



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA
DE MÉXICO

FACULTAD DE CIENCIAS

Biología reproductiva de *Solanum tridynamum*
Dunal (Solanaceae)

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

BIÓLOGA

P R E S E N T A :

ALIN GARCÍA MIRANDA

DIRECTORA DE TESIS:
DRA. SONIA VÁZQUEZ SANTANA



Ciudad Universitaria, CD. MX., 2016



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

1. Datos del alumno

García
Miranda
Alin
04455-1496-2538
Facultad de Ciencias
Biología
304312504

2. Datos del tutor

Dra.
Sonia
Vázquez
Santana

3. Datos del sinodal 1.

Dra.
Martha Juana
Martínez
Gordillo

4. Datos del sinodal 2.

Dr.
Alfonso Octavio
Delgado
Salinas

5. Datos del sinodal 3.

Dr.
Javier Andrés
Juárez
Díaz

6. Datos del sinodal 4.

Dra.
Concepción
Martínez
Peralta

7. Datos del trabajo escrito

Biología reproductiva de *Solanum tridynamum* Dunal (Solanaceae)
65 p.
2016

“Quisieron enterrarnos, pero no sabían que éramos semilla”

-Edson Lechuga-

Por los compañeros caídos, que nuestra voz haga eco en las calles.

Aun nos faltan 43

Dedicatorias

A mis padres

Pedro y Adela: por el apoyo incondicional y la segunda oportunidad. A ti mami por estar siempre presente y ser el eslabón que me llevó a donde estoy, la vida no me alcanzará para terminar de agradecerte.

A mis abuelos

Inés y Esteban: por su paciencia, consejos, amor y cuidado que siempre mostraron hacia mí. Abuelita Inés gracias por la comida de todos estos años. A mi abue Gunda y Meño por sus consejos que siempre llevo presentes aunque ya no estén. Los extraño tanto.

A mis hermanos

Bolívar, por ser mi ejemplo en el día a día y por estar siempre a mi lado. Andrea, por darme fortaleza cuando la necesito eres mi gran guerrera. Onix por compartir momentos de calidez y por tus consejos.

A todos mis tíos

Pero en especial a mi tío Richard, Jorge García, Dulce, Mario, Jorge Miranda, Catita, Fran y Domingo por haber mostrado gran interés en mi formación profesional y apoyarme a lo largo de mi carrera. Fueron pieza clave en el cumplimiento de esta meta.

A todos mis primos

Pero sobre todo a mis guaruras Oziel, Gaby, Uriel, Oliver, Lobsang, Dianolis y Noyo por su apoyo emocional y el bullying que me llevó a no desertar por unos totis y un boli. A Edson por haberme ayudado a obtener mi super libro de plantas, es el mejor de mis regalos.

A mis amigos

Adrix, Karen, Mayte, Eli, Ate, Mario y Grinch por su apoyo e inyección de ánimos durante este proceso. Tito, Pipo, Hugo y Mitzi: lo logré amigos. Charly y Mariela por estar siempre ahí para mis desahogos. Jazhiel, Axel, Fer, Gerry y Emilio con quienes disfrute plantitas 1 y 2, prácticas de campo y compartí gran parte de las mil horas libres en la facultad. Jamás disfrute tanto identificar plantas como con ustedes: Rosaceae FOREVER.

A los sonyboys

Alde, Sandy, Nanis y Ros por sus consejos, paciencia y enseñanzas; Alberto, Faty y Pactli por compartir a Soni, bueno menos Alberto, siempre fuiste tan... buena persona. A todos gracias por las risas de lavadero, mi estancia en el lab no pudo ser más amena.

Agradecimientos

- A la Universidad Nacional Autónoma de México y la Facultad de Ciencias por haberme brindado su cobijo y dejar en mí una de las mejores experiencias de mi vida, gracias por la enseñanza con valores y las recompensas recibidas. Mi querida segunda casa te llevo en el corazón. Por mi raza hablara el espíritu.
- Al Laboratorio de Desarrollo en Plantas de la Facultad de Ciencias, por haber brindado las herramientas necesarias para terminar este trabajo realizado dentro del taller titulado “Biología de la reproducción, propagación y fisiología de angiospermas que crecen en ambientes contrastantes”, impartido por las profesoras Dra. Guadalupe Judith Márquez Guzmán, Dra. Margarita Collazo Ortega, Dra. Sonia Vázquez Santana, Dra. Karina Jiménez Durán, Dra. Ana Laura López Escamilla y la Biol. Ana Patricia Olguín Santos.
- A la Dra. Sonia por haber sido mi guía y asesora, por la atención, las facilidades y los medios que me brindó para lograr llevar a cabo este trabajo y por su paciencia.
- A mis asesores por sus sugerencias y correcciones que dieron una mayor calidad a este trabajo.
- A la Dra. Margarita Collazo Ortega por las revisiones realizadas a mi trabajo durante los 4 niveles de taller.
- A mis compañero de campo Aldebaran Camacho, Rocio Hernández, Sandra Carrasco, Nadia Castro, Alberto Carrasco, Pactli Ortega, Fátima Barrón y Karen Noriega por su apoyo en las colectas de material, la realización de polinizaciones y sugerencias aportadas para mejorar este trabajo.
- Al laboratorio de Microscopía Electrónica de Barrido de la Facultad de Ciencias a cargo de la Dra. Silvia Espinosa Matías, quien se encargó del proceso de material y la toma de fotografías al MEB.
- Al señor Maurino Reyes por haber sido guía en campo y brindar las facilidades para trabajar en los ejidos de Zapotitlan Salinas.
- Al M. en C. Aldebaran Camacho por su asesoría en los análisis estadísticos.
- A la Biol. Sandra Carrasco por resolver mis dudas, aportar sugerencias y brindarme información para enriquecer este trabajo.
- A la Biol. Nadia Castro por su asesoría en la toma de fotografía de fluorescencia y su apoyo en los trámites de titulación.
- Al Arq. Bolivar E. García Miranda por el diseño de esquemas y fotografías.

