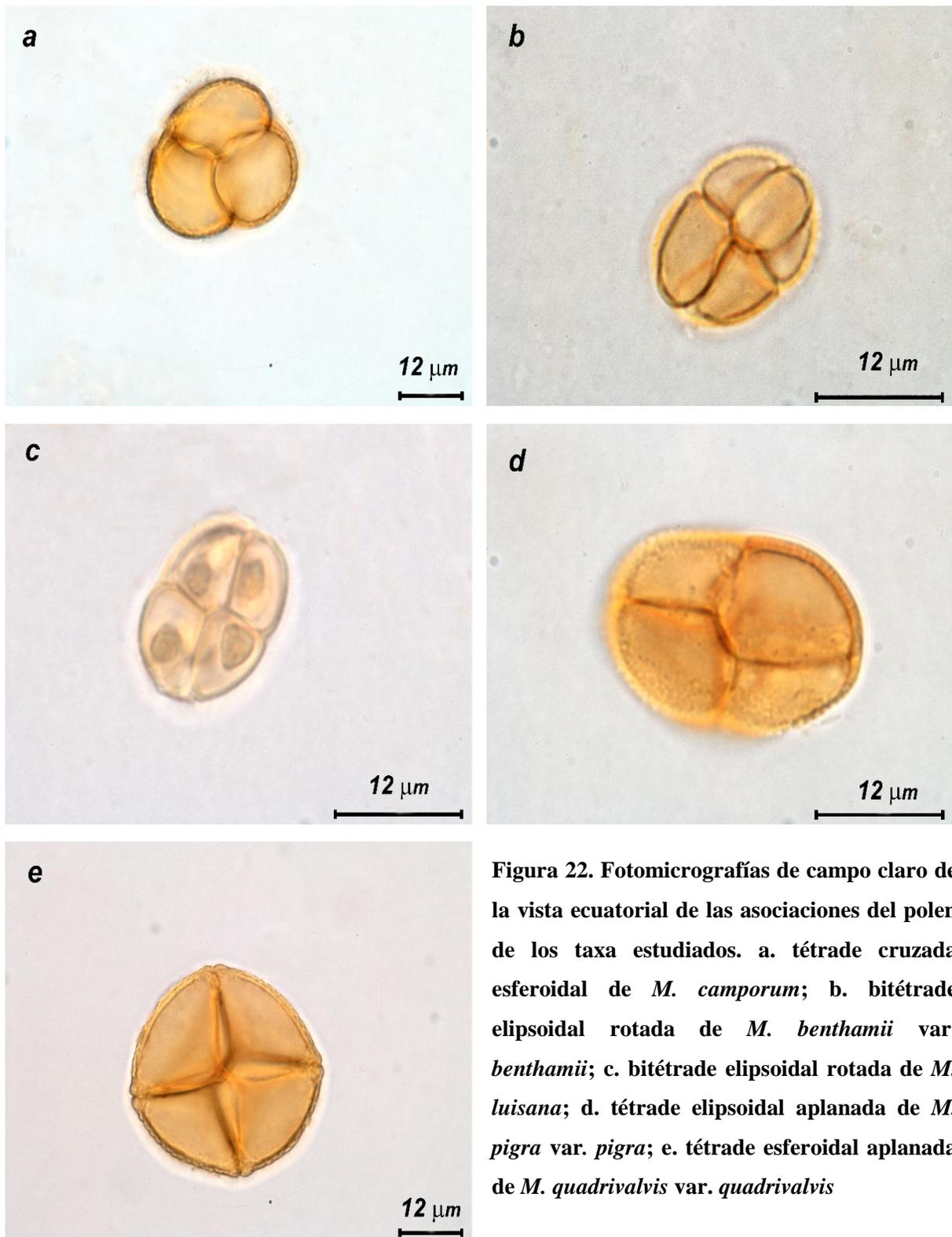


Figura 22. Fotomicrografías de campo claro de la vista ecuatorial de las asociaciones del polen de los taxa estudiados. a. tétrade cruzada esferoidal de *M. camporum*; b. bitétrade elipsoidal rotada de *M. benthamii* var. *benthamii*; c. bitétrade elipsoidal rotada de *M. luisana*; d. tétrade elipsoidal aplanada de *M. pigra* var. *pigra*; e. tétrade esferoidal aplanada de *M. quadrivalvis* var. *quadrivalvis*

### 5.5.2. Análisis comparativo de la morfometría de las políades

El registro del diámetro mayor y el diámetro menor de las políades mostró las diferencias morfométricas de las asociaciones del polen. Los valores obtenidos del diámetro mayor de las asociaciones, se sometieron a un análisis que mostró diferencias significativas ( $H_4=12.8333$ ;  $P=0.0121$ ); seguido de una prueba que señaló las diferencias entre los taxa. En *M. camporum*, el diámetro mayor de las asociaciones no difiere con respecto a los otros cuatro taxa; sin embargo, *M. benthamii* var. *benthamii* y *M. luisana* si difieren significativamente de *M. pigra* var. *pigra* y *M. quadrivalvis* var. *quadrivalvis* (Figura 23, mayúsculas).

En el caso del diámetro menor de las políades, se indican diferencias significativas entre los taxa ( $H_4= 13.1271$ ;  $P=0.0106$ ); *M. pigra* var. *pigra* no difiere significativamente de los otros taxa, mientras que, *M. camporum* presenta diferencia significativa sólo con *M. luisana*; mientras que, *M. quadrivalvis* var. *quadrivalvis* se distingue de *M. benthamii* var. *benthamii* y de *M. luisana*; cabe señalar, que los valores obtenidos para los dos últimos taxa no son significativamente diferentes (Figura 23, minúsculas).

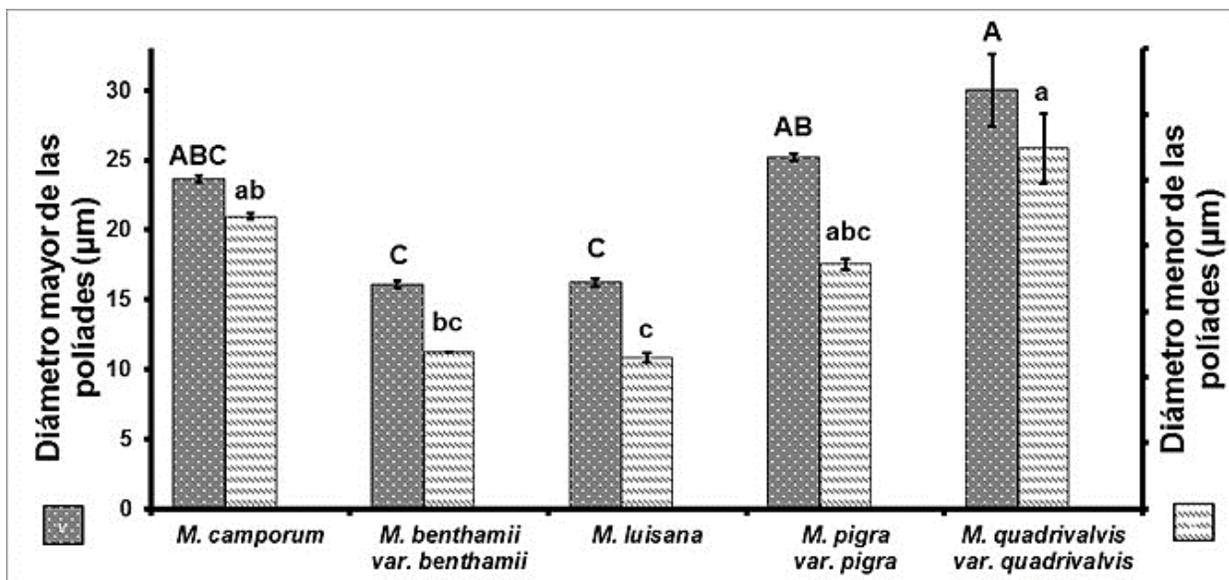


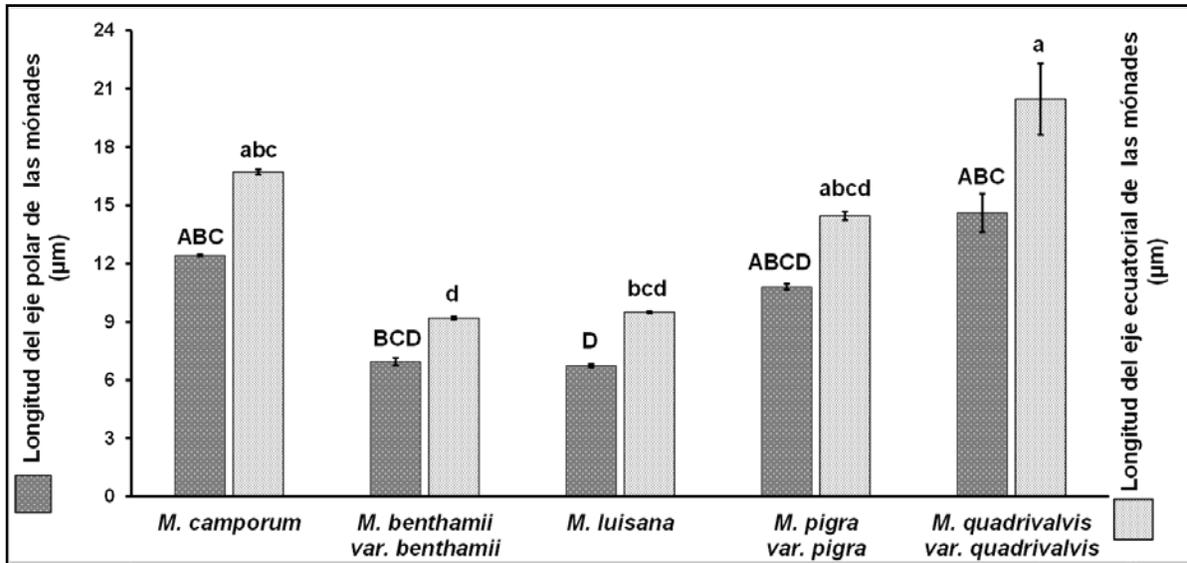
Figura 23. Diámetro mayor y menor de las poliades de los taxa estudiados. Letras mayúsculas señalan el diámetro mayor, letras diferentes indican diferencias significativas; letras minúsculas señalan el diámetro menor, letras diferentes indican diferencias significativas (Kruskal-Wallis).

### 5.5.3. Análisis comparativo de la morfometría de los granos de polen individuales (mónades)

Se describen los resultados obtenidos del registro de la longitud del eje polar y eje ecuatorial de las mónades. Se encontraron diferencias significativas, con respecto a la longitud del eje polar ( $H_4=12.9$ ;  $P=0.0117$ ); *M. pigra* no mostró diferencias con respecto a los demás taxa, *M. luisana* difiere significativamente de *M. camporum* y *M. quadrivalvis*, mientras que *M. benthamii* var. *benthamii* presentó diferencia significativa sólo con *M. quadrivalvis* var. *quadrivalvis* (Figura 24).

En cuanto a la longitud del eje ecuatorial de las mónades, el primer análisis señaló diferencias significativas ( $H_4=13.5241$ ;  $P=0.0089$ ), destacando que *M. pigra* no presenta diferencias significativas con los demás taxa, en tanto que *M. camporum* sólo difiere de manera significativa de

*M. benthamii* var. *benthamii*, a su vez este taxon y *M. luisana* difieren significativamente de *M. quadrivalvis* var. *quadrivalvis* (Figura 24).



**Figura 24.** Longitud del eje polar y ecuatorial de las mónades de los taxa estudiados. Letras mayúsculas señalan la longitud del eje polar, letras diferentes indican diferencias significativas; letras minúsculas señalan la longitud del eje ecuatorial de las mónades, letras diferentes indican diferencias significativas (Kruskal-Wallis).

## 5.6. Relación polen-estigma

Se observaron cuatro tipos de estigmas que varían en forma y tamaño. El crateriforme muestra una superficie amplia y cóncava, sin cámara estigmática, (Figura 25 a), el poriforme (Figura 25 b, c) muestra una cámara estigmática pequeña, con profundidad y diámetro del orificio estigmático reducidos. El tubular y el cupuliforme difieren del poriforme por tener una cámara estigmática de mayor tamaño y distinta forma (Figura 25 d, e).

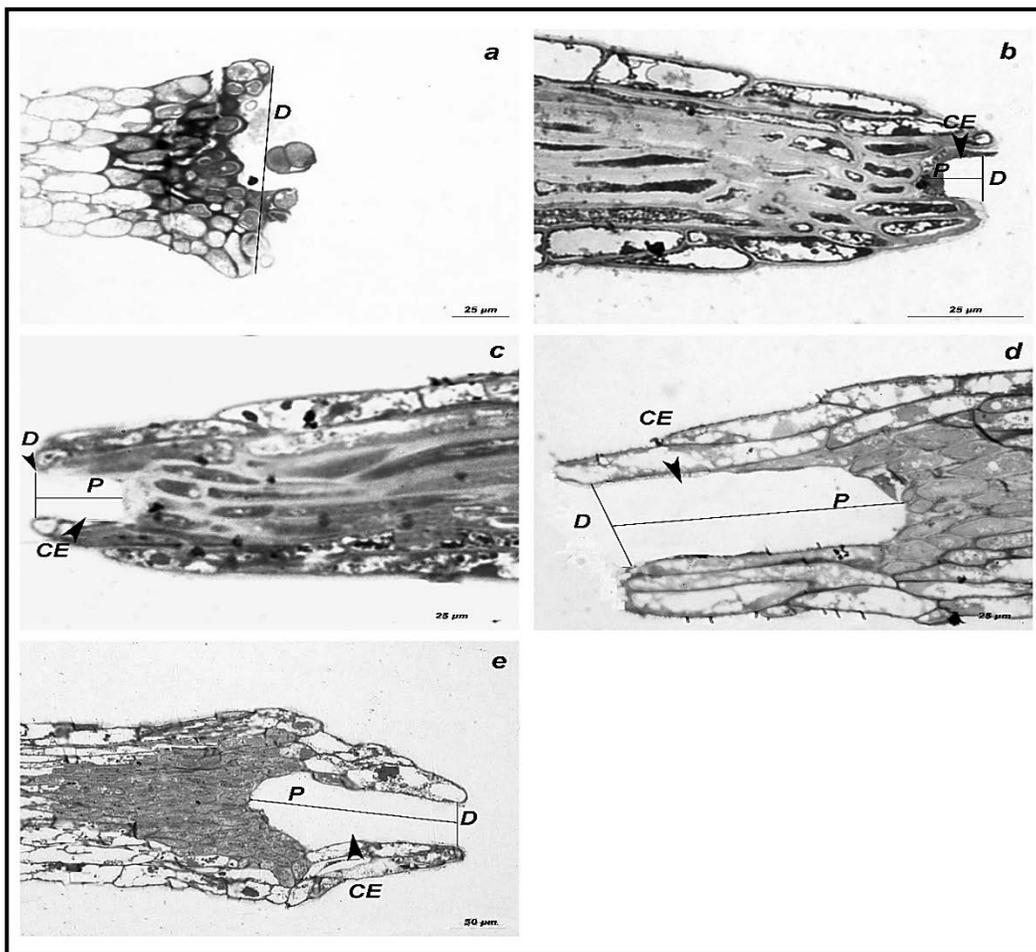
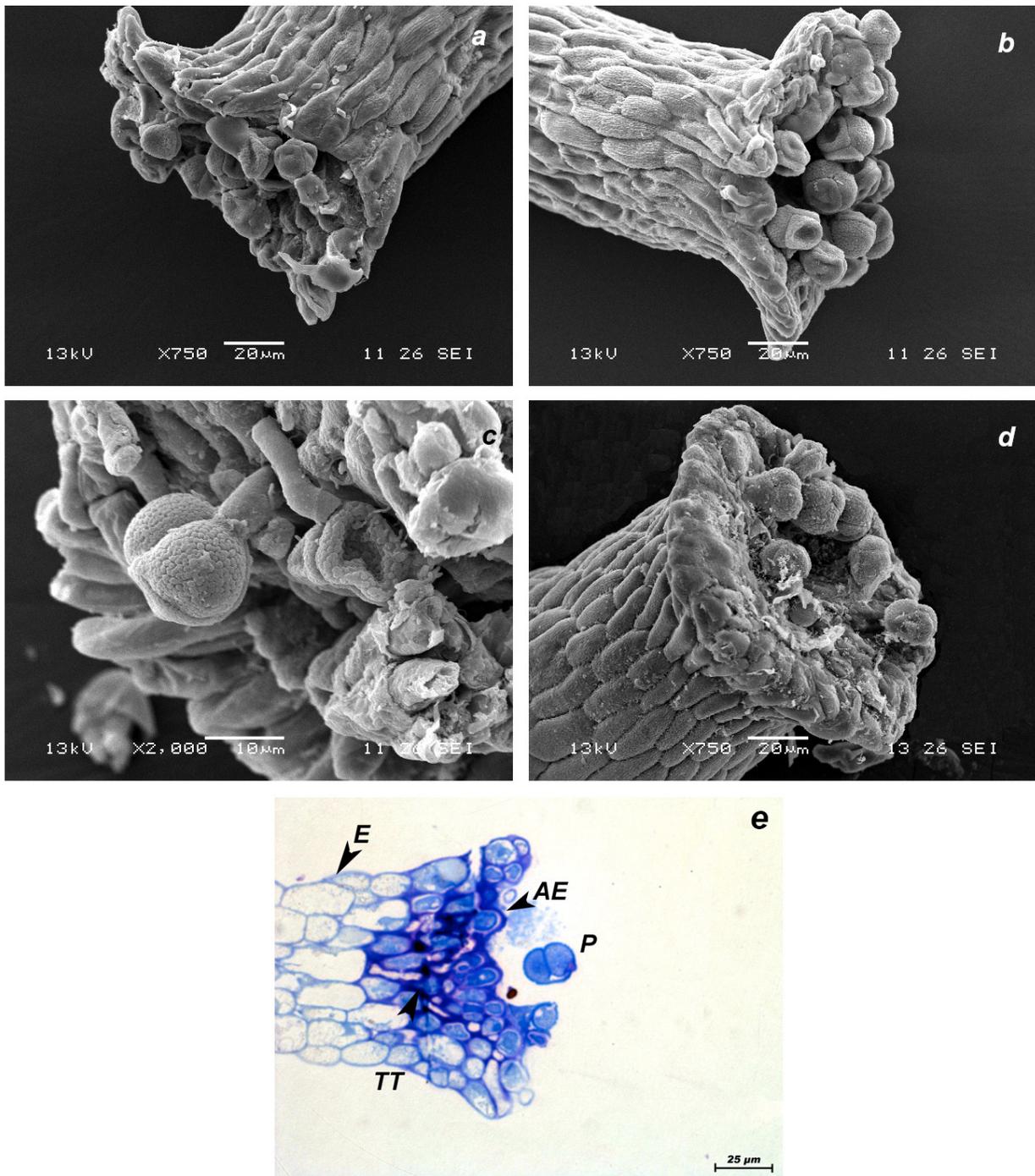


Figura 25. Vista lateral en sección longitudinal de los estigmas de *Mimosa*. a. *M. camporum*; b. *M. benthamii* var. *benthamii*; c. *M. luisana*; d. *M. pigra* var. *pigra*; e. *M. quadrivalvis* var. *quadrivalvis*. CE= cámara estigmática; D= diámetro de la abertura del estigma; P= profundidad de la cámara estigmática.

### 5.6.1. *M. camporum*

Las células epidérmicas de este tipo de estigma forman una protuberancia oblicua, de forma cóncava con apariencia de un cráter muy amplio, el diámetro de la superficie estigmática de (120-)122(-124)  $\mu\text{m}$  (Figura 26 a, d), lo que permite que, varias tétrades cruzadas esferoidales, con diámetro mayor de (20-)24(-28)  $\mu\text{m}$  y diámetro menor de (19-)22(-26)  $\mu\text{m}$ , tengan la posibilidad de llegar al estigma, sin importar la orientación de las mismas (Figura 26 b).

En las fotomicrografías al MEB se encuentran de 2-15 tétrades esferoidales en la superficie del estigma; algunos granos de polen muestran desarrollo de tubos polínicos (Figura 26 c). En sección longitudinal al ML, se han observado 1-3 tétrades en la superficie estigmática; además, en los cortes longitudinales del estigma y estilo se distingue, la amplia superficie estigmática, así como, el contraste en el tamaño de las tétrades con respecto de la superficie del estigma (Figura 26 e).

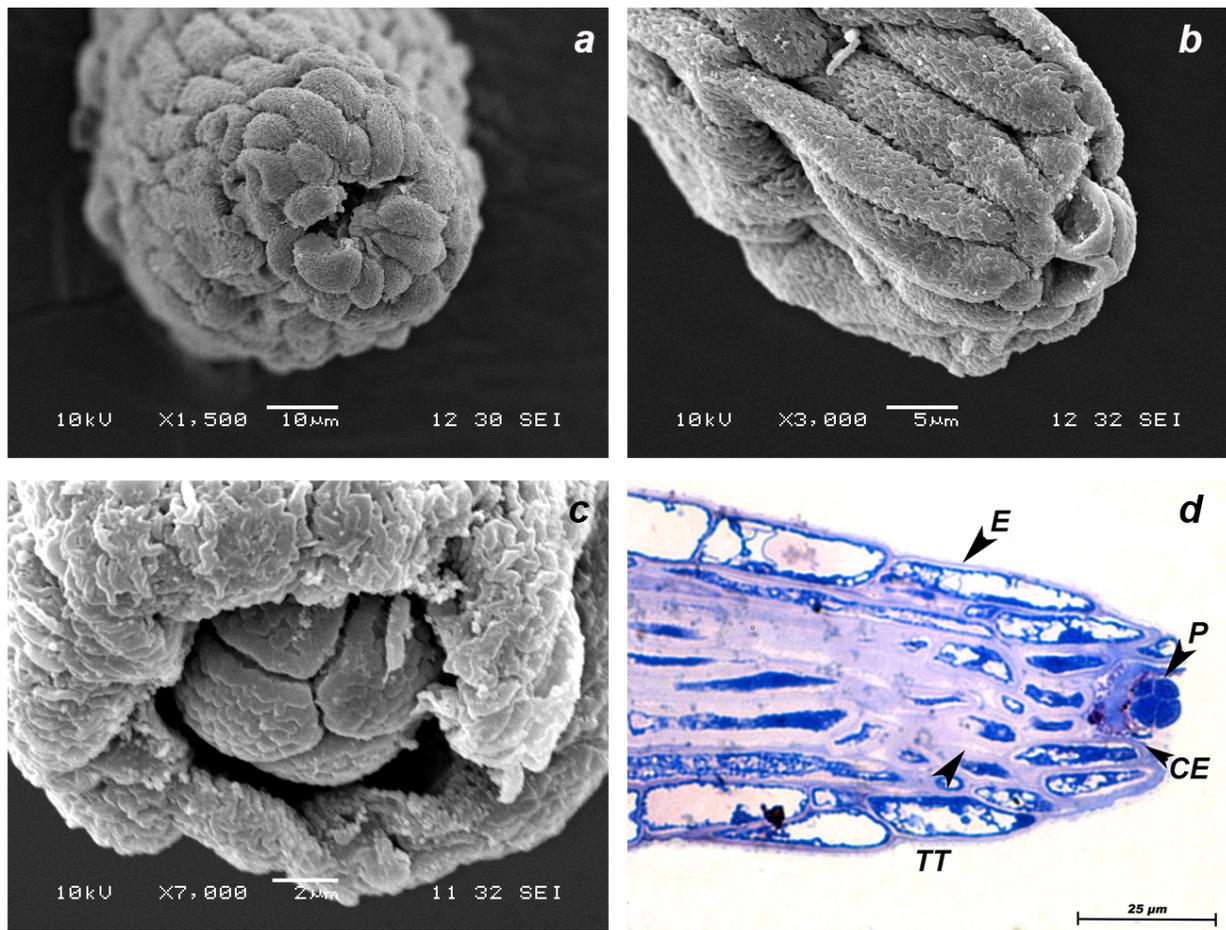


**Figura 26.** Fotomicrografías en MEB, del estigma oblicuamente crateriforme de *M. camporum*. a. Vista lateral del estigma con varias tétrades en la superficie; b. Vista lateral del estigma con un gran número de tétrades en su superficie; c. Detalle de dos tétrades con desarrollo de tubos polínicos; d. Vista de la superficie cóncava del estigma, con varias tétrades; e. Fotomicrografía en ML del corte longitudinal del estigma de *M. camporum*. P= polen, AE= área estigmática, TT= tejido de transmisión, E= epidermis.

### 5.6.2. *M. benthamii* var. *benthamii*

El estigma en este taxon muestra una profundidad de (8-)10(-12)  $\mu\text{m}$  y un diámetro del orificio estigmático de (14-)19(-23)  $\mu\text{m}$ . La superficie de captación del polen es muy reducida (Figura 27 a), de manera que, sólo una bitétrade con diámetro mayor de (15-)16(-18)  $\mu\text{m}$  y diámetro menor de (10-)12(-14)  $\mu\text{m}$ , podría introducirse, siempre y cuando estuviera orientada con el diámetro mayor paralelo al eje longitudinal del estigma (Figura 27 c).

En MEB, la abertura del estigma se ve abruptamente reducida, de tal manera, que pareciera estar completamente cerrado o podría ser un estigma que no estuviera desarrollado completamente y por ende, no ser receptivo (Figura 27 b). En sección longitudinal al ML, se distinguen las células del tejido de transmisión del estilo que recorren la estructura hasta la base de la cámara estigmática (Figura 27 d); en ambos casos, sólo se mostró una bitétrade dentro de la cavidad.

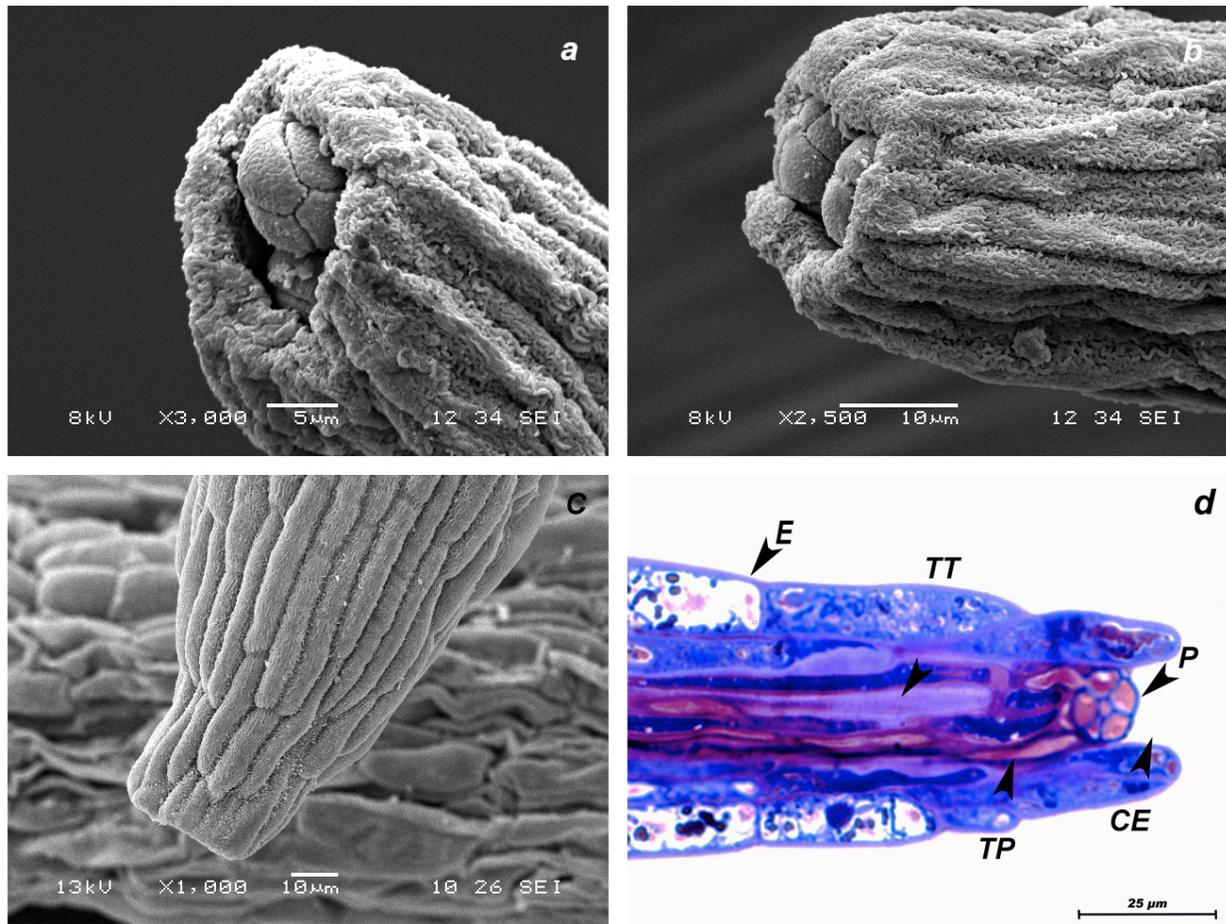


**Figura 27. Fotomicrografías en MEB, del estigma poriforme de *M. benthamii* var. *benthamii*. a. Vista apical del estigma no receptivo; b. Vista lateral del estigma con una bitétrade dentro de la cavidad con el eje mayor paralelo al eje longitudinal del estigma c. Vista apical del estigma con una bitétrade en su interior. d. Fotomicrografía en ML del corte longitudinal del estigma de *M. benthamii* var. *benthamii*. P= polen, CE= cámara estigmática, TT= tejido de transmisión, E= epidermis.**

### 5.6.3. *M. luisana*

Este taxon presenta un estigma poriforme, compuesto por una cámara estigmática en forma de pozo, con una profundidad de (18-)22(-26)  $\mu\text{m}$  y diámetro del orificio estigmático de (9-)13(-17)  $\mu\text{m}$ , más pequeño del que observó en *M. benthamii* var. *benthamii*. En la cámara estigmática, se registraron dos bitétrades orientadas con el diámetro menor casi paralelo al eje longitudinal del estigma (Figura 28 a, b).