Índice

I.	Resumen	1
II.	Introducción	2
III.	Antecedentes	4
	Sistemas sexuales.....	4
	Heteranteria.....	8
	Andromonoicismo.....	10
	El género <i>Solanum</i>	14
IV.	Justificación	20
V.	Objetivos	21
VI.	Materiales y métodos	22
	Sistema de estudio.....	22
	Biología floral, receptividad del estigma y viabilidad de los granos de polen.....	22
	Determinación del sistema de cruza.....	24
	Determinación del sistema de apareamiento: proporción Polen/Óvulos.....	26
	Visitantes florales.....	27
VII.	Resultados	28
	Morfología floral.....	28
	Receptividad del estigma, viabilidad y morfología del grano de polen.....	33
	Sistema de cruza.....	38
	Sistema de apareamiento.....	41
	Visitantes florales.....	43
VIII.	Discusión	46
	Biología floral.....	46
	Andromonoecia.....	48
	Receptividad del estigma.....	49
	Heteranteria, morfología y viabilidad de los granos de polen.....	49
	Sistema de cruza y sistema de apareamiento.....	50
	Visitantes florales.....	53
IX.	Conclusiones	57
X.	Bibliografía	58

I. RESUMEN

Solanum tridynamum es una especie endémica de México poco estudiada. En la información acerca de la especie, la describen con un sistema sexual andromonoico y heterantérica. En este estudio se realizó una investigación sobre la misma con la finalidad de esclarecer su sistema sexual, la funcionalidad de los diversos tipos de anteras y sus estrategias sexuales. Se realizó la descripción de los morfos florales, la receptividad del estigma y mediante polinizaciones controladas se evaluó la funcionalidad del gineceo y la viabilidad de los granos de polen. Se encontró que la especie es funcionalmente andromonoica y heterantérica. Los granos de polen de ambas anteras forman gametos viables, capaces de efectuar la fecundación y formar semillas. Es una especie autocompatible con sistema de cruce mixto y sistema de apareamiento xenógamo facultativo. A pesar de ser autocompatible, no se registró la autofecundación natural, por lo que requiere de las abejas como polinizadoras quienes debido al movimiento vibratorio de sus alas provocan que el polen salga de las anteras y sea transportado a los estigmas de otras flores o de la misma. Su sistema de cruce le otorga la ventaja de la recombinación genética, que mantiene una mayor variabilidad útil ante los diversos cambios ambientales y ecológicos; además, ante la presencia de su polinizador efectivo (la abeja), forma frutos por autopolinización obteniendo las ventajas del genotipo parental que se adapta fácilmente a las condiciones ecológicas prevalecientes.

II. INTRODUCCIÓN

La flor es por excelencia la estructura especializada en la reproducción sexual, que permite la interacción de la planta con animales polinizadores mediante la forma, la fenología y la fisiología de los órganos reproductivos. Dicha relación es sometida a presiones selectivas que pueden afectar la polinización o incrementar los beneficios para la planta, reflejándose en la cantidad y en la calidad de la descendencia que se produce (Eguiarte *et al.*, 1992; Ángel *et al.*, 2011).

En este sentido, conocer la biología floral y reproductiva de las especies permite entender los hábitos de polinización, los aspectos morfológicos que participan determinadamente en la adecuación y que repercuten en la efectividad de la transferencia de polen y el tipo de polinizador que se atrae, es decir, permite conocer el papel de los factores que afectan positivamente la producción de semillas (Wyatt, 1983; Eguiarte *et al.*, 1992; Strauss, 1996; Endress, 1999).

La expresión o distribución del sexo (morfo floral) en la planta, a nivel de flor, individuo, población o especie, es otro factor determinante en la reproducción sexual, ya que los sistemas de cruce y de apareamiento están dictados por la distribución de los sexos que presentan las angiospermas (Anderson y Symon, 1989; Vallejo y Rausher 2007; Orozco y Vázquez, 2013), y que la selección natural mantendrá si su estrategia reproductiva es eficaz (Eguiarte *et al.*, 1992). En este sentido, el sistema reproductivo no es una propiedad estática de los individuos, poblaciones o especies, los patrones de apareamiento son dinámicos y están sujetos a modificaciones por muchas fuerzas, que operan tanto ecológica como

evolutivamente y representan un continuo de posibilidades, más que de formas estrictas (Ornduff, 1969; Cruden, 1976; Bawa y Beach, 1981; Eguiarte *et al.*, 1992; Barrett, 2002b).

Solanum tridynamum Dunal (Solanaceae) es una especie que se menciona como andromonoica, condición que se caracteriza por la presencia de individuos que producen flores masculinas o estaminadas (y por tanto incapaces de producir semillas) y flores perfectas (hermafroditas) (Nee, 1993; Podolsky, 1993; Vallejo y Rausher, 2007; Wetzstein *et al.*, 2011). Además, esta especie presenta heteranteria, la cual se define como la producción de dos tipos de estambres en una misma flor que difieren en posición, en tamaño, en función, en color y/o en longitud (Eguiarte *et al.*, 1992; Endress, 1999).

Se considera que la heteranteria está estrechamente relacionada con el andromonoicismo y que, en conjunto, ambos favorecen la polinización cruzada, evitando las consecuencias de la autofecundación, principalmente los efectos de la depresión por endogamia y la baja adecuación (Barret, 2002a; Vallejo *et al.*, 2009).

Debido a lo anterior, el presente trabajo pretende profundizar y ampliar el conocimiento de la biología reproductiva de *S. tridynamum*, caracterizando el sistema de cruce y el sistema de apareamiento para analizar y comprender la función del andromonoicismo y de la heteranteria en su reproducción.

III. ANTECEDENTES

Sistemas sexuales

Las angiospermas representan al grupo más diverso en cuanto a formas de vida y estructuras reproductivas, en consecuencia los sistemas de reproducción sexual son muy complejos (Bawa y Beach, 1982; Barret, 2002b; Orozco y Vázquez, 2013). La manera en la cual los órganos sexuales (androceo y gineceo) se posicionan, morfológica, funcional, espacial y algunas veces temporalmente, en los individuos de una población, determinan el sistema de cruce y el sistema de apareamiento (Mandujano *et al.*, 1996; Barrett, 2002b; Bawa y Beach, 1981).

El sistema de cruce se refiere a cómo y con quién se unen los gametos de una determinada especie (Mandujano *et al.*, 1996; Orozco y Vázquez, 2013) e incluye todos los aspectos de la expresión del sexo en una población. Los sistemas de cruce determinan las características genéticas de la descendencia, la cual está bajo selección durante las generaciones subsecuentes (Charlesworth y Charlesworth, 1987; Endress, 1999; Barrett, 2002b; Barrett, 2003).

Tradicionalmente se reconocen dos tipos de sistemas de cruce: (1) el entrecruzamiento o polinización cruzada, donde los gametos de individuos distintos se unen para formar un cigoto; y (2) la autocruza, la autogamia o autofecundación, cuando los gametos del mismo individuo se unen para originar un cigoto (Bawa y Beach, 1981). Se sugiere la existencia de un tercer sistema, denominado mixto, en donde los dos sistemas anteriores intervienen en la reproducción de los individuos de la población (Wyatt, 1983). En la última década,



se ha reconocido ampliamente el sistema mixto por autores que estudian los sistemas de cruce (Barrett, 2003; Ángel *et al.*, 2011; Anderson *et al.*, 2014). La permanencia y la evolución de los sistemas de cruce está determinada por diversos factores, entre los que se encuentran la recompensa ofrecida por la planta (polen y/o néctar, entre otros), el tamaño de las flores, y la separación espacial y/o temporal de los órganos sexuales (hercogamia y dicogamia) características estrechamente relacionadas con el sistema de apareamiento (Bawa y Beach, 1981; Mandujano *et al.*, 1996; Barrett, 2002b).

La forma directa para conocer el sistema de cruce es realizando experimentos de polinizaciones controladas, los cuales simulan las diferentes opciones de transferencia de polen entre flores: control (polinización natural o abierta), autocruza automática o natural, autocruza manual, geitonogamia, entrecruza natural, entrecruza manual y apomixis (Dafni, 1992; Kearns e Inouye, 1993; Mandujano *et al.*, 1996). Los resultados de estos experimentos (i.e. la producción de frutos y semillas) permiten determinar el éxito relativo de la autocruza y de la entrecruza, además de que aportan información sobre la eficiencia de los polinizadores (Dafni, 1992; Mandujano *et al.*, 1996).

El sistema de apareamiento se refiere al acomodo en tiempo y espacio de las estructuras sexuales y se relaciona estrechamente con la producción de gametos masculinos (polen) y femenino (óvulos) (Osborn *et al.*, 1988; Mandujano *et al.*, 1996; Orozco y Vázquez, 2013). Por ejemplo, la separación espacial de los órganos sexuales (hercogamia) reduce la deposición de polen propio en la misma flor (interferencia sexual), permitiendo que el polen externo se deposite en mayor



superficie del estigma por agentes polinizadores, lo cual favorece la formación de semillas por entrecruza (Bawa y Beach, 1981; Barrett, 2003). Del mismo modo, la separación temporal de la función sexual (dicogamia) aumenta la probabilidad de la entrecruza (Barrett *et al.*, 2000). Otro ejemplo es la separación de los sexos en individuos diferentes, tal como sucede en las especies dioicas (población formada por individuos masculinos y femeninos), ya que las plantas que generan sólo flores con función masculina se ven obligadas a generar mayor cantidad de recompensa (polen) y a maximizar el mecanismos de atracción hacia los polinizadores, para favorecer el transporte y la deposición del polen en individuos con función femenina (Harder y Barclay, 1994; Miller y Diggle, 2007). El índice de entrecruza (OIC) y la relación polen/óvulo (P/O) (Cruden, 1977), pueden utilizarse como medio para determinar el sistema de apareamiento. El OIC se refiere a caracteres reproductivos que determinan los patrones de cruza y, particularmente la relación P/O refleja la probabilidad de que suficientes granos de polen que llegan a cada estigma resulten en un máximo de semillas (*seed set*). Cuanto más eficiente es la transferencia de polen, más baja debería ser la proporción P/O. De acuerdo con lo anterior, se definen cinco sistemas de apareamiento en las plantas (Cruden *et al.*, 1983): (a) cleistógamo, en donde los individuos efectúan autocruza en ausencia de antesis floral; (b) xenógamo obligado, en donde las especies protándricas llevan a cabo entrecruza por ser autoincompatibles, por lo que necesitan granos de polen de flores de individuos distintos (con genotipo diferente) para la formación de semillas; (c) xenógamo facultativo, en donde las especies homógamas o protógamas regulan la autocompatibilidad, ya que algunas especies tienden a



autopolinizarse hasta que se han agotado las posibilidades de entrecruza. Muchas de las especies que utilizan este sistema requieren de diversos polinizadores para lograr su éxito reproductivo; (d) autógamo facultativo, en donde las especies tienden prioritariamente a la autopolinización, y (e) autógamo obligado, en donde la polinización de una flor se lleva a cabo sólo con su propio polen.