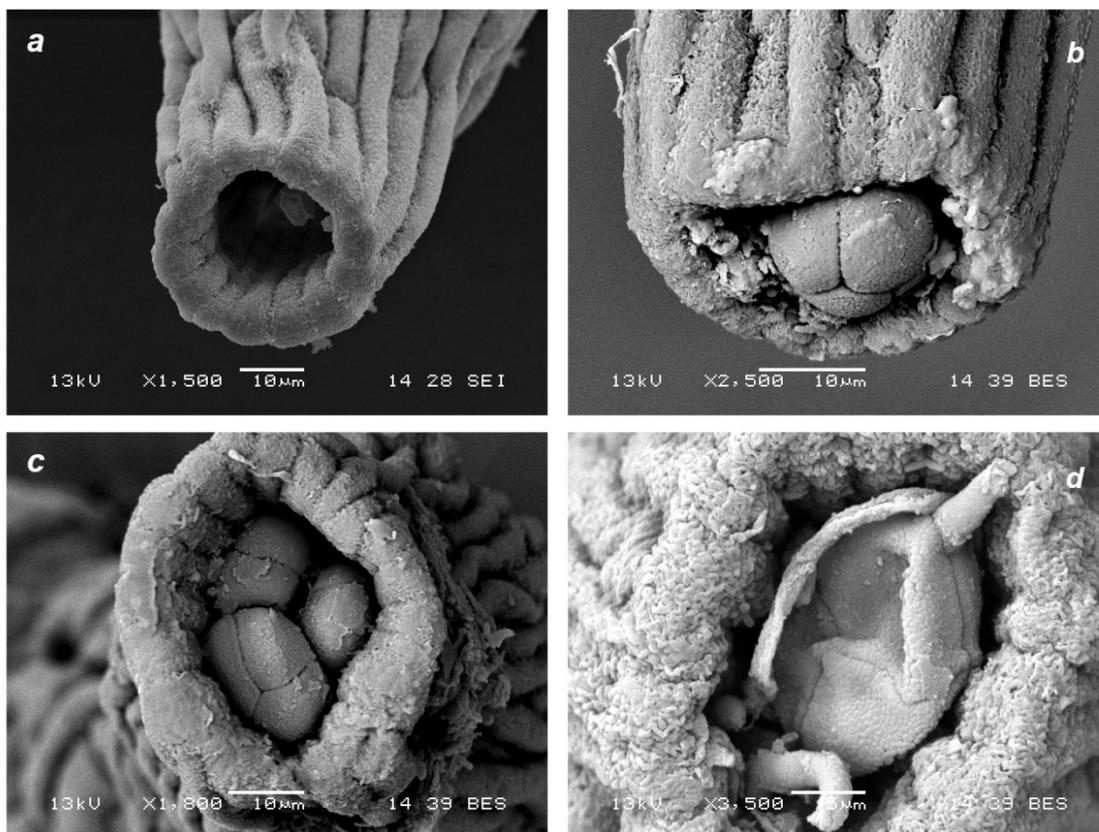
Sin embargo, algunos estigmas se observan sólo con una bitétrade dentro, con diámetro mayor de (13-)16(-20)  $\mu\text{m}$  y diámetro menor de (10-)12(-14), orientadas de modo en que, el diámetro mayor coincide con el eje longitudinal del estigma, en fotomicrografías al MEB. En los cortes longitudinales para ML, se pudo identificar una sólo bitétrade, orientada con el diámetro menor paralelo al eje longitudinal del estigma. En esta misma figura, es importante resaltar que la bitétrade está en contacto directo con el tejido de transmisión e incluso se puede ver el desarrollo de dos tubos polínicos (Figura 28 d).



**Figura 28.** Fotomicrografías en MEB, del estigma poriforme de *M. luisana*. a. Vista apical del estigma con dos bitétrades dentro; b. Vista lateral del estigma con dos bitétrades dentro, orientadas con el diámetro menor paralelo al eje longitudinal del estigma; c. Vista lateral del estigma; d. Fotomicrografía en ML del corte longitudinal del estigma de *M. luisana*. P= polen, CE= cámara estigmática, TP= tubo polínico, TT= tejido de transmisión, E= epidermis.

#### 5.6.4. *M. pigra* var. *pigra*

Se observa un estigma de tipo tubular, conformado por una cámara estigmática de mayor profundidad, de (110-)139(-194)  $\mu\text{m}$ ; el diámetro del orificio estigmático es de (28-)42(-53)  $\mu\text{m}$  (Figura 29 a). Se observó sólo una tétrade dentro del estigma; con diámetro mayor de (20-)25(-29)  $\mu\text{m}$  y diámetro menor de (14-)19(-28) $\mu\text{m}$ ; la orientación de la tétrade dentro del estigma varía, en un caso, aparentemente con el diámetro mayor paralelo al eje longitudinal del estigma, mientras que, en otro, se orienta con el diámetro menor paralelo al eje longitudinal del estigma (Figura 29 b). También, se pudieron observar hasta tres tétrades con orientación variable dentro del estigma (Figura 29, c); asimismo, en al menos dos granos de polen, se encontraron dos tubos polínicos en la cámara estigmática (Figura 29, d).

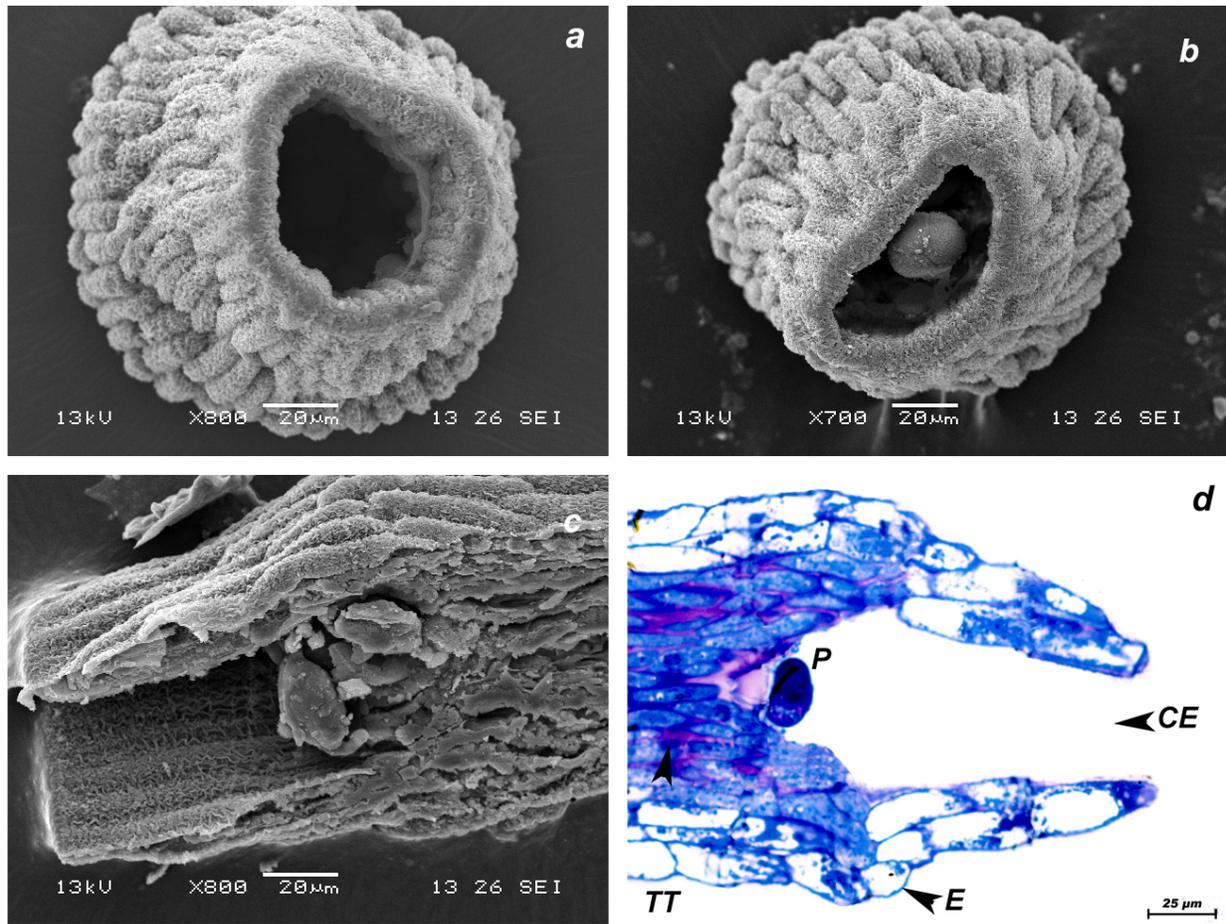


**Figura 29.** Fotomicrografías en MEB, del estigma tubular de *M. pigra* var. *pigra* a. Vista apical del estigma; b. Vista apical del estigma con una tétrade dentro, con el diámetro menor paralelo del eje longitudinal del estigma; c. Vista apical del estigma con tres tétrades en su interior en distintas orientaciones con respecto del eje longitudinal del estigma. d. Detalle del estigma con una tétrade que presenta desarrollo de tubo polínico.

### 5.6.5. *M. quadrivalvis var. quadrivalvis*

Este taxon presenta un estigma de tipo cupuliforme, debido a la forma estrecha en el ápice y ensanchada en la base del estigma (forma de copa). La cámara estigmática tiene una profundidad de (124-)157(-194)  $\mu\text{m}$  y el diámetro del orificio estigmático es de (30-)38(-47)  $\mu\text{m}$ . Se puede observar una tétrade dentro del estigma (Figura 33 a), las tétrades tienen diámetro mayor de (24-)30(-38)  $\mu\text{m}$  y diámetro menor de (16-)27(-36) $\mu\text{m}$ .

Este tipo de estigma presenta una cámara estigmática mucho mayor con respecto a las descritas anteriormente; en este caso, las tétrades se observaron en distintas orientaciones (Figura 30 b, c, d), tanto con el diámetro mayor paralelo al eje longitudinal del estigma como con el diámetro menor paralelo al eje longitudinal del estigma. Se encontró una tétrade ubicada en la base de la cámara estigmática, posiblemente los cuatro granos de polen podrían estar en contacto directo con el tejido de transmisión (Figura 30 c). Cabe resaltar que en este taxon, existe la posibilidad de que varias tétrades puedan penetrar en el poro, comparada con los taxa que presentan un estigma poriforme, en los cuales se observó de una a dos bitétrades dentro de la cámara estigmática.



**Figura 30.** Fotomicrografías en MEB, del estigma cupuliforme de *M. quadrivalvis* var. *quadrivalvis* a. Vista apical del estigma con cámara estigmática; b. Vista apical del estigma con una tétrade en su interior. c. Vista lateral del estigma en corte longitudinal con una tétrade sobre del tejido de transmisión. d. Fotomicrografía en ML del corte longitudinal del estigma de *M. quadrivalvis* var. *quadrivalvis*. P= polen, CE= cámara estigmática, TT= tejido de transmisión, E= epidermis.

## 5.7. Estimación del éxito reproductivo: Número de frutos por inflorescencia y número de semillas producidas por individuo

### 5.7.1. Número de frutos por inflorescencia

La producción de frutos se registró por medio del conteo de legumbres formadas por inflorescencia. Los datos obtenidos mostraron diferencias significativas ( $F_{4, 15}=45.45$ ;  $P < 0.0001$ ); y se determinó la significancia del número de frutos formados por inflorescencia entre los taxa. *Mimosa camporum* tuvo el mayor número de frutos por inflorescencia (15.6-17.5(-18.5), la cual difiere significativamente de los otros cuatro taxa; *M. luisana* con (4.0-5.3(-6.2), *M. pigra* var. *pigra* con (4.7-5.4(-5.8) y *M. benthamii* con (4.5-7.2(-9.5) no difieren significativamente entre ellas. Por otro lado, *M. quadrivalvis* var. *quadrivalvis*, presentó la menor producción con (2.3-2.6(-3.1) frutos por inflorescencia y difiere significativamente de *M. benthamii* var. *benthamii* (Figura 31).

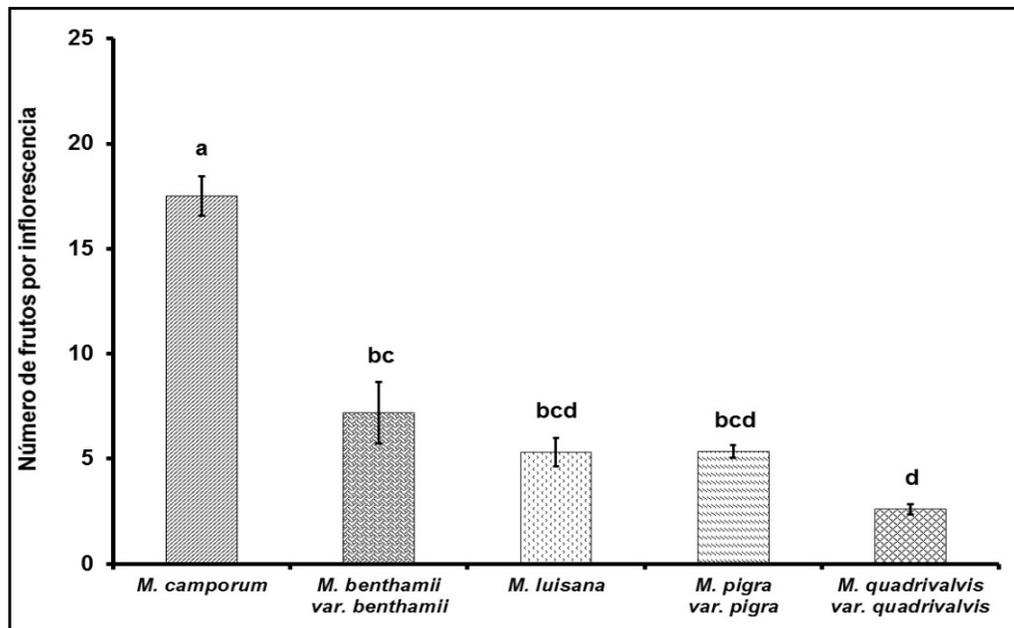


Figura 31. Producción de frutos por inflorescencia. Letras diferentes señalan diferencias significativas (Tukey).

### 5.7.2. Número de semillas producidas por individuo

Se presenta la producción de semillas por inflorescencia en cada uno de los taxa: *M. camporum* con (26.3-)32.0(-35.4); *M. benthamii* var. *benthamii* (16.2-)28.2(-36.6); *M. luisana* con (16.1-)20.2(-26.4); *M. pigra* var. *pigra* (61.7-)65.0(-67.8) y *M. quadrivalvis* var. *quadrivalvis* con (18.0-)20.0(-23.0).

La producción de semillas/individuo, mostró diferencias significativas ( $F_{4, 15}=28.24$ ;  $P<0.0001$ ). En *M. pigra* var. *pigra* se registró el mayor número de semillas/individuo ca. 1,950 y difiere significativamente de los demás taxa. Sin embargo, los otros taxa no presentaron diferencias significativas entre ellos, es importante mencionar el promedio relativo del número de semillas/individuo registrados para los otros cuatro taxa: *M. camporum* ca. 960, *M. benthamii* var. *benthamii* ca. 843, *M. luisana* ca. 604 y *M. quadrivalvis* var. *quadrivalvis* ca. 604 (Figura 32).

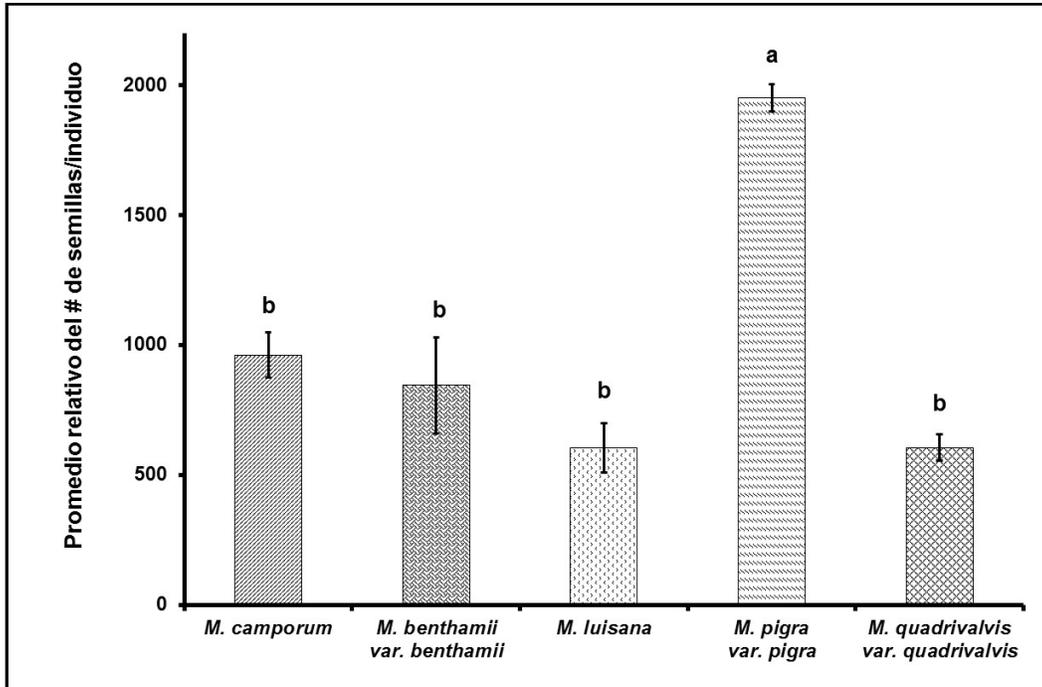


Figura 32. Producción de semillas por individuo. Letras diferentes denotan diferencias significativas (Tukey).

## 6. DISCUSIÓN

### 6.1. Morfología comparada del polen

El análisis comparativo del polen incluyó, tipo de asociación, forma y tamaño. En los taxa de este estudio se encontraron dos tipos de asociaciones, tétrades y bitétrades, que varían con base en la forma ya sea elipsoidales (*M. benthamii* var. *benthamii*, *M. luisana* y *M. pigra* var. *pigra*) o esferoidales (*M. camporum* y *M. quadrivalvis* var. *quadrivalvis*).

En el tamaño de las asociaciones, los análisis estadísticos no mostraron diferencias significativas, sin embargo, es importante señalar que en *M. luisana* y *M. benthamii* var. *benthamii*, las bitétrades son de menor tamaño, con respecto a las tétrades de *M. camporum*, *M. pigra* var. *pigra* y *M. quadrivalvis* var. *quadrivalvis*. Esta diferencia en tamaño con respecto al número de mónades por asociación, sugiere que los granos de polen más grandes se observan en los taxa con tétrades, en comparación con las mónades de menor tamaño presentes en los taxa con bitétrades. Las dimensiones del polen sugieren una implicación en la relación polen-estigma, la cual se discute a detalle en la sección 6.3 de este capítulo.

Por otro lado, las características morfológicas más importantes de las políades en los cinco taxa analizados, nos permiten elaborar un análisis comparativo de las características del polen, las cuales coinciden con las descritas por Martínez-Bernal (2003) y Grether (1997); por mencionar algunas, el grosor de la exina de 1  $\mu\text{m}$  y la ornamentación microverrugada, entre otras. En este estudio se incorporan análisis estadísticos de la morfometría del polen, con el fin de analizar comparativamente las características más conspicuas del polen (resultados 5.5), como el tamaño, la forma y su relación con las dimensiones y el tipo de estigma, aportes importantes en el conocimiento de la relación polen-estigma en *Mimosa*.

Esta comparación permite separar el polen en dos grupos y comparar la posibilidad de captura del mismo por un estigma receptivo. Debido a que en diversos estudios de la interacción polen-estigma, realizados en las tres subfamilias de leguminosas, se ha señalado que no existe evidencia de que los estigmas de cualquier taxa, puedan discriminar entre polen compatible o incompatible, como lo señalan Heslop-Harrison y Heslop-Harrison (1982). Con base en esto, cabe destacar que las bitétrades de *M. benthamii* var. *benthamii* y *M. luisana* podrían ser transportadas a cualquier estigma, debido a su tamaño reducido; en contraste con las tétrades de *M. pigra* var. *pigra*, *M. quadrivalvis* var. *quadrivalvis* y *M. camporum* de mayor tamaño, que requerirían de algún agente dispersor del polen que permita su llegada a cualquier estigma.

Asimismo, este no reconocimiento del polen puede darse a nivel de especie o género, como lo mencionan Kenrick y Knox (1981), sin embargo, las dimensiones y la forma del polen con respecto al estigma, no limita que las políades puedan llegar a un estigma de otro taxon como lo mencionan Owens y Stirton (1989) en las interacciones del polen, estigma y estilo en Leguminosae.

## **6.2. Morfología y anatomía del gineceo**

En este trabajo se describe y analiza por primera vez la estructura morfológica y anatómica del estigma, estilo y ovario en *Mimosa*. El gineceo de los taxa estudiados varía en la longitud de las estructuras que lo conforman (Resultados 5.4); además del tipo de estigma, el indumento del ovario y el número de óvulos por ovario.

De acuerdo con la clasificación de Heslop-Harrison (1981), los tipos de estigmas descritos en este trabajo, se pueden clasificar como húmedos-no papilados. Asimismo, acorde a la forma se presentan cuatro tipos: crateriforme sin cámara estigmática y poriforme, tubular y cupuliforme con cámara estigmática, ya reportados en la subfamilia Mimosoideae según Owens y Stirton (1989).

Además, en este estudio los últimos tres tipos, pueden ser clasificados con base en la forma de la cámara estigmática en: uniformes desde el ápice a la base del estigma (poriforme y tubular) y de forma diversa (cupuliforme) con el ápice y base del estigma angosto.

El estilo sólido en toda su extensión, presenta características similares en el tejido de transmisión como el que se reporta en *Acacia* según Kenrick (2003). A su vez, los estilos presentes en algunas especies de la subfamilia Caesalpinioideae comparten similitud con los estilos sólidos (*Chamaecrista nictitans* Moench.) o de derivados ezquizógenos o lisígenos (*S. pallida* (Vahl) H. S. Irwin *et* Barneby) como lo mencionan Dulberger *et al.* (1994), a diferencia de los estilos huecos (*Cassia fistula* L., *Senna bicapsularis* Roxb. y *S. villosa* (Mill.) H. S. Irwin *et* Barneby). Sin embargo, el tejido de transmisión del estilo, en la subfamilia Papilionoideae, difiere en la porción apical por presentar derivados lisígenos mientras que, la porción más larga es hueca, estudiados por Owens y Stirton (1989) en ambas subfamilias. A diferencias de las variantes mencionadas en otras subfamilias, en los taxa estudiados de *Mimosa*, sólo se observaron estilos de tipo sólido.

Por un lado, en los resultados se destacan cuatro tipos de ovarios que varían en forma, número de óvulos y tipo de indumento, además de la ausencia o presencia de estípites. Con base en lo observado en los cinco taxa estudiados, el tamaño del ovario pueden variar con respecto a la cantidad de óvulos que contiene y a su vez, se pueden diferenciar cuatro tipos de indumento, que pueden ser correlacionados con el tipo de dispersión al momento de maduración (Ramírez y Berry, 1993). En los taxa con indumento hispido y tomentuloso (*M. camporum*, *M. benthamii* var. *benthamii* y *M. luisana*), se propone que la dispersión del fruto sea por viento (anemócora) (Ramírez y Berry, 1993). Por otro lado, el indumento densamente setoso de *M. pigra* var. *pigra* y el espinoso de *M. quadrivalvis* var. *quadrivalvis*, sugiere la posibilidad de que la dispersión del fruto se lleve a cabo por animales (epizoocoria), debido a las estructuras de adhesión (Ramírez y Berry, 1993).

A nivel anatómico, el arreglo celular de los óvulos, es semejante entre los taxa analizados, asimismo las características estructurales de los óvulos no fertilizados en *Acacia retinodes* Schldl., según Kenrick *et. al.* (1986) son similares a los de este estudio, con la diferencia del tipo de óvulo que es campilotropo en el taxon mencionado. Cabe destacar que, además de este estudio, sólo se conocen dos trabajos (Sornsathapornkul y Owens, 1999a, 1999b), que analizan a nivel histológico la conformación del óvulo en la subfamilia Mimosoideae.

### **6.3. Relación polen-estigma**

La conformación de los granos de polen de *Mimosa* en los taxa estudiados, muestra que las tétrades y bitétrades pueden ser consideradas como la unidad de dispersión del polen (Johnson y Edwards, 2000), por lo que, la forma y el tamaño de las políades con respecto a la morfología del estigma, sugiere una estrecha relación al momento de la captura del polen (Owens y Stirton, 1989).

La relación que existe entre la dimensión del área estigmática y las asociaciones del polen en *Mimosa*, sugieren que, la estrecha relación de estas estructuras podría asegurar la disponibilidad de suficientes granos de polen, para la fecundación de los óvulos como lo señala Cruden (1977), en los grupos de plantas que presentan xenogamia.

De igual modo en *Acacia*, Kenrick y Knox (1981) señalan que las dimensiones de las políades, se ajustan con las dimensiones del área estigmática, lo que permitirá asegurar la polinización de todos los óvulos en un sólo evento de polinización como en *A. mangium* Willd. y *A. auriculiformis* A. Cunn. ex Benth. (Ibrahim y Awang, 1991). El ajuste de las dimensiones en la relación polen-estigma en *Mimosa*, podría significar una ventaja en los procesos de polinización, ya que la cantidad de granos de polen se ajusta a la cantidad de óvulos por ovario.

Además en los taxa estudiados, se presenta un estigma húmedo no-papilado según la clasificación de Heslop-Harrison (1981), que corresponde al tipo de estigma conocido en algunos integrantes de la subfamilia Mimosoideae, como en *Acacia* y *Prosopis*.

El estigma oblicuamente crateriforme de *M. camporum* destaca por presentar una superficie amplia con poca profundidad, lo que permite la recepción de numerosos granos de polen. En este taxon, se observaron hasta 15 tétrades sobre la superficie estigmática a diferencia de los demás taxa, en los que se pudieron observar a lo sumo cuatro tétrades y en algunos casos, el polen se encontró en la etapa de formación de tubos polínicos, lo que sugiere que el área superficial del estigma, corresponde a la zona de germinación del polen, en contraste con los otros taxa, en los que el área estigmática que permite germinar al polen, se encuentra localizada en la parte más profunda de la cámara estigmática (Kenrick y Knox, 1989).

El tipo de estigma crateriforme presente en *Mimosa*, es similar al estigma masivo y peltado reportado en *Mimozyanthus carinatus* (Griseb.) Burkart. En este taxon el estigma, se caracteriza por presentar una amplia superficie para la captura del polen, característica que, junto con otros aspectos de la biología floral como los sépalos y pétalos valvados, así como la morfología del polen y análisis moleculares, han permitido ubicar a este género como un grupo intermedio entre Mimosoideae y Caesalpinioideae (Polhill, 1994; Luckow *et al.*, 2005).

Por otro lado, en diversos taxa de *Acacia* (Kenrick y Knox, 1979, 1981, 1989; Baranelli *et al.*, 1995; Tandon *et al.*, 2001; Kenrick, 2003; Taisma, 2008), también se ha descrito este tipo de estigma. Además, se observó una estrecha relación entre el tamaño de las políades y el área receptiva del estigma; en donde ambas estructuras coinciden en sus dimensiones, lo que permitiría que un gran número de granos de polen, en contacto con el estigma, tengan la posibilidad de alcanzar los óvulos.

Kenrick y Knox (1982) señalan que la presencia del polen compuesto (8-16 mónades) en este grupo de plantas, podría asegurar la máxima formación de semillas en un solo evento reproductivo.

Asimismo, en *Faidherbia albida* (Delile) A. Chev. (Gassama-Dia *et al.*, 2003), se ha reportado un estigma de tipo crateriforme y, aunque el polen en este taxon, se presenta en asociaciones de 4 a 32 granos, las políades tienen un diámetro casi tan amplio como el del estigma, por lo que una sola políade se ajusta a la superficie estigmática, de modo que, en este taxon la aseveración de Kenrick (2003) coincide con los resultados obtenidos en varios taxa de *Acacia*. Por lo que, esta correlación polen-estigma, también se cumple en los taxa de *Mimosa* con estigma poriforme.

En los resultados se observó un alto número de tétrades, que pueden alcanzar un estigma receptivo de tal manera que hasta 60 mónades o más, tengan una alta posibilidad de germinar en el estigma y fecundar los óvulos. Con respecto a otros taxa con estigma crateriforme, es coincidente que, una alta producción de polen aseguraría el máximo de semillas producidas en un solo evento reproductivo.

En el estigma poriforme de *M. luisana* y *M. benthamii* var. *benthamii*, se observaron, una a dos bitétrades orientadas de tal modo que, el diámetro mayor de la bitétrade, debe coincidir de manera paralela con el eje longitudinal del estigma. Particularmente, la orientación del polen con respecto del estigma, sería la manera óptima en que las bitétrades deben ubicarse en la cámara estigmática, debido a sus dimensiones.

Del mismo modo, la presencia de una sola bitétrade aseguraría la posibilidad de fecundación de al menos el 80 % de los óvulos del ovario, considerando que estos taxa tienen entre 8-10 óvulos.

Este tipo de estigma y la misma orientación de las bitétrades, se observó en *M. bimucronata* (Seijo y Solís, 2004); *Dimorphandra* Schott, *Mora* Schomb ex Benth., *Adenantha* L., *Tetrapleura*

Benth. y *Pseudoprosopis* Harms. (Banks *et al.*, 2010). En los taxa mencionados y en los de este estudio, la orientación de la bitéttrade es de gran importancia, debido a las dimensiones de este tipo de estigma; por lo que, las bitétrades solo podrían localizarse en un estigma receptivo con una orientación específica, lo que sugeriría, que un alto número de óvulos podrían ser fecundados en uno o dos eventos reproductivos.

El estigma tubular presente en *M. pigra* var. *pigra* en comparación con el estigma de los demás taxa estudiados se caracteriza por una cámara estigmática de diámetro uniforme desde el ápice hasta la base. Este tipo de estigma también se observó, en taxa cercanos a *Mimosa* como en el grupo *Dimorphandra*, que se relaciona filogenéticamente como intermedio entre Caesalpinioideae-Mimosoideae (Lewis *et al.*, 2005): *Stachyothyrsus* Harms, *Sympetalandra* Stapf, *Pentaclethra* Benth. y *Amblygonocarpus* Harms. El polen, los estigmas y el número de óvulos por ovario de este grupo intermedio, proporcionaron características para empatar con algunos análisis filogenéticos (Bruneau *et al.*, 2008), así como para investigar la evolución del polen compuesto (políades) a mónades (polen simple) (Banks *et al.*, 2010).

Por otro lado, el polimorfismo en las asociaciones del polen de *M. pigra* var. *pigra* (El Ghazali *et al.*, 1997), comparado con nuestros resultados, sugiere que la forma y tamaño de las tétrades no influyen en su llegada a la cámara estigmática, debido a que la captación de varias tétrades por el estigma, no requiere de una orientación en particular. Por lo tanto, en este taxon se requerirían de al menos cinco tétrades con polen viable, que alcancen un estigma receptivo para que lleve a cabo la fecundación de todos los óvulos del ovario.

El estigma cupuliforme de *M. quadrivalvis* var. *quadrivalvis* es presenta características similares al estigma tubular, con algunas variantes señaladas en resultados (5.7.5). En el estigma cupuliforme, se registraron hasta cuatro tétrades dentro de la cámara estigmática del estigma

cupuliforme, con orientación indistinta. Esto sugiere que, en contraste con el diámetro de las tétrades respecto al del estigma, la cantidad de mónades, que podrían depositarse en la cámara estigmática, necesarias para alcanzar el número máximo de óvulos fecundados, sería de al menos cinco tétrades. Un estigma similar a éste, se ha encontrado en los géneros *Aubrevillea* Pellegr., *Burkea* Benth. y *Dinizia* Duke, de la tribu Caesalpinieae; características también analizadas por Banks *et al.* (2010) con fines complementarios a los estudios filogenéticos dentro de estos grupos; aunque, en este caso, nombran a este tipo de estigma embudo cilíndrico. Este tipo de estigma se asemeja por las características de la cámara estigmática al que se presenta en *M. quadrivalvis* var. *quadrivalvis*.

En los taxa con área estigmática reducida, los resultados proponen que la posibilidad de captación de los granos de polen en el estigma, la germinación de los mismos y la fecundación de los óvulos, dependerá de la orientación en que las políades lleguen al estigma; en cambio, en los taxa con un área estigmática amplia existe mayor posibilidad de captar un mayor número de políades.

Distintos autores (Kenrick y Knox, 1982; Uma Shaanker y Ganeshiah, 1990; Seijo y Solís 2003); señalan que en las mimosoideas, la políade aseguraría la polinización de todos los óvulos en un sólo evento, lo que permitiría simplificar la polinización debido a que las flores en *Mimosa* tienen un período de antesis corto. Sin embargo, en los taxa estudiados, la gran cantidad de políades observadas en el estigma de *M. camporum*, permite señalar que una políade es capaz de fecundar los óvulos, según Taisma (2008), no todos los granos de polen alcanzarán a formar tubos polínicos, por lo que se requeriría de más de una tétrade para que se alcance la fecundación del número máximo de óvulos.