Existen dos tipos de autogamia: (a) la directa, en la que no intervienen elementos externos para que el polen llegue al estigma; y (b) la indirecta, en donde las flores necesitan de vectores que propicien que el polen de ellas mismas llegue a sus estigmas. La oportunidad de entrecruzamiento en cualquiera de los dos tipos es nula (Bawa y Beach, 1981; Cruden *et al.* 1983).

Según la visión darwiniana hay una tendencia que permite la permanencia de las características que promueven la entrecruza, ya que provee ventajas hereditarias sobre la autocruza; sin embargo, la existencia de numerosas especies con autocruza, indica que ésta es ventajosa bajo ciertas condiciones, por ejemplo, si los polinizadores no son eficientes o si la densidad de plantas es baja (Bowers, 1975; Kearns e Inouye, 1993).

De acuerdo con los índices establecidos por Cruden (1977), existe un cambio evolutivo de xenogamia (polinización cruzada) a autogamia (autofecundación), mediado por la disminución del número o tamaño de las flores y otras alteraciones en la morfología floral, que reducen los costos por flor y facilitan la autopolinización (Ornduff, 1969). En este proceso, el número de óvulos por ovario no disminuye, pero sí la proporción de granos de polen por óvulo



(Dupont y Mogens, 2006). Generalmente, se observa que en los taxa autógamos y autocompatibles, la relación P/O también se correlaciona con las condiciones ecológicas del hábitat y el estado de sucesión, puesto que las especies de un estado de sucesión temprana suelen ser autocompatibles y las de sucesión tardía xenógamas (Cruden, 1977; Eguiarte *et al.*, 1992).

Existen numerosos estudios que demuestran que en la descendencia producida por autopolinización se reduce la adecuación como consecuencia de un aumento en el grado de endogamia, en contraste, con la descendencia por polinización cruzada. Por tal motivo, se reconoce a la depresión endogámica como una de las principales fuerzas selectivas que dan forma a la evolución de las estrategias de entrecruzamiento en las plantas (Bawa y Beach, 1981; Barrett *et al.*, 2000; Barrett, 2002a; Miller y Diggle, 2007). Además de la composición genética de la especie, la ausencia o ineficiencia de los polinizadores también participa de manera importante en el éxito reproductivo de las especies vegetales (Bawa y Beach, 1981; Mandujano *et al.*, 1996).

Heteranteria

Se considera a la heteranteria como una estrategia que favorece la polinización cruzada y tiene un papel fundamental en la atracción de los polinizadores. Se define como la producción de dos o tres tipos de estambres en una misma flor, los cuales difieren en posición, en tamaño, en función, en color y/o en longitud (Endress, 1999; Vallejo *et al.*, 2010). Dicha condición ha evolucionado en más de 20 familias (Eguiarte *et al.*, 1992) y se observó desde los tiempos de

Darwin, siendo él mismo quien planteó una hipótesis de *división de labores* para explicar la presencia de dos tipos de anteras en una misma flor, planteando que un tipo de anteras (anteras para alimentación) satisface la demanda de polen exigida por los polinizadores, mientras que el otro tipo de anteras (anteras para polinización) satisface la necesidad de las plantas de transportar, de proteger y de difundir sus gametos masculinos, haciendo más eficiente la dispersión del polen (Podolsky, 1993; Luo *et al.*, 2008; Anderson *et al.*, 2014). Esta división de labores reduciría los costos de la baja adecuación ocasionados por el consumo de polen por los polinizadores (Tang y Huang, 2007) y conducir a la evolución de polen estéril en los estambres que se especializan en la alimentación (Charlesworth y Charlesworth, 1987; Eguiarte *et al.*, 1992; Harder y Barclay, 1994; Luo *et al.*, 2008).

En las especies heterantéricas, las abejas se posan en las anteras más pequeñas para extraer el polen, mientras que las vibraciones del zumbido de las alas provoca la salida y la caída del polen de las anteras más grandes sobre el cuerpo de la abeja, de modo que durante el forrajeo, al llegar a otra planta o flor hermafrodita, es muy probable que ese polen que le queda sobre el cuerpo se deposite en el estigma cuando se posa sobre las anteras pequeñas (Buchmann y Cane, 1989; Harder y Barclay, 1994; Anderson y Connolly, 2003; Levin *et al.*, 2006). Vallejo *et al.* (2010) analizan 16 familias de Angiospermas con heteranteria, las cuales corresponden a 12 órdenes de angiospermas, tanto monocotiledóneas como eudicotiledóneas: Asparagales, Brassicales, Commelinales, Dilleniales, Ericales, Fabales, Lamiales, Malpighiales, Malvales, Myrtales, Sapindales y

Solanales, mencionan que la heteranteria ha tenido múltiples orígenes en las angiospermas y representa un ejemplo claro de convergencia floral; también mencionan que es casi una generalidad que presenten anteras poricidas (excepto para Anacardiaceae y Brassicaceae) y carezcan de néctar (excepto Commelinaceae, Dilleniaceae y Malpighiaceae).

En estudios sobre la polinización en *Solanum*, se ha determinado que la dispersión del polen se lleva a cabo por abejas (Knapp *et al.*, 1998; Anderson y Connolly, 2003; Anderson *et al.*, 2014), lo cual incluye a *S. stramonifolium* (Bezerra y Machado, 2003).

Andromonoicismo

En las plantas, la sexualidad puede describirse a nivel de flor, de individuos, de poblaciones o de especie y determina el género de cada individuo (masculino, femenino, hermafrodita o polígamo) (Orozco y Vázquez, 2013) de manera que, se pueden encontrar individuos hermafroditas (sistema reproductivo predominante), femeninos, masculinos, monoicos, ginomonoicos, andromonoicos y hasta trimonoicos (Fig. 1).