Por otro lado, en *M. benthamii* var *benthamii* y *M. luisana* la relación polen-estigma sugiere un evento reproductivo diferente al taxon anterior, en el cual se requeriría de al menos dos bitétrades o más para la fecundación de los todos los óvulos. Sin embargo, según los resultados, el estigma

poriforme presente en estos taxa, rara vez podría capturar hasta dos bitétrades debido a sus dimensiones.

En contraste con los taxa anteriores, los taxa con estigma tubular y cupuliforme, necesitarían la captura de al menos entre 1-5 tétrades con respecto a la dimensión de la cámara estigmática y de la cantidad de óvulos por ovario, para que la fecundación de todos los óvulos sea satisfactoria y el gasto energético en los proceso reproductivos se optimice.

#### **6.4. Calidad, producción y germinación del polen**

Los datos de viabilidad de los granos de polen no reflejan alguna diferencia significativa entre los taxa; sin embargo, los resultados denotan que, independientemente del método utilizado, el 70% de los granos de polen en una antera son viables, lo que denota un alto porcentaje de polen con potencial germinativo para llevar a cabo la fecundación de los óvulos.

Por otro lado, los datos relacionados con la producción del polen sugieren que, se produce una gran cantidad de políades disponibles para llevar a cabo los procesos de polinización. El polen producido en *Mimosa* se diferencia ampliamente del que se llega a producir en *Acacia* (Kenrick, 2003), debido a que en *Acacia*, estrictamente se podrían producir solo 8 políades por lóculo y la cantidad de mónades varía entre 8 y 16. Sin embargo, es posible señalar una estrategia morfológica que caracteriza las flores de estos dos géneros, con respecto a la producción del polen y el número de estambres producidos. En *Acacia*, la diferencia radica en el número de anteras disponibles según la cantidad de estambres ente 150-300 (Rico-Arce, 2007), en contraste, con el número de que estambres en *Mimosa* entre 8 y 10 (Martínez-Bernal y Grether, 2006) y que difiere de *Acacia* por producir un gran número de políades por lóculo, esto podría permitir un ajuste en la disponibilidad de la carga de polen requerido en la polinización dentro de cada grupo (Endress, 1994).

Además, una alta producción de polen es un factor importante en la relación polen-óvulo; particularmente, Cruden (1977) señala que en las mimosoideas y en las asclepias (Wyatt *et al.*, 2000), esta relación llega a ser muy baja (menor a 1), a pesar de la alta producción, lo que permite señalar a estos grupos como la excepción en las plantas xenógamas como en algunos taxa del género *Calliandra* con un bajo porcentaje de germinación de tubos polínicos, mientras que, en algunos taxa del género *Inga* se ajusta una única políade con germinación del total de granos de polen (Taisma, 2007). Sin embargo, la agrupación del polen en tétrades y bitétrades en los taxa estudiados, así como la alta producción en cada taxon, sugiere una gran cantidad de polen disponible para cada ovario, que potencialmente permitiría asegurar la fecundación de los óvulos.

Los resultados de la germinación del polen *in vitro* de los taxa estudiados, reflejan una baja respuesta del polen (*M. benthamii* var. *benthamii*, *M. camporum*, *M. luisana*) con respecto al polen de *Acacia glomerosa* benth, (Taisma, 2008), y una respuesta nula en los taxa donde no se observó ningún cambio (*M. pigra* var. *pigra* y *M. quadrivalvis* var. *quadrivalvis*). En los taxa en que se registró la formación de tubos polínicos, corresponden a los medios de cultivo 4 y 5, que contenían nutrimentos no contemplados en los primeros medios. Finalmente la germinación se registró en el medio de cultivo 5 con el mayor número de nutrimentos, lo que sugiere que para la germinación los taxa estudiados, el polen requeriría de condiciones y nutrimentos similares a los que les proporciona un estigma receptivo, los cuales se desconocen para *Mimosa*.

La germinación del polen en taxa cercanos a *Mimosa*, se reporta con una amplia variación; por ejemplo en *Acacia*, como lo señalan Kenrick y Knox (1981; 1989); la capacidad de germinación del polen decrece desde el momento en que se retira de las anteras y los períodos de viabilidad son muy cortos, de hasta 72 horas. Del mismo modo, Kenrick (2003) señala que la pérdida de la calidad del polen, puede ser resultante de la senescencia las flores y de los factores ambientales, como la

humedad relativa a lo largo de los períodos de antesis; ambos tomados en cuenta al momento del desarrollo y liberación del polen.

Aunado a lo anterior, según distintos autores como Heslop-Harrison (1992), Thomson y Thomson (1992), Dafni y Firmage (2000), entre los requerimientos necesarios para la germinación del polen destacan: la longevidad, la potencialidad de hidratación, y los recursos almacenados en cada grano de polen hasta el alcance de un estigma receptivo; elementos clave que pueden varían entre los taxa y que deben considerarse en los análisis de la formación de tubos polínicos, tanto en *Mimosa* como en otros taxa.

### **6.5. Morfología de las inflorescencias y las flores**

Las características estructurales y funcionales de las flores han permitido determinar su papel en el tipo de polinización como lo señalan Frankel y Galun (1977). Del mismo modo, se ha señalado que, debido a la conformación de las inflorescencias en algunas mimosoideas, estas funcionan como la unidad de polinización (Arroyo, 1981); así como en el género *Acacia*; que presenta flores con estambres prominentes, que definen el color y la forma de las inflorescencias (Kenrick, 2003; Rico-Arce, 2007). En los resultados se tomaron en cuenta las características de las inflorescencias, lo que permitió considerarlas como la unidad de polinización, dando a la planta la capacidad de atraer una gama de visitantes florales (com. pers., Grether).

Los resultados morfológicos de las flores en *Mimosa*, muestran que la variación en la forma, número de flores bisexuales, presencia o ausencia de flores estaminadas, la forma y proporción de las brácteas respecto a la longitud de la corola, así como el número total de flores por inflorescencia son características importantes en la atracción de los polinizadores, los cuales son atraídos por características florales, así como por los recursos que obtienen, ya sea polen o néctar (Endress, 1994)

A su vez, los conjuntos florales en *Mimosa*, están caracterizados por estructuras llamativas como los estambres, que les permiten ser más conspicuas y a su vez, ser visitadas más de una vez en el transcurso del día (Pacini, 1992). En el caso de *Mimosa*, se sugiere como principal recompensa el polen, sin embargo en otros géneros como *Inga*, Taisma (2007) señala que la recompensa para los visitantes, además del polen es la producción de néctar y en contraparte, los visitantes florales llevan a cabo la polinización.

Es importante señalar que, en los taxa estudiados no se observó la presencia de néctar; sin embargo, en *M. luisana*, *M. benthamii* var. *benthamii* y *M. pigra* var. *pigra* se observó un ovario estipitado, que sugiere la existencia de un espacio libre, entre el ovario, los estambres y la base de la corola. Este espacio podría ser acumulador de néctar como lo señalan Vogel *et al.* (2005) en *M. lewisii*. Por ello es importante analizar a detalle, la composición floral en los taxa de *Mimosa* para aclarar la presencia o ausencia de néctar.

Con base en los resultados, es posible señalar los tipos de visitantes florales principales, con respecto a la forma y el área de las inflorescencias. En los taxa con capítulos globosos o subglobosos (*M. camporum*, *M. quadrivalvis* var. *quadrivalvis* y *M. pigra* var. *pigra*), se propone una mayor atracción para polinizadores pequeños como abejas, abejorros, avispa y moscas (Aguilar-Sierra y Smith-Pardo, 2009); mientras que, en los taxa con espigas (*M. benthamii* var. *benthamii* y *M. luisana*), estructuras con mayor área en comparación con los capítulos, sugieren la atracción de polinizadores de mayor tamaño como chapulines y grillos (com. pers., Grether, Martínez-Bernal y Camargo-Ricalde).

Por otro lado, la presencia de sólo flores bisexuales en estos tres taxa, *M. luisana* y *M. benthamii* var. *benthamii* (espigas) y *M. pigra* var. *pigra* (capítulos subglobosos), sugiere una menor cantidad de polen disponible para ser dispersado, si se compara con los taxa que tienen flores

estaminadas adicionales. Como en el caso de *M. camporum* y *M. quadrivalvis* var. *quadrivalvis* (capítulos globosos), lo que sugiere, que la presencia de flores estaminadas podría generar una mayor carga de polen disponible para la fecundación y como recompensa para los polinizadores (Dafni, 1992; Aguilar-Sierra y Smith-Pardo, 2009), aunque el número de flores estaminadas observadas es muy bajo.

Con base en la conformación de las inflorescencias y las observaciones hechas en campo, es posible señalar, que el desarrollo de la maduración de las flores es de tipo protógino, es decir, los gineceos se desarrollan antes que los estambres (Endress, 1994). Esta característica (tipo de dicogamia) permite señalar una separación temporal de las estructuras reproductoras, con la posibilidad de evitar la autopolinización (Bawa y Beach, 1981; Lloyd y Webb, 1986).

Lo que propone la necesidad de la visita de los polinizadores por lo menos en dos o más ocasiones durante el desarrollo de la marcha floral; sin embargo, la separación de las fases masculina y femenina permitiría anular el evento de la autopolinización (*M. benthamii* var. *benthamii*, *M. luisana* y *M. pigra* var. *pigra*); aunque las características de las longitudes del gineceo y androceo, no descartan la posibilidad de la autopolinización en los taxa estudiados, donde las estructuras reproductivas se encuentran en contacto directo (*M. camporum* y *M. quadrivalvis* var. *quadrivalvis*) después de su elongación.

Otro evento importante de mencionar en *Mimosa* es la sincronía de la apertura floral (Lloyd y Webb, 1986); en *M. benthamii* var. *benthamii*, se observó un maduración asincrónica; en *M. luisana* hemisincrónica y en los taxa restantes fue totalmente sincrónica (*M. camporum*, *M. pigra* var. *pigra* y *M. quadrivalvis* var. *quadrivalvis*). Esto sugiere que, en los taxa con hemi y asincronía, ocurre una separación de las flores en anthesis en una misma inflorescencia, por lo que no todas las flores madurarían durante un mismo período de tiempo, entre los individuos de una misma

población; mientras que, en los taxa con maduración floral sincrónica, la polinización se efectuaría con individuos de la misma o de diferentes poblaciones. Es decir, que durante el transcurso del día, la disponibilidad de la carga de polen y de estigmas receptivos puede variar y, con ello, la presencia de los polinizadores.

Por lo tanto, el tamaño de las inflorescencias, la dicogamia, la sincronía de la marcha floral, la morfología y sexualidad de las flores, así como los atrayentes florales que integran un conjunto de características distintivas en cada taxon, permitirán a cada taxon presentar distintas combinaciones de características que les permiten lograr el éxito reproductivo. El estudio en conjunto de las características implicadas en la biología reproductiva, permite señalar la explotación de distintos grupos de animales, comúnmente asociados con las principales tendencias en la dispersión del polen (anemócora o entomófila) en las mimosoideas (Kenrick, 2003). Esto incluye a las abejas en *Prosopis* (Simpson, 1977) y en los taxa mesoamericanos de *Acacia* (Janzen, 1974), desde la entomofilia generalista que ocurre en *Acacia macracantha* Humb. et Bonpl. ex Willd. (Zapata y Arroyo, 1978) y *Acacia senegal* (L.) Willd. en India (Tandon *et al.*, 2001); así como en el gran número de acacias australianas (Stone *et al.*, 2003) y los murciélagos en *Parkia* (Hopkins, 1981) y en *Mimosa lewisii* (Vogel *et al.*, 2005)

## **6.6. Estimación del éxito reproductivo y estrategias reproductivas**

En las plantas el éxito reproductivo puede evaluarse por la producción de frutos y semillas (Endress, 1994). En los taxa analizados se realizó un acercamiento en la estimación de la producción de frutos y semillas, con base en el promedio de flores y el número de óvulos por ovario, por inflorescencia y considerando la fecundación de todos los óvulos por ovario.

La producción de frutos por inflorescencia y las semillas por fruto se enmarca de la siguiente manera: *M. camporum* produciría 20 frutos y alrededor de 80 semillas por capítulo; *M. benthamii* var. *benthamii*, 278 frutos y hasta 2,800 semillas por espiga; *M. luisana* generaría un promedio de 66 frutos y 660 semillas por espiga; *M. pigra* var. *pigra*, un promedio de 71 frutos y alrededor de 1420 semillas por capítulo y por último *M. quadrivalvis* var. *quadrivalvis*, formaría 27 frutos y 540 semillas por capítulo.

Considerando las estimaciones señaladas, las cuales se basaron en sólo una sección de la planta, es posible mencionar que algunos taxa de *Mimosa* tienen alta producción de semillas, si se considera la gran producción de inflorescencias. Además, debe considerarse que no siempre se alcanzará el máximo de óvulos fecundados por ovario, debido a que el óptimo desarrollo de todos los óvulos puede depender de distintos factores como los que mencionan Owens y Stirton (1989); la calidad y cantidad de polen disponible para la fecundación, los períodos de receptividad del estigma y los sistemas de compatibilidad.

Por otro lado, con el análisis comparativo de las características morfológicas, anatómicas (cuantitativas y cualitativas) de las estructuras reproductoras de los taxa estudiados y con base en Cruden (1977) se pueden proponer tres estrategias reproductivas:

- a. Xenogamia no facultativa (=alogamia). *M. benthamii* var. *benthamii*, con antesis asincrónica en una misma inflorescencia, estambres y gineceo de igual longitud; *M. luisana*, con antesis hemisincrónica en una inflorescencia, con estambres más cortos que el gineceo. Para ambos taxa se sugiere polinización anemócora.
- b. Xenogamia facultativa (=alogamia facultativa). *M. pigra* var. *pigra*, antesis sincrónica en una inflorescencia y con estambres más cortos que el gineceo. En este taxon se observa una

marcada diferenciación espacial de las estructuras reproductoras, por lo que la polinización necesariamente requeriría de la presencia de los polinizadores.

- c. Autogamia. *M. quadrivalvis* var. *quadrivalvis* y *M. camporum* con antesis sincrónica en una inflorescencia y con estambres del mismo tamaño que el gineceo. En Ambos taxa, el gineceo y los estambres están en contacto directo, lo que permitiría la posibilidad de autopolinización.

## 7. CONCLUSIONES

Las características morfológicas del polen mostraron dos tipos de asociaciones (tétrades y bitétrades) las cuales varían con respecto al número de mónades y en su arreglo estructural (tétrades cruzadas esferoidales, tétrades cruzadas aplanadas esferoidales y elipsoidales y bitétrades elipsoidales rotadas). Con base en lo anterior, se puede señalar que la variación en el número de mónades, no influye en el tamaño de las políades como lo muestran nuestros resultados.

En este estudio se presentan las características anatómicas y morfológicas del gineceo en *Mimosa*, como un aporte importante para la subfamilia, con énfasis en la relación polen-estigma, producción y calidad del polen, así como en la producción de frutos; los cuales tienen implicaciones en la biología reproductiva de *Mimosa*.

Por su forma y tamaño, se describen cuatro tipos de estigmas: poriforme, tubular, cupuliforme y crateriforme, los cuales se caracterizan por ser húmedos-no papilados. Además de presentar un estilo sólido, ovario con variaciones en el tamaño, forma e indumento y óvulos con estructura semejante.

En la relación polen-estigma, las características morfológicas de las políades (tamaño, forma y tipo de asociación), coinciden con la forma y el tamaño del estigma, lo que permite aseverar la estrecha relación de estas estructuras y su importancia en los eventos reproductivos del género.

Entre las particularidades del polen en los taxa estudiados, destacan la alta producción y la viabilidad de las mónades; del mismo modo, la alta producción de frutos y semillas por inflorescencia nos permite indicar una estimación del éxito reproductivo significativa con base en las características evaluadas.