El andromonoicismo es una expresión sexual que se manifiesta en aproximadamente el 2% de las angiospermas, siendo común en especies polinizadas por animales o por el viento (Bawa y Beach 1981; Bertin, 1982; Anderson y Symon, 1989; Podolsky, 1993). El andromonoicismo se ha mantenido y aumenta en número conforme se estudian nuevas especies (Miller y Diggle, 2007).



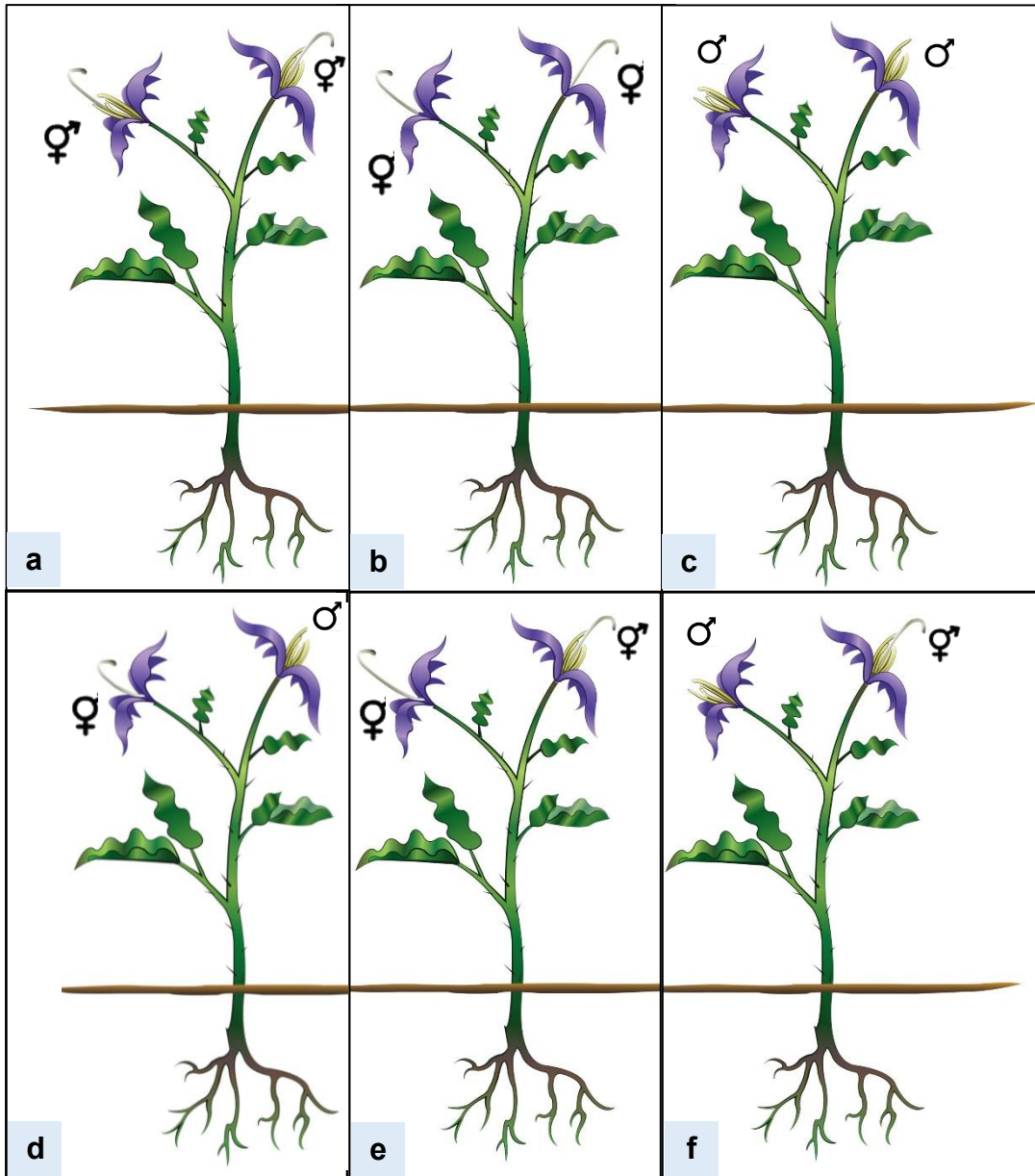


Figura 1. Sistemas sexuales a nivel individuo en las angiospermas. Hermafrodita (a), femenino (b), masculino (c), monoico (d), ginomonoico (e) y andromonoico (f). (Esquema elaborado por Bolívar E. García Miranda).

Existen dos hipótesis sobre la permanencia de esta distribución sexual. La primera explica que algunas de las flores hermafroditas sobre un individuo tienden a degenerar los órganos femeninos por una reasignación de recursos (los que se

invierten posteriormente en la producción del fruto formados en flores hermafroditas del mismo individuo), medida que resulta ventajosa en condiciones ambientales limitantes (i.e. escasez de nutrientes o polinizadores, sequías prolongadas, etc.). Por ejemplo, *Solanum carolinense* produce mayor cantidad de flores masculinas cuando es sometida a periodos de estrés lumínico y escasez de nutrientes (Solomon, 1987).