Aunado a esto, con énfasis en las características de las inflorescencias en capítulos o en espigas, consideradas la unidad de polinización, el número de flores por inflorescencia, la forma y

proporción de las brácteas, así como la variación en el tamaño de los verticilos florales, principalmente en la longitud del gineceo con respecto a los estambres, y la relación polen-estigma, se pueden señalar tres estrategias reproductivas: autogamia, xenogamia (alogamia) y xenogamia facultativa.

La interacción polen-estigma se suma a nuevas áreas de investigación en las mimosoideas, como son la anatomía floral y la biología del polen y del gineceo, que acercan al entendimiento del éxito reproductivo de los taxa del género.

## 8. LITERATURA CITADA

- Aguilar-Sierra, C. I. y A. H. Smith-Pardo. 2009. Abejas visitantes de *Mimosa pigra* L. (Mimosaceae): comportamiento de pecoreo y cargas polínicas. *Acta biol. Colomb.* 14: 1
- Arroyo, M. T. K. 1981. Breeding systems and pollination biology in Leguminosae. *In*: Polhill R. M. y P. H. Raven (eds.). *Advances in Legume Systematics, Part 2.* Royal Botanical Garden, Kew. 723-769.
- Banks, H., I. Himanen y G. P. Lewis. 2010. Evolution of pollen, stigmas and ovule numbers at the Caesalpinioide–Mimosoid interface (Fabaceae). *Botanical Journal of the Linnean Society*, 162: 594–615.
- Baranelli, J. L., A. A. Cocucci y A. M. Anton. 1995. Reproductive Biology in *Acacia caven* (Mol.) Mol. (Leguminosae) in the central region of Argentina. *Botanical Journal of the Linnean Society* 119: 65-76.
- Barneby, R. C. 1991. *Sensitivae Censitae: A description of the genus Mimosa* Linnaeus, (Mimosaceae) in the New World. *Mem. New York Botanical Garden* 65: 1-835.
- Barrett, S. C. H. 1992. Heterostylous genetic polymorphism: Model for evolutionary analysis. *In*: Barrett, S. C. H. (ed.). *Evolution and Function of Heterostyly*: 1-29, Berlin: Springer.
- Bawa, K. S. 1974. Breeding systems of tree species of a lowland tropical community. *Evolution*, 28: 85-92.
- Bawa, K. S. y J. H. Beach. 1981. Evolution of sexual systems in flowering plants. *Annals of the Missouri Botanical Garden* 68: 254-274.
- Bozzola, J.J. y L. D. Russell 1999. *Electron Microscopy: Principles and Techniques.* Jones and Bartlett Publishers, Inc. USA. 560pp.

- Bruneau A., M. Mercure, G. P. Lewis y P. S. Herendeen. 2008. Phylogenetic patterns and diversification in the caesalpinoid legumes. *Canadian Journal of Botany* 86: 697-718.
- Caccavari, M. A. 1985. Granos de polen de leguminosas de la Argentina IV. Género *Mimosa*. *Boletín de la Sociedad Argentina de Botánica*. 24(1-2): 151-167.
- Caccavari, M. A. 1987. Estudio de los caracteres del polen en las *Mimosa-Glanduliferae*. *Actas del VII Simposio Argentino de Paleobotánica y Palinología*. Buenos Aires, pp.141-143.
- Caccavari, M. A. 1988. Ultraestructura del polen de *Mimosa* (Mimosoideae-Leguminosae). *Pollen et Spores* 30(3-4): 275-296.
- Caccavari, M. A. 2002. Pollen morphology and structure of Tropical and Subtropical American genera of the Piptadenia-group (Leguminosae: Mimosoideae). *Grana* 41: 130-141.
- Camargo-Ricalde, S. L., R. Grether, A. Martínez-Bernal, V. García-García, y S. Barrios-del-Rosal 2001. Especies útiles del género *Mimosa* (Fabaceae-Mimosoideae) en México. *Boletín de la Sociedad Botánica de México*, 68: 33-44.
- Cruden, R. W. 1977. Pollen-ovule: A conservative indicator of breeding systems in flowering plants. *Evolution*, 31: 32-46.
- Cruden, R. W. 2009. Pollen grain size, stigma depth, and style length: the relationships revisited. *Plant Syst. Evolution*, 278: 223-238.
- Cruden, R. W. y D. L. Lyon. 1985. Correlations among stigma depth, style length and pollen size: do they reflect function of phylogeny? *Botanical Gazette*, 146(1): 143-149.
- Cruden, R. W. y S. Miller-Ward. 1981. Pollen-ovule ratio, Pollen Size and the Ratio of stigmatic area of the pollinator: an hypothesis. *Evolution*, 35(5): 964-974.
- Dafni, A. 1992. *Pollination ecology: a practical approach*. Oxford University Press, Oxford, 345 pp.

- Dafni, A. y D. Firmage. 1999. Pollen viability and longevity: practical, ecological and evolutionary implications. *Plant Systematics and Evolution*, 222: 113-132.
- Daniel, W. W. 2008. Bioestadística. Base para el análisis de las ciencias de la salud. Limusa-Wiley. 4ª ed. 855pp.
- Dulbelger, R., M. B. Smith, y K. S. Bawa. 1994. The stigmatic orifice in *Cassia*, *Senna*, and *Chamaecrista* (Cesalpiniaceae): Morphological variation, function during pollination, and posible adaptative significance. *American Journal of Botany*, 81(11): 1390-1396.
- Dykstra M. J. y L. E. Reuss. 2003. *Biological Electron Microscopy: Theory, Techniques & Troubleshooting*. 335pp.
- Edlund, A. F., R. Swanson y D. Preuss. 2004. Pollen and stigma structure and function: The role of diversity in pollination. *The Plant Cell* 16: s84-s97.
- El Ghazali, G. E., A. M. Satti y S. I. Tsuji. 1997. Intra-specific pollen polymorphism in *Mimosa pigra* (Mimosaceae). *Grana*, 36(5): 279-283.
- Elias, T. S. 1981. Mimosoideae. *In*: Polhill, R. M. y P. H. Raven (eds.). *Advances in Legume Systematics*, Royal Botanical Gardens, Kew 143-170pp.
- Endress, P. K. 1994. *Diversity and evolutionary biology of tropical flowers*. Cambridge University Press. 511 pp.
- Erdtman, G. 1943. *An introduction to Pollen Analysis*. The Ronald Press Co. New York. 239pp.
- Erdtman, G. 1960. The acetolysis method: a revised description. *Svensk Botanisk Tidskrift*, 54: 561-564.
- Flores-Cruz, M. 2004. Contribución a la revisión taxonómica de *Mimosa* serie *Quadrivalves* (Leguminosae, Mimosoideae). Tesis de doctorado. Colegio de Postgraduados. Texcoco, Estado de México. 127 pp.

- Flores-Cruz, M., H. D. Santana-Lira, A. Martínez-Bernal, y M. E. Fraile. 2006. Morfología del polen de *Mimosa* serie *Quadrivalves* (Leguminosae, Mimosoideae). *Acta Botánica Mexicana* 77: 1-13.
- Font Quer, P. 1979. *Diccionario de Botánica*. 7ª ed. Editorial Labor, S. A. España. 1244 pp.
- Frankel R y E. Galun. 1977. *Pollination mechanisms, reproduction and plant breeding*. Springer-Verlag. *Pollination Incompatibility*, 281 pp.
- Gassama-Dia, Y. K., D. Sané y M. N'Doye. 2003 Reproductive biology of *Faidherbia albida* (Del.) A. Chev. *Silva Fennica* 37(4): 429-436.
- Gaviño de la Torre, G., G. Juárez-López, y H. H. Figueroa-Tapia. 2004. *Técnicas Biológicas selectas de laboratorio y de campo*. Ed. Limusa México. 308 pp.
- González M. E., A. Estévez y D. Gracia. 1995. Métodos para la determinación de la fertilidad del polen y su relación con los resultados de las polinizaciones. *Cultivos tropicales* 12(2): 84-88.
- Grether, R. 1997. Revisión taxonómica del género *Mimosa* (Leguminosae) en Mesoamérica. Tesis de doctorado. Facultad de Ciencias, Universidad Nacional Autónoma de México. México, D.F. 370 pp.
- Grether, R., A. Martínez-Bernal, y S. L. Camargo-Ricalde. 2007. *Mimosa* L. In: Rzedowski y Calderón de Rzedowski (eds.). *Flora del Bajío y de regiones Adyacentes*. Familia Leguminosae, Subfamilia Mimosoideae. Instituto de Ecología, A. C. 150: 140-183.
- Guinet, Ph. 1981. Mimosoideae: the characters of their Pollen Grains. In: Polhill, R. M. y P. H. Raven (eds.). *Advances in Legume Systematics. Part 2*. Royal Botanic Gardens Kew. pp. 835-855.
- Gurevitch, J., S. M. Scheiner y G. A. Fox. 2006. *The ecology of plants*. 2º ed. Sinauer Associates, Inc. Sunderland, Massachusetts, U.S.A. 574 pp.

- Harder, L. D. y S. D. Johnson. 2008. Function and evolution of aggregated pollen in angiosperms. *International Journal of Plant Sciences*, 169(1): 59-78.
- Haring, V., Gray, J. E., McClure, B. A., Anderson, M. A. y A. E. Clarke. 1990. Self-incompatibility: A self-recognition system in plants. *Science* 250: 937-41.
- Heslop-Harrison, J. S. 1992. Cytological techniques to assess pollen quality. *In*: Cresti, M, A Tiezzi (eds.). *Sexual plant reproduction*. Springer-Verlag. 41-48.
- Heslop-Harrison, J. S. y Y. Heslop-Harrison. 1982. Pollen-stigma interaction in the Leguminosae: constituents of the stylar fluid and stigma secretion of *Trifolium patense* L. *Ann. Bot.* 49: 729-735.
- Heslop-Harrison, J. S., Y. Heslop-Harrison y K. R. Shivanna. 1984. The evaluation of pollen quality, and a further appraisal of the fluorochromatic (FCR) test procedure. *Theoretical and Applied Genetics*, 67:367-375.
- Heslop-Harrison, Y. 1981. Stigma characteristics and angiosperm taxonomy. *Nordic J. Bot.* 1: 401-420.
- Heslop-Harrison, Y. y K. R. Shivanna. (1977). The receptive surface of the angiosperm stigma. *Annals of Botany* 41(6): 1233-1258.
- Hoc, P. S., M. A Agulló y R. A. Palacios. 1994. Stylar trimorphism in four functionally andromonoecious *Prosopis* species (Mimosaceae). *Pl. Syst. Evol.* 190: 143-156.
- Hokche, O. y N. Ramírez. 2006. Biología reproductiva y asignación de la biomasa floral en *Solanum garneri* Sendth. (Solanaceae): una especie andromonoica. *Acta Botánica Venezuelica*, 29(1): 1-19.
- Hopkins, H. C. 1984. Floral Biology and pollination ecology of the neotropical species of *Parkia*. *Journal of Ecology*, 72: 1-23.

- Ibrahim, Z. y K. Awang. 1991. Comparison of floral morphology flower production and pollen yield of *Acacia mangium* and *A auriculiformis*. *Advances in tropical Acacia research*, 35: 26-29.
- Iglesias-Andreu, L. G. y Y. Tivo-Fernández. 2005. Estudio morfométrico y de viabilidad del polen de tres especies de pinos de la región del Cofre de Perote, Veracruz, México. *Revista Forestal Venezolana* 49(2): 191-196.
- Janzen D. H. 1974. Swollen-Thorn Acacias of Central America. *Smithsonian Contributions to Botany*, 13: 1-131.
- Johnson, S. D. y T. J. Edwards. 2000. The structure and function of orchid pollinaria. *Plant Systematics and Evolution* 222: 243-269.
- Kenrick, J. 2003. Review of pollen-pistil interactions and their relevance to the reproductive biology of *Acacia*. *Australian Systematic Botany* 16: 119-110.
- Kenrick, J. y R. B. Knox. 1979. Pollen development and cytochemistry in some Australian species of *Acacia*. *Australian Journal of Botany*, 27: 413-427.
- Kenrick, J. y R. B. Knox. 1981. Post-pollination exudate from stigmas of *Acacia* (Mimosaceae). *Ann. Bot. (London)* 48: 103-106.
- Kenrick, J. y R. B. Knox. 1982. Function of the polyad in reproduction of *Acacia*. *Annals of Botany* 50: 733-745.
- Kenrick, J. y R. B. Knox. 1989. Pollen-pistil interactions in Leguminosae (Mimosoideae). *In: Advances in Legume Biology*. Stirton, C H. & J. L. Zarucchi (eds.). *Monographs in Systematic Botany from the Missouri Botanical Garden*, 29: 127-156.
- Kenrick J., Kaul, V. y E. G. Williams. 1986. Self-incompatibility in *Acacia retinodes*: site of pollen tube arrest is the nucellus. *Planta* 169: 245-250.

- Kremp, G. O. 1965. Morphologic encyclopedia of palynology. The University of Arizona Press, Tucson. 263pp.
- Krishnamurthy, K. V. 1988. Methods in Plant Histochemistry. S. Viswanathan (Printers and Publishers) Private Limited. 1<sup>st</sup> ed. 115pp.
- Lewis, G. P. y T. S. Elias. 1981. Mimoseae. *In*: Polhill, R. M. y P. H. Raven (eds.). Advances in Legume Systematics Part 1. Royal Botanical Garden, Kew. 425pp.
- Lewis, G., Schrire, B., Mackinder, B. y M. Lock. (eds.). 2005. Legumes of the World. The R. Bot. Gard., Kew Reino Unido. 577 pp.
- Lima e Lima, L. C., F. H. Magalhaes e Silva y F. A. Ribeiro Dos Santos. 2008. Palinología de especies de *Mimosa* L. (Leguminosae-Mimosoideae) do Semi-Árido Brasileiro. Acta Botánica Brasilica 22(3):794-805.
- Lloyd, D. G. y C. J. Webb. 1986. The avoidance of interference between the presentation of pollen and stigmas in angiosperms I. Dichogamy. New Zealand journal of botany, 24(1): 135-162.
- López-Curto, M de L., J. Márquez-Guzmán y G. Murguía-Sánchez. 2005. Técnicas para el estudio del desarrollo en angiospermas. Libro de laboratorio. Las Prensas de Ciencias, UNAM. México. 177pp.
- Lord, E. M. 1981. Cleistogamy: A tool for the study of floral morphogenesis, function and evolution. The Botanical Review, 47(4): 421-449.
- Luckow, M. 2005. Tribe Mimoseae. Legumes of the World. Kew: Royal Botanic Gardens, 163–183.
- Martin, F. W. 1959. Staining and observing pollen tubes by means of fluorescence. Stain Technology Journal 34: 125-128.

- Martínez-Bernal, A. 2003. Revisión taxonómica del género *Mimosa* (Leguminosae) en los estados de Puebla y Tlaxcala, México. Tesis de maestría en ciencias (Biología). Facultad de Ciencias, Universidad Nacional Autónoma de México. México, D.F. 206pp.
- Martínez-Bernal, A. y R. Grether. 2006. *Mimosa* L. In: Novelo, A., Medina, R., Ochoterena, H., Salazar, G. y Alvarado-Cárdenas L. (eds.). Flora del Valle de Tehuacán-Cuicatlán, Tribu Mimoseae. Instituto de Biología. UNAM. 44: 42-99.
- Martínez-Bernal, A., R. Grether y R. M. González-Amaro. 2008 Leguminosae I Mimosoideae: *Mimosa*. Flora de Veracruz. Instituto de Ecología, A. C. Centro de Investigaciones Tropicales. Universidad Veracruzana. 147: 1-129pp.
- Martínez-Hernández, E. 1970. Estudio palinológico de las especies dominantes de la vegetación de los alrededores de la Laguna Madre, Tamps. Mexico. Tesis, Facultad de Ciencias, UNAM, México. 138 pp.
- Ornduff, R. 1969. Reproductive biology in relation to systematics. *Taxon* 18: 121-133.
- Owens, S. J. 1990. The morphology of the wet, non-papillate (WN) stigma form in the tribe Caesalpinieae (Caesalpinioideae: Leguminosae). *Botanical Journal of the Linnean Society* 104: 293-302.
- Owens, S. J. y G. P. Lewis. 1989. Taxonomic and functional implications of stigma morphology in species of *Cassia*, *Chamaecrista*, and *Senna* (Leguminosae: Caesalpinioideae). *Plant Systematics and Evolution* 163: 93-105.
- Owens, S. J. y C. H. Stirton. 1989. Pollen, stigma and style interactions in the Leguminosae. In: Stirton C. H. y J. L. Zarucchi (eds.). *Advances in Legume Biology. Monogr. Syst. Bot. Missouri Bot. Gard.* 29: 105-112.

- Pacini, E. 1992. Transport mechanism of pollen – A short review. *In*: Cresti, M. y A. Tiezzi (eds.). Sexual Plant Reproduction. Springer-Verlag. Germany. 69-79, 247 pp.
- Pennington, T. D. 1997. The genus *Inga*, botany. The Royal Botanic Gardens, Kew. 1-8 pp.
- Percival, M. 1969. Floral Biology. Pergamon Press, London. 243 pp.
- Polhill, R. M. 1994. Classification of the Leguminosae and complete synopsis of legume genera. *In*: Bisby F. A., Buckingham J. y J. B. Harborne (eds.). Phytochemical dictionary of the Leguminosae. Vol. 1. Plants and their constituents. London: Chapman & Hall, 35–57.
- Raine, N. E., A. Sharp-Pierson y G. N. Stone. 2007. Plant-pollinator interactions in a Mexican *Acacia* community. *Arthropod-Plant Interactions* 1: 101-117.
- Ramírez, N. y P. Berry. 1993. Producción y costo de frutos y semillas relacionados a los tipos morfológicos de frutos, unidad de dispersión y síndromes de dispersión. *Ecotrópicos* 6(1): 43-61.
- Rico-Arce, M. L. 2007. A checklist and synopsis of American species of *Acacia* (Leguminosae: Mimosoideae). Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad (CONABIO). México. 207 pp.
- Sandoval, Z. E. 2005. Técnicas aplicadas al estudio de la anatomía vegetal. Instituto de Biología, UNAM. México D. F. 278 pp.
- Seijo, J. G. y V. G. Solís-Neffa. 2004. The cytological origin of the polyads and their significance in the reproductive biology of *Mimosa bimucronata*. *Botanical Journal of the Linnean Society* 144: 343-349.
- Shivanna, K. R. y S. J. Owens. 1989. Pollen-pistil interactions (Papilionoideae). *In*: Stirton, C. H. y J. L. Zarucchi (eds.), *Advances in Legume Biology, Monograph Systematic Botany*. Missouri Botanical Garden, 29: 157-182.

- Simon, M. F., R. Grether, P. de Queiroz L., T. E. Sarkinen, V. F. Dutra y C. E. Hughes. 2011. The evolutionary history of *Mimosa* (Leguminosae): toward a phylogeny of the sensitive plants. *American Journal of Botany* 98(7): 1201–1221.
- Simpson, B. B. 1977. Mesquite, its biology in two desert shrub ecosystems. Dowden, Hutchinson & Ross. Stroudsburg (EE.UU.) 150 pp.
- Sornsathapornkul, P. y J. N. Owens. 1999a. Ultrastructure and histochemistry of the ovule, fertilization, and formation the zygote in a tropical *Acacia* hybrid (*A. mangium* Wild. x *A. auriculiformis* A. Cunn. ex. Benth.). *International Journal of Plant Sciences* 160: 229-240.
- Sornsathapornkul, P. y J. N. Owens. 1999b. Zygotyc embryo development in a tropical *Acacia* hybrid (*A. mangium* Wild. x *A. auriculiformis* A. Cunn. ex. Benth.). *International Journal of Plant Sciences* 160: 445-458.
- Sorsa, P. 1969. Pollen morphological studies on the Mimosaceae. *Annales Botanici Fennici* 6(1): 1-34.
- Sousa S., M. y S. Zárate. 1983. Flora Mesoamericana. Glosario para Spermatophyta, Español-Inglés. Instituto de Biología, UNAM, México. 88pp.
- Sousa, S. M., R. Medina, M. G. Andrade y M. L. Rico A. 2004. Leguminosas. *In*: A. J. García-Mendoza, M. J. Ordoñez y M. Briones-Salas (eds.). Biodiversidad de Oaxaca. Instituto de Biología, UNAM-Fondo Oaxaqueño para la Conservación de la Naturaleza-World Wildlife Fund, México. 249-269 pp.
- Stebbins, G. L. 1958. Longevity, habitat, and release of genetic variability in the higher plants. *Cold Spring Harbor Symposia on Quantitative Biology* 23: 365-378.
- Stone, G. N., N. E. Raine, M. Prescott y P. G. Willmer. 2003. Pollination ecology of Acacias (Fabaceae, Mimosoideae). *Australian Systematic Botany* 16: 103-118.

- Swanson, R., A. F. Edlund y D. Preuss. 2004. Species specificity in pollen-pistil interactions. *Annual Review of Genetics* 38: 793-818.
- Taisma, M. A. 2007. Morfometría de unidades de inflorescencia, flores y políades en especies de la tribu Ingeae (Mimosoideae). *Acta Botánica Venezuéllica* 30(1): 227-247.
- Taisma, M. A. 2008. Crecimiento de tubos polínicos y eficiencia reproductiva en *Acacia glomerosa* Benth. *Acta Botánica Venezuéllica* 31(2): 529-538.
- Tandon, R., K. R. Shivanna y H. M. Ram. (2001). Pollination biology and breeding system of *Acacia senegal*. *Botanical Journal of the Linnean Society* 135 (3): 251-262.
- Taylor, L. P. y P. K. Hepler. 1997. Pollen germination and tube growth. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology* 48: 461-491.
- Thomson. J. D. y B. A. Thomson. 1992. Pollen presentation and viability schedules in animal-pollinated plants: consequences for reproductive success. *In: Wyatt, R. (ed.). Ecology and evolution of plant reproduction: New Approaches*. New York. Chapman & Hall, pp. 1-24.
- Vogel, S., A. V. Lopes e I. C. Machado. 2005. Bat pollination in the NE Brazilian endemic *Mimosa lewisii*: an unusual case and first report for the genus. *Taxon* 54(3): 693-700.
- Tivo, F. Y. y L. G. Iglesias-Andreu. 2003. Evaluación del polen en *Pinus hartwegii* Lindl. del Cofre de Perote, Veracruz, México. *Foresta Veracruzana* 5(2): 41-48.
- Uma Shaanker, R. y K. N. Ganeshaiyah. 1990. Pollen grain deposition patterns and stigma strategies in regulating seed number per pod in multi-ovulated species. *In: Bawa K. S. y M. Hadley (eds.). Reproductive Ecology of Tropical forest plants*. pp. 165-177. *Man and the Biosphere Series*. UNESCO.
- Weber, M. 1994. Stigma, style, and pollen tube pathway in *Smyrniium perfoliatum* (Apiaceae). *International Journal of Plant Sciences* 155(4): 437-444.

- Wyatt R., S. B. Broyles y S. R. Lipow. 2000. Pollen-ovule ratios in Milkweeds (Asclepiadaceae): an exception that probes the rule. *Systematic Botany* 25(2): 171-180.
- Weber, M. 1994. Stigma, style and pollen tube pathway in *Smyrniium perfoliatum* (Apiaceae). *International Journal of Plant Sciences* 155(4): 437-444.
- Yacaman M. J. 1995. *Microscopía Electrónica. Una visión del microcosmos*. Fondo de Cultura Económica, México. 143 pp.
- Zapata, T. R. y M. T. K. Arroyo. 1978. Plant reproductive ecology of a secondary deciduous tropical forest in Venezuela. *Biotropica* 10: 221-230.
- Zar, J. H. 2010. *Biostatistical analysis*. Prentice-Hall/Pearson. 5th ed. 944 pp.

## 9. ANEXOS

### 9.1. Anexo 1

#### TÉCNICA DE ACETÓLISIS PARA PROCESAR BOTONES FLORALES Y OBTENER GRANOS DE POLEN

##### Tomado de Erdtman, 1960 y Martínez-Hernández, 1970

1. Calentar agua a 90-100 °C en un vaso de precipitados.
2. Numerar los tubos de vidrio para centrifuga de 10 ml y anotar a que muestras corresponden.
3. Preparar mezcla acetólica en campana de extracción:
  - 9 partes de anhídrido acético (18 ml).
  - 1 parte de ácido sulfúrico concentrado (2 ml).
4. Poner los botones florales en los tubos y machacarlos en seco con agitador.
5. Poner aproximadamente 3 ml de mezcla acetólica en cada tubo y calentar en baño María a 80-85 °C durante 13 min, para *Mimosa*, agitando frecuentemente.
6. Agregar ácido acético concentrado: llenar 3/4 partes del tubo y mezclar ligeramente.
7. Quitar los agitadores lavándolos con ácido acético.
8. Balancear los tubos por pares con su camisa agregando el ácido acético necesario.
9. Centrifugar durante 5 min a 900-1000 rpm.
10. Decantar en lavadero con agua corriente, escurriendo el ácido por la pared del lavadero.
11. Llenar aproximadamente 1/3 del tubo con ácido acético.
12. Resuspender con el vórtex.
13. Balancear los tubos con ácido acético.
14. Centrifugar durante 5 min a 350-600rpm.
15. Decantar el ácido acético en lavadero con agua corriente.
16. Agregar agua destilada hasta 1/3 del tubo.
17. Resuspender con el vórtex.
18. Llenar tubos hasta 3/4 con agua destilada.
19. Balancear los tubos por pares con agua destilada.

20. Centrifugar durante 5 min a 900-1000 rpm.
21. Decantar en la tarja.
22. Agregar 3 ml de agua destilada en cada tubo.
23. Resuspender con el vórtex.
24. Tamizar con malla 200  $\mu\text{m}$  (para *Mimosa*).
25. Observar el material al microscopio.
26. Regresar el polen tamizado a los tubos.
27. Balancear los tubos con agua destilada.
28. Centrifugar durante 5 min a 900-1000 rpm.
29. Decantar dejando muy poca agua en cada tubo.
30. Elaborar laminillas montando los granos de polen en gelatina glicerinada y sellando con barniz transparente.
31. etiquetar las laminillas y conservar en polen sobrante en alcohol al 70% en frascos de vidrio pequeños, debidamente etiquetados

## 9.2. Anexo 2

### **PREPARACIÓN DE MUESTRAS BIOLÓGICAS PARA MICROSCOPIA ELECTRÓNICA DE BARRIDO (MEB)**

#### **Bozzola y Russell, 1999**

Material biológico: tejidos vegetales (gineceos y granos de polen)

Equipo: campana de extracción, cronómetro, balanza analítica, plancha térmica con agitador magnético, potenciómetro, desecador a punto crítico, evaporadora de carbono y oro, microscopio electrónico de Barrido.

Material de laboratorio:

Cristalería (Frascos ámbar, matraces, vasos de precipitado, pipetas Pasteur, viales con tapa, desecador, cajas de Petri, etc.)

Otros: navajas, cápsulas para desecación, pinzas, soportes de aluminio, pisetas, hilo de carbón, marcadores, lápices, tintura de plata, cinta de carbón, parafilm, guantes de plástico.

Reactivos: glutaraldehído al 50%, fosfato monobásico de sodio, fosfato dibásico de sodio, sacarosa, tetraóxido de osmio, etanol al 100% y acetona, agua destilada.

#### **Técnicas**

##### **A. Fijación**

###### **1. Tamaño de las muestras de material biológico**

El material biológico se procesa directamente o, si se requiere, se corta con navaja muy filosa en pequeños pedazos de 4x4 mm como máximo, que se colocan en viales de cristal y se agrega inmediatamente el fijador en una cantidad equivalente a 10 volúmenes de fijador respecto a la muestra.

## **2. Preparación de fijador**

El glutaraldehído entre el 3 y el 6% en solución amortiguadora, es un fijador frecuentemente utilizado. La osmolaridad se determina en función de las características del material que se pretende fijar.

Los fosfatos se disuelven fácilmente en el agua, por lo que se pueden colocar en matraces aforados de bola bien tapados agitando a mano fuertemente o con un agitador magnético. Recordar que las sales deben ser vaciadas al agua y no a la inversa.

## **3. Fijación**

Los trozos de material biológico se colocan en un vial y se les agrega un volumen de glutaraldehído 10 veces superior al del material, este procedimiento se lleva a cabo a temperatura ambiente, pero la gradilla con los viales debe colocarse sobre hielo y el glutaraldehído debe mantenerse frío. Durante el tiempo de fijación (mínimo 2 hrs) las muestras debe mantenerse de preferencia en refrigeración.

Si se requiere vacío para que el fijador penetre mejor, las muestras se colocan en un desecador conectado a una bomba de vacío. Debe cuidarse de hacer un vacío ligero (se ve en el menisco de los viales y que la solución burbujee un poco) se cierra el vacío y se cierra la llave del desecador. Material biológico como esporas, polen, bacterias etc. requieren de un centrifugado previo, para manejar el material en una "pastilla". La centrifugación será de 3000 a 10,000 rpm durante 10 a 15 min dependiendo del tipo de material. El material se mantiene en los tubos Épendorf, el sobrenadante de amortiguador, se elimina y se coloca el fijador.

## **4. Lavado**

Se coloca la gradilla nuevamente sobre hielo y también el amortiguador de fosfatos. Se retira por decantación el glutaraldehído y se reemplaza inmediatamente por amortiguador de fosfatos, se realizan de 4 a 5 cambios.

## **B. Preparación de la solución de Tetraóxido de Osmio al 2%.**

Reactivos: ampolleta de 0.5 g de osmio, 25 ml. de amortiguador de fosfatos

## **Preparación**

El tetraóxido de osmio suele estar cristalizado, para hacer cristales más pequeños y facilitar su disolución, se procede a calentarlo en baño maría, pero sin que esté hirviendo, se deja 2 min y se saca. Luego se lava con jabón y agua corriente. En un frasco ámbar con tapa de cristal esmerilada se colocan 25 ml de la solución de amortiguador de fosfatos. Bajo la campana de extracción, la ampolleta y su contenido se introducen en el frasco ámbar. Se deja disolver la solución durante 48 hrs en el refrigerador o se utiliza un agitador de ultrasonido durante 10 min. Debe evitarse que los cristales queden en la solución.

### **C. Aplicación de la solución de Tetraóxido de osmio**

Sólo las muestras que van a ser utilizadas en microscopio electrónico deben ser fijada por medio de una solución de Tetraóxido de osmio. La solución de osmio debe ponerse en doble frasco de vidrio ámbar grueso cubierto con aluminio bien tapado con una tapa de metal o cristal y parafilm para sellar. Debe prepararse sólo la cantidad necesaria de solución de tetraóxido de osmio y mantenerse en refrigeración.

Las muestras deben haber sido fijadas en glutaraldehído entre 1 a 3 hrs mínimo y lavadas con amortiguador de fosfatos en 3 a 4 cambios; con una pipeta Pasteur se retira el amortiguador y con una pipeta diferente se le incorpora la solución de Tetraóxido de osmio, las muestras se cubren con parafilm y se mantiene todo esto bajo la campana de extracción durante 30 min a 3 hrs según el material, incluso se pueden dejar en la solución de Tetraóxido de osmio hasta 12 hrs en ese caso, se mantienen en el refrigerador. Después del tiempo requerido de la fijación por tetraóxido de osmio, se retira la solución Tetraóxido de osmio con la misma pipeta con la que se colocó y se pone en un frasco de vidrio grueso ámbar, para tratarse como material peligroso de desecho, así como el glutaraldehído de los primeros lavados. Se hacen 3 lavados más, manteniendo el material sobre hielo. El material se deja en amortiguador para iniciar la deshidratación.

### **D. Deshidratación y desecación al punto crítico**

El procedimiento de deshidratación se lleva a cabo, colocando el material biológico y el agente deshidratante sobre hielo. En el caso de muestras para microscopía electrónica de barrido el procesamiento se lleva hasta la desecación al punto crítico y se usa frecuentemente etanol o acetona.