La segunda se refiere a un aumento en la donación de polen, pues establece que las flores masculinas son mejores donadoras de polen que las flores perfectas, además de que producen granos de polen más grandes y son flores más atractivas para los polinizadores (Podolsky, 1993; Vallejo y Rausher, 2007; Wetzstein *et al.*, 2011). Bajo estas circunstancias, la teoría de *asignación sexual* predice que la asignación a las funciones femeninas o masculinas se incrementará en aquellas condiciones donde la función femenina o masculina tenga más probabilidad de éxito (Bateman, 1948; Bawa y Beach, 1981). Probar esta última hipótesis resulta difícil; sin embargo, experimentos con especies andromonoicas de *Solanum* a las cuales se les redujo el tamaño de las anteras respecto a la corola, o viceversa, han constatado que el tamaño de las anteras influye en la atracción de los polinizadores, y además que la presencia o ausencia de polen en las anteras tiene consecuencias evolutivas (Coleman y Coleman, 1982; Buchmann y Cane, 1989; Anderson *et al.*, 2014). De modo que si las anteras son un elemento atractivo esencial en las especies de *Solanum*, la morfología floral está obligada a conservar los órganos masculinos y reducir los gastos en el desarrollo de órganos femeninos. Por lo tanto, la asignación de



recursos para la producción de flores masculinas y femeninas no sería equivalente (Anderson y Symon, 1989; Charlesworth y Morgan 1991; Miller y Diggle 2007). Dado lo anterior y de acuerdo con los modelos de asignación de recursos, la andromonoecia se presenta en plantas donde el número óptimo de flores funcionalmente estaminadas es mayor que el número de flores que puede producir frutos y el costo de madurar un fruto es alto (Bertín, 1982; Sutherland y Delph, 1984; Anderson y Connolly, 2003; Miller y Diggle, 2007).

Se ha reportado que la andromonoecia es particularmente común entre los miembros del género *Solanum* subgénero *Leptostemonum*, y puede estar determinada por variaciones en los recursos a nivel del individuo, por cambios ambientales, o estar genéticamente establecida (Solomon, 1986; Charlesworth y Morgan, 1991; Diggle, 1994; Miller y Diggle 2007). Se sugiere que la ventaja de la andromonoecia se refleja en el incremento del número de flores masculinas y/o por la reducción de la proporción de flores que producen óvulos (Bertin, 1982; Anderson y Symon, 1989; Charlesworth y Morgan, 1991). Es posible que la reducción en el número de flores que producen semillas conduzca a un ahorro de energía, que podría invertirse en el mantenimiento vegetativo, en la reproducción o en la producción de más flores estaminadas (Solomon, 1986).

El género *Solanum*

La familia Solanaceae posee cerca de 90 géneros y más de 2,600 especies de distribución cosmopolita, pero centrada en la zona tropical (Nee, 1993). El género *Solanum* constituye gran parte de la diversidad dentro de la familia conteniendo de



1,500 a 2,000 especies agrupadas a su vez en subgéneros y secciones (Olmstead y Palmer, 1997; Levin *et al.*, 2006; Cuevas *et al.*, 2008).

En general, las flores de *Solanum* se reconocen fácilmente por su cáliz y su corola con unidades fusionadas, con forma estrellada, la simetría radial, estambres con filamentos cortos y anteras relativamente del mismo tamaño, con la misma cantidad de polen, presentan dehiscencia poricida apical y están adaptadas a la dispersión del polen mediante las vibraciones que genera el zumbido de las abejas (Buchmann y Cane, 1989; Harder y Barclay, 1994; King y Buchmann, 1996; Anderson y Connolly, 2003; Levin *et al.*, 2006). En cuanto a los sistemas sexuales, los más abundantes dentro de las poblaciones del género *Solanum* son el hermafroditismo, el androdioicismo, el dioicismo y, en menor cantidad el andromonoicismo (Anderson y Symon, 1989; Barrett *et al.*, 2000).

A pesar de la aparente afinidad floral, las especies de *Solanum* presentan una amplia diversidad en la forma, acomodo y distribución de las funciones sexuales, lo cual favorece la reproducción cruzada y la variabilidad genética dentro del género (Bawa y Beach, 1981; Coleman y Coleman, 1982; Buchmann y Cane, 1989; Barrett, 2003).

Dicha variabilidad radica principalmente en la disposición de las estructuras sexuales en las flores, generalmente los gametos masculinos y femeninos se producen simultáneamente, aumentando la oportunidad de autofecundación. Ante esto, una separación (temporal o espacial) de los órganos sexuales reduce la probabilidad de autopolinización y juega un papel importante como estrategia



reproductiva, influyendo en el tipo de cruza y, en consecuencia, en la adecuación de la planta (Wyatt, 1983; Charlesworth y Charlesworth, 1987; Charlesworth y Charlesworth, 1990; Barrett, 2002b; Barrett, 2003). En este sentido, la biología floral se enfoca en el estudio del funcionamiento de las flores para promover la polinización y el entrecruzamiento, además de describir los procesos ecológicos y fisiológicos que le otorgan a la flor una morfología particular, moldeada por las presiones de selección (Charlesworth y Morgan, 1991; Lloyd y Barrett, 1996).

Dentro del género *Solanum* las condiciones como la heteranteria y la andromonoecia son muy comunes en las especies ubicadas en el subgénero *Leptostemonum*, al cual pertenecen las especies espinosas (Coleman y Coleman, 1982; Olmstead y Palmer, 1997; Miller y Diggle, 2007; Vallejo *et al.*, 2010) caracterizadas por producir poco néctar o carecer de él y tener una producción extra de polen, utilizado tanto como recompensa para los polinizadores y para ser funcional en la fecundación, puesto que en otras especies como *S. tuberosum* y *S. muricatum* el polen producido es estéril o inaperturado y no forma semillas (Grigg *et al.*, 1988; Anderson y Symon, 1989; Levin *et al.*, 2006; Vallejo y Rausher, 2007).

Además de la heteranteria, se presentan otros mecanismos que influyen en la reproducción sexual; por ejemplo, en especies de importancia económica como *S. melongena* se reporta heterostilia (Miller y Diggle, 2007), condición en la que se presentan diferencias en la altura del estilo y de las anteras, lo cual evita la interferencia polen-estigma (Barrett, 2002a, 2003); mientras que la hercogamia, considerada una separación espacial en el cual los individuos de la población presentan el estilo (y a su vez el estigma) a una altura menor o mayor que la altura



alcanzada por las anteras, es registrada para *S. tuberosum* y *S. lycopersicum* (Coleman y Coleman, 1982; Dupont y Mogens, 2006).