Reactivos: etanol o acetona, agua destilada

Se obtiene una serie de soluciones porcentuales de acetona (30, 40, 50, 60, 70, 85, 100%) o etanol (30, 50, 70, 80, 90 y 100%).

Las muestras de material biológico fijadas y en solución amortiguadora se colocan en hielo, reemplazando el amortiguador por el etanol o la acetona al 30 %. Antes de añadir el agente deshidratante, se realizan 3 lavados con amortiguador de fosfatos. Los cambios del material en cada una de las soluciones de alcohol o acetona deben hacerse entre 5 y 15 minutos o más según el material. En algunos casos deberán realizarse dos cambios en cada concentración de etanol o acetona. Se debe procurar evitar el uso de pipetas, se trabaja por decantación para evitar dañar las superficies de la muestra. La deshidratación se puede hacer en dos etapas, dejando toda la noche el material en etanol o acetona al 70%, y continuar al siguiente día.

La deshidratación de las muestras para microscopía de barrido culmina con la desecación al punto crítico, utilizando para ello el equipo denominado desecador al punto crítico. Las muestras se colocan en cápsulas microporosas embebidas en etanol o acetona, cuidando que no se desequen e incorporando etiquetas de papel bond escritas a lápiz para identificarlas. Las muestras de esporas y polen frecuentemente tienen un tamaño tal, que pueden pasar a través de los poros de la cápsula, por lo que para resolver esta eventualidad, se recubren internamente con papel Wattman No. 42 o 44. El procedimiento consiste en hacer dos confetis de papel Wattman con sacabocados, uno del tamaño del diámetro de las cápsulas microporosas y otro ligeramente mayor para colocar la muestra como en emparedado y evitar que el material se salga durante el proceso.

La desecación consiste en sustituir el etanol o acetona por CO<sub>2</sub> líquido, llevar el CO<sub>2</sub> al punto crítico, en el cual se transforma en gas, sometiéndolo a una temperatura de 36.1°C y una presión de 1070 lb/pg<sub>2</sub>, el disolvente de transición puede ser también el freón. Para que el CO<sub>2</sub> se mantenga líquido y sustituya al etanol o a la acetona, es necesario enfriar la cámara en donde se encuentran las muestras, controlando la presión. Una vez eliminado el etanol, se induce la desecación al punto crítico llevando el CO<sub>2</sub> a la temperatura crítica para transformarlo de la fase líquida a la gaseosa. El CO<sub>2</sub> es eliminado muy lentamente y sustituido por aire. Una vez que la cámara en donde están las muestras alcanza una presión normal, las muestras se retiran para ser recubiertas lo más pronto posible con carbón y oro. Eventualmente se conservan en las cápsulas microporosas y dentro de un

deseCADOR que contenga sílica gel.

#### **E. Montaje y recubrimiento con carbón y oro**

Una vez desecadas, las muestras se montan en soportes de aluminio, específicos compatibles con la evaporadora de carbono y oro y con el microscopio de barrido (no olvidar marcarlos para su identificación). Para pegar las muestras, se usa plata coloidal o cinta de carbón.

Colocar una capa de carbón y otra de oro sobre la muestra, que permitan la conducción y la recuperación de electrones secundarios, retrodispersados y otras emisiones, cuando las muestras son sometidas al flujo de electrones en el microscopio de barrido. El recubrimiento se hace al vacío con la participación del argón. Las muestras recubiertas se mantienen en un ambiente seco colocándolas en un desecador de vidrio. Las muestras así procesadas estarán listas para ser observadas en el microscopio electrónico de barrido.

## 10. Índice de Figuras

- Figura 1. Tipos de inflorescencias, con respecto a su forma y tamaño a) Capítulos globosos; b) Espigas cortas; c) Pseudoracimo de espigas; d) Capítulos globosos a subglobosos; e) Capítulos globosos. \_\_\_\_\_ 28
- Figura 2. Producción de flores por inflorescencia entre los taxa; letras diferentes indican diferencias significativas (Tukey). \_\_\_\_\_ 29
- Figura 3. Tamaño de la bráctea floral (longitud y anchura) entre los taxa; las letras diferentes señalan diferencias significativas. Mayúsculas señalan la anchura de la bráctea (Tukey). Minúsculas señalan el largo de la bráctea (Kruskal-Wallis). \_\_\_\_\_ 31
- Figura 4. Fotomicrografías en ML de las flores de Mimosa. a. Flores de *M. camporum*; b. Acercamiento de los estambres, estilo y estigma de *M. camporum*; c. Flores y brácteas de *M. benthamii* var. *benthamii*; d. Acercamiento de los filamentos y las anteras, estilo y estigma de *M. benthamii* var. *benthamii*; e. Flor y bráctea de *M. luisana*. (b=bráctea, co=corola, o=ovario, e=estilo, s=estigma st=estambres, f=filamento, a=antera, c= conectivo, t=teca). \_\_\_\_\_ 33
- Figura 5. Fotomicrografías en ML de las flores de Mimosa. a. Flores de *M. pigra* var. *pigra*; b. acercamiento de las anteras, estilo y estigma de *M. pigra* var. *pigra*; c. Flor de *M. quadrivalvis* var. *quadrivalvis*; d. acercamiento de las anteras, estilo y estigma de *M. quadrivalvis* var. *quadrivalvis*. (b=bráctea, k=cáliz, co=corola, o=ovario, e=estilo, s=estigma st=estambres, a=antera, c= conectivo, t=teca). \_\_\_\_\_ 34
- Figura 6. Longitud del cáliz y de la corola éntre los taxa, las letras diferentes señalan diferencias significativas, mayúsculas señalan la longitud del cáliz; minúsculas señalan la longitud de la corola (Tukey). \_\_\_\_\_ 36
- Figura 7. Longitud de los estambres y del gineceo; las letras diferentes señalan diferencias significativas, mayúsculas señalan la longitud de los estambres medianos; minúsculas señalan la longitud de los estambres largos; letras griegas señalan la longitud del gineceo (Tukey). \_\_\_\_\_ 38
- Figura 8. Producción de políades por antera y de granos de polen individuales por antera. Letras diferentes señalan diferencias significativas entre los taxa; minúsculas indican producción de políades por antera (Tukey), y mayúsculas, producción de granos de polen individuales por antera (Tukey). \_\_\_\_\_ 42

<i>Figura 9. Producción de políades por inflorescencia. Las letras diferentes señalan diferencias significativas entre los taxa (Tukey).</i>	43
<i>Figura 10. Viabilidad de los granos de polen con Acetocarmín. Letras diferentes señalan diferencias significativas (Tukey).</i>	45
<i>Figura 11. Viabilidad de los granos de polen según tinción con Lugol. Letras diferentes indican diferencias significativas (Tukey).</i>	46
<i>Figura 12. Viabilidad de los granos de polen de M. luisana observada con diferentes tratamientos. Tinción con Acetocarmín (a, b); Tinción con Lugol (c, d), Tinción con Azul de Algodón (e, f). Nótese que en c y e se observan algunos granos de polen sin contenido celular, estos son considerados como no viables.</i>	48
<i>Figura 13. Fotomicrografías en MEB de la vista superficial de los gineceos de los taxa estudiados. a. Gineceo de M. camporum: ovario sésil, hispido, estilo largo y angosto; b. Gineceo cortamente estipitado, ovario tomentoso, estilo largo y angosto M. benthamii var. benthamii; c. Gineceo estipitado, ovario seríceo, estilo largo y angosto M. luisana; d. Gineceo estipitado, ovario hispido estilo corto y angosto de M. pigra var. pigra; e. Gineceo no estipitado, ovario glabro, estilo largo y angosto de M. quadrivalvis var. quadrivalvis.</i>	52
<i>Figura 14. Fotomicrografías al MEB del ovario en vista superficial y en corte longitudinal. a, b. M. camporum; c, d. M. benthamii var. benthamii; e, f. M. luisana; g, h. M. pigra var. pigra; i, j. M. quadrivalvis var. quadrivalvis.</i>	54
<i>Figura 15. Fotomicrografías en ML del ovario en sección longitudinal. a. M. camporum; b. M. benthamii var. benthamii; c. M. luisana; d. M. pigra var. pigra; e. M. quadrivalvis var. quadrivalvis; f. Detalle de la sección longitudinal del ovario de M. quadrivalvis. T= tricomas E= epidermis, TP= tejido parenquimatoso, V= células con engrosamiento heliocoidal, TT= tejido de transmisión, L= lóculo, PO=pared del ovario, Ob= obturador, O=óvulo, TI= tegumento interno, TE= tegumento externo, N= nucela, C= cálaza, F= funículo.</i>	55
<i>Figura 16. Fotomicrografías de las secciones longitudinales de los óvulos de los taxa estudiados. a. M. camporum; b. M. benthamii var. benthamii; c. M. luisana; d. M. pigra var. pigra; e. M. quadrivalvis var. quadrivalvis. F= funículo, C= cálaza, N= nucela, TI= tegumento interno, TE= tegumento externo, M= micrópilo, Ob= obturador, SE= saco embrionario.</i>	56
<i>Figura 17. Fotomicrografías al MEB del estilo en vista superficial y en sección transversal.</i>	58

Figura 18. Fotomicrografías de microscopía de campo claro de las secciones transversales y longitudinales del estilo de los taxa estudiados. a, b. *M. camporum*; c, d. *M. benthamii* var. *benthamii*; e, f. *M. luisana*; g, h. *M. pigra* var. *pigra*; i, j. *M. quadrivalvis* var. *quadrivalvis*. E= epidermis, TP=tejido parenquimatoso, V= elementos de vaso con engrosamiento helicoidal, TT=tejido de transmisión. \_\_\_\_\_ 59

Figura 19. Fotomicrografías en MEB, en vista lateral y apical del estigma. a, b. estigma oblicuamente crateriforme de *M. camporum*; c, d. estigma poriforme de *M. benthamii* var. *benthamii*; e, f. estigma poriforme de *M. luisana*; g, h. estigma tubular de *M. pigra* var. *pigra*; i, j. estigma cupuliforme de *M. quadrivalvis* var. *quadrivalvis*. \_\_\_\_\_ 62

Figura 20. Fotomicrografías en microscopía de campo claro de las secciones longitudinales del estigma. a. estigma oblicuamente crateriforme de *M. camporum*; b. estigma poriforme de *M. benthamii* var. *benthamii*; c. estigma poriforme de *M. luisana*; d. estigma tubular de *M. pigra* var. *pigra*; e. estigma cupuliforme de *M. quadrivalvis* var. *quadrivalvis*. AE= área estigmática, CE= cámara estigmática, E= epidermis, TT= tejido de transmisión. \_\_\_\_\_ 63

Figura 21. Fotomicrografías en MEB de los granos de polen de los taxa estudiados. (a, b) *M. camporum*, a. Vista polar de una tétrade cruzada esférica; (c, d) *M. benthamii* var. *benthamii*, c. vista ecuatorial de una bitétrade elipsoidal rotada; (e, f) *M. luisana*, e. vista ecuatorial de una bitétrade elipsoidal rotada; (g, h) *M. pigra* var. *pigra*, g. Vista ecuatorial de una tétrade elipsoidal aplanada; (i, j) *M. quadrivalvis* var. *quadrivalvis*, i. Vista polar de una tétrade esférica aplanada; (b, d, f, h, j) Detalle de la ornamentación microverrugada y de los poros. \_\_\_\_\_ 67

Figura 22. Fotomicrografías de campo claro de la vista ecuatorial de las asociaciones del polen de los taxa estudiados. a. tétrade cruzada esférica de *M. camporum*; b. bitétrade elipsoidal rotada de *M. benthamii* var. *benthamii*; c. bitétrade elipsoidal rotada de *M. luisana*; d. tétrade elipsoidal aplanada de *M. pigra* var. *pigra*; e. tétrade esférica aplanada de *M. quadrivalvis* var. *quadrivalvis* \_\_\_\_\_ 68

Figura 23. Diámetro mayor y menor de las políades de los taxa estudiados. Letras mayúsculas señalan el diámetro mayor, letras diferentes indican diferencias significativas; letras minúsculas señalan el diámetro menor, letras diferentes indican diferencias significativas (Kruskal-Wallis). \_\_\_\_\_ 70

Figura 24. Longitud del eje polar y ecuatorial de las mónades de los taxa estudiados. Letras mayúsculas señalan la longitud del eje polar, letras diferentes indican diferencias significativas; letras minúsculas señalan la longitud del eje ecuatorial de las mónades, letras diferentes indican diferencias significativas (Kruskal-Wallis). \_\_\_\_\_ 71

Figura 25. Vista lateral en sección longitudinal de los estigmas de Mimosa. a. *M. camporum*; b. *M. benthamii* var. *benthamii*; c. *M. luisana*; d. *M. pigra* var. *pigra*; e. *M. quadrivalvis* var. *quadrivalvis*. CE= cámara estigmática; D= diámetro de la abertura del estigma; P= profundidad de la cámara estigmática. \_\_\_\_\_ 72

Figura 26. Fotomicrografías en MEB, del estigma oblicuamente crateriforme de *M. camporum*. a. Vista lateral del estigma con varias tétrades en la superficie; b. Vista lateral del estigma con un gran número de tétrades en su superficie; c. Detalle de dos tétrades con desarrollo de tubos polínicos; d. Vista de la superficie cóncava del estigma, con varias tétrades; e. Fotomicrografía en ML del corte longitudinal del estigma de *M. camporum*. P= polen, AE= área estigmática, TT= tejido de transmisión, E= epidermis. \_\_\_\_\_ 74

Figura 27. Fotomicrografías en MEB, del estigma poriforme de *M. benthamii* var. *benthamii*. a. Vista apical del estigma no receptivo; b. Vista lateral del estigma con una bitétrade dentro de la cavidad con el eje mayor paralelo al eje longitudinal del estigma c. Vista apical del estigma con una bitétrade en su interior. . d. Fotomicrografía en ML del corte longitudinal del estigma de *M. benthamii* var. *benthamii*. P= polen, CE= cámara estigmática, TT= tejido de transmisión, E= epidermis. \_\_\_\_\_ 76

Figura 28. Fotomicrografías en MEB, del estigma poriforme de *M. luisana*. a. Vista apical del estigma con dos bitétrades dentro; b. Vista lateral del estigma con dos bitétrades dentro, orientadas con el diámetro menor paralelo al eje longitudinal del estigma; c. Vista lateral del estigma; d. Fotomicrografía en ML del corte longitudinal del estigma de *M. luisana*. P= polen, CE= cámara estigmática, TP= tubo polínico, TT= tejido de transmisión, E= epidermis. \_\_\_\_\_ 78

Figura 29. Fotomicrografías en MEB, del estigma tubular de *M. pigra* var. *pigra* a. Vista apical del estigma; b. Vista apical del estigma con una tétrade dentro, con el diámetro menor paralelo del eje longitudinal del estigma; c. Vista apical del estigma con tres tétrades en su interior en distintas orientaciones con respecto del eje longitudinal del estigma. d. Detalle del estigma con una tétrade que presenta desarrollo de tubo polínico. \_\_\_\_\_ 80

Figura 30. Fotomicrografías en MEB, del estigma cupuliforme de *M. quadrivalvis* var. *quadrivalvis* a. Vista apical del estigma con cámara estigmática; b. Vista apical del estigma con una tétrade en su interior. c. Vista lateral del estigma en corte longitudinal con una tétrade sobre del tejido de transmisión. d. Fotomicrografía en ML del corte longitudinal del estigma de *M. quadrivalvis* var. *quadrivalvis*. P= polen, CE= cámara estigmática, TT= tejido de transmisión, E= epidermis. e. \_\_\_\_\_ 82

*Figura 31. Producción de frutos por inflorescencia. Letras diferentes señalan diferencias significativas (Tukey). \_\_\_\_\_ 83*

*Figura 32. Producción de semillas por individuo. Letras diferentes denotan diferencias significativas (Tukey). \_\_\_\_\_ 85*