Por otro lado, Vallejo y O'Brien (2006), reportan que 33 especies dentro del género presentan autoincompatibilidad, entre ellas se encuentran *S. tuberosum*, *S. carolinense*, *S. glaucophyllum*, *S. jasminoides*, *S. pinnatisectum* y *S. bulbucastanum*.

Solanum rostratum es un caso particular que se ha estudiado ampliamente y pertenece al subgénero *Leptostemonum* que, además de ser una especie heterantérica, presenta enantiofilia (pistilo desviado a la izquierda o derecha, es decir, flores con imagen especular) (Bawa y Beach 1981; Barrett, 2003; González, 2011). Bowers (1975) observó en su estudio que polinizadores tales como *Bombus impatiens* presentaron una tendencia a visitar flores con heteranteria y que correspondían a parches de *S. rostratum*. El comportamiento de este polinizador, lo relacionan con una reducción del tiempo y gasto de energía en el forrajeo para los polinizadores (Vallejo *et al.*, 2009). De modo que es posible que se haya dado un ajuste evolutivo en la disposición de los órganos sexuales, por los polinizadores, el cual permitió la evolución de la heteranteria (Luo *et al.*, 2008; Vallejo *et al.*, 2009; Vallejo *et al.*, 2010).

En *S. carolinense* y otras especies andromonoicas se ha observado que la principal función de las flores masculinas es la donación de polen, y en general, desde el punto de vista de los recursos, se producen flores masculinas en momentos de mucho estrés y bajos recursos, que no favorecen la formación del

fruto (Solomon, 1987). Probablemente las flores masculinas se producen en periodos en los que la planta puede ser incapaz de sostener la maduración de la semilla, pero el polen de las flores masculinas puede todavía germinar y llevar a cabo la fecundación de óvulos de flores hermafroditas de otros individuos (Anderson y Connolly, 2003; Anderson *et al.*, 2014).

Anderson y Symon (1989) estudiaron nueve especies dioicas de *Solanum* (*S. asymmetriphyllum*, *S. carduiforme*, *S. cataphractum*, *S. cunninghamii*, *S. dioicum*, *S. leopoldensis*, *S. petraeum*, *S. tudununggae* y *S. vansittartensis*), encontrando que el polen producido por las anteras de las flores femeninas es inaperturado y no germina al realizar polinizaciones, por lo que concluyen que funciona como recompensa, puesto que, tampoco producen néctar; más tarde esta condición se refuerza con las observaciones de quienes también señalan que las flores masculinas presentan pistilos reducidos que no completan su desarrollo, pero presentan óvulos (Knapp *et al.*, 1998).

Los factores ambientales influyen en la proporción y en la expresión del sexo de varias especies de *Solanum*, especialmente la temperatura y el estrés lumínico pueden suprimir la formación de enzimas que influyen en la expresión del sexo femenino, permitiendo que el sexo opuesto se exprese parcial o totalmente (Grigg *et al.*, 1988; Eguiarte *et al.*, 1992; Podolsky, 1993). Ligado a lo anterior, se anexa la observación general de que las plantas del mismo genotipo son capaces de expresar una impresionante plasticidad sexual, pues en los entornos naturales, algunas plantas silvestres pequeñas que viven en suelos muy secos, generan mayor cantidad de flores masculinas como un mecanismo de aseguramiento



reproductivo dada la alta disponibilidad de polen (Miller y Diggle, 2007), participando en la donación de polen a las flores hermafroditas (Barrett *et al.*, 2000). La alta producción de flores masculinas bajo condiciones específicas, está documentado en especies andromonoicas de *Solanum* (Solomon, 1986; Buchmann y Cane, 1989; Diggle, 1994; King y Buchmann, 1996).

A pesar de los diferentes mecanismos que presentan las flores, para evitar la autopolinización, dentro de *Solanum* existe un gran número de especies que cambian, desde un sistema de reproducción autoincompatible a otro autocompatible, ya que la autocompatibilidad les permite aumentar la uniformidad genética y, en consecuencia, aumentar su capacidad de colonización debido a que mantienen las características morfológicas y fisiológicas de los parentales que generalmente, ya están adaptadas al ambiente, sobre todo en poblaciones aisladas, en las que es escasa la presencia de agentes polinizadores (Dupont y Mogens, 2006; Anderson *et al.*, 2014). Sin embargo, esto puede limitar la capacidad de respuesta ante posibles cambios ambientales (Charlesworth y Charlesworth, 1990; Rupesh *et al.*, 2011).

Pese a las implicaciones de la autopolinización, se sugiere que es poco probable que los mecanismos florales que facilitan la autopolinización limiten las posibilidades de la polinización cruzada, de manera que la producción de semillas podrá ser resultado de la fecundación tanto de polen propio como de polen externo (Wyatt, 1983; Rupesh *et al.*, 2011). En el caso de *S. stramonifolium* y *S. carolinense*, algunas poblaciones presentan un sistema de cruce mixto, estable, que permite que las plantas puedan autopolinizarse cuando la producción de polen



externo es limitada para la formación de semillas por entrecruza o bien que exista un aumento en la tasa de entrecruza cuando hay limitación de polen propio (Bezerra y Machado, 2003; Rupesh *et al.*, 2011).

Solanum tridynamum es una especie endémica de México que se encuentra ampliamente distribuida en el país. Está ubicada dentro del subgénero *Leptostemonum*, el cual incluye a las especies heterantéricas, generalmente categorizadas como malezas con “espinas” (Olmstead y Palmer, 1997; Levin *et al.*, 2006; Vallejo y O’Brien, 2006). En la poca información sobre la especie, se menciona que posiblemente es andromonoica (Levin *et al.*, 2006), pero aún no se ha comprobado. La mayor información recabada acerca de su hábitat se registró en la Flora de Veracruz, indicando que florece durante todo el año, especialmente en la época de lluvias, entre junio y septiembre (Nee, 1993).



IV. JUSTIFICACIÓN

Las especies del género *Solanum* muestran una amplia gama en su expresión sexual y morfológica, que influye en el modo de reproducción. Aunque se han analizado diversos sistemas sexuales, sobre todo de las especies de importancia económica y comercial, aún es escasa la información sobre su biología floral, los sistemas de cruce y de apareamiento, los polinizadores y sobre la esterilidad del polen asociada con la heteranteria. *S. tridynamum* es una especie que se cataloga como andromonoica, de la cual poco se sabe acerca de la función que desempeñan los morfos y sus estructuras sexuales, así como los caracteres morfológicos para su reproducción. Dado lo anterior, el estudio de la biología floral y los sistemas de cruce de *S. tridynamum* aportará información sobre su sistema sexual, el significado de la heteranteria y sus estrategias reproductivas.



V. OBJETIVOS

Objetivo general

Describir la biología floral, el sistema sexual, los sistemas de cruce y de apareamiento de *S. tridynamum*.

Objetivos particulares

1. Describir los morfos florales de *S. tridynamum*.
2. Determinar y comparar la viabilidad y la funcionalidad de los granos de polen de los distintos tipos de anteras en *S. tridynamum*.
3. Conocer el periodo de receptividad del estigma.
4. Determinar la funcionalidad del gineceo en las flores hermafroditas.
5. Identificar el sistema de cruce y de apareamiento de *S. tridynamum*.
6. Identificar a los posibles polinizadores.

VI. MATERIALES Y MÉTODOS

Sistema de estudio

Solanum tridynamum es una especie endémica de México encontrándose en los estados de Nayarit, Oaxaca, Puebla, Querétaro, Quintana Roo, Sinaloa, Tamaulipas, Veracruz y Yucatán. Se encuentra en selva baja caducifolia, bosques secundarios, en formaciones xerofíticas o hábitat perturbado, desde el nivel del mar hasta los 1050 m.s.n.m. Florece durante todo el año, especialmente en la época de lluvias, entre junio y septiembre (Nee, 1993). La población que se utilizó para este estudio se ubica en la Reserva de la Biosfera Tehuacán-Cuicatlán, ubicada entre los estados de Puebla y Oaxaca, en el sureste de México, en las coordenadas 18°18'55.2" N 97°30'42.9" W, en los alrededores de la comunidad Zapotitlán Salinas, Puebla.

Biología floral, receptividad del estigma y viabilidad de los granos de polen

Se seleccionaron 10 individuos que tuvieran flores dentro de la población para determinar el número de flores por inflorescencia, discriminando entre masculinas y hermafroditas. Se marcaron dos botones florales en preantesis, de ambos morfos, en diferentes inflorescencias, en los que se observó, registró y estimó la duración de la antesis y el tipo de apertura de la flor (diurna o nocturna).

Se colectaron al menos 30 flores y 30 botones en preantesis de cada morfo floral, los cuales se fijaron en FAA (formaldehído, ácido acético, etanol y agua destilada en una proporción de 10:5:50:35), a temperatura ambiente. Después de



una semana de fijación, se lavaron con agua destilada y se pasaron por etanol al 50%, para luego almacenarse en etanol al 70% hasta su procesamiento. Se estableció la presencia de dos tipos florales y se evaluó la morfología, separadamente, para cada tipo floral. Se disectó cada morfo para determinar las dimensiones florales (largo de las anteras y del estilo, así como la distancia anteras-estigma). Se extrajeron dos tipos de antera en cada morfo y se deshidrataron por separado, mediante cambios de etanol al 85%, 95% y dos cambios al 100%, de 1 h en cada cambio, se llevaron a punto crítico, se cubrieron con oro y se observaron al microscopio electrónico de barrido para caracterizar la micromorfología de los granos de polen.

Para evaluar la receptividad del estigma se aplicaron dos metodologías. La primera corresponde a la propuesta por Osborn *et al.* (1988) que consiste en observar la efervescencia que se produce por la aplicación de una gota de H₂O₂ al 40% sobre la superficie estigmática, lo cual refleja la presencia de peroxidasas relacionadas con la degradación de la pared del grano de polen y el crecimiento del tubo polínico a lo largo del tejido de transmisión del estilo (Bredemeijer, 1984; McInnis *et al.*, 2006). Este procedimiento se aplicó desde botones florales (aproximadamente dos días previos a la antesis) a los cuales se les retiró parte de la corola, hasta flores en antesis en diferentes individuos, haciendo un total de 30 pruebas. La segunda prueba consistió en evaluar la receptividad del estigma por la germinación de polen *in situ*. Si el estigma ya es receptivo al recibir polen, éste se adhiere, se hidrata y germina. Para lo anterior, se realizaron polinizaciones manuales en 20 botones previos a la antesis, y se tomaron cinco muestras en

diferentes tiempos 6, 12, 24 y 48 h después de polinizar. Cada una de las muestras se analizaron en el laboratorio realizando preparaciones de estilos (tipo “squash”) y adicionando azul de anilina al 1% en lactofenol, para observar en microscopio de fluorescencia (López *et al.*, 2005).

Para determinar el porcentaje de granos de polen viables de ambos tipos de antera en los dos morfos florales, se utilizó el reactivo de Alexander (López *et al.*, 2005). A partir de 15 anteras cortas y 15 largas de cada morfo, se extrajo el polen y se preparó una muestra por antera en un portaobjetos. Se aplicó el reactivo y con un microscopio fotónico se contaron seis campos por muestra. El citoplasma del polen viable se tiñe de color violeta y la exina de verde, mientras que en el polen no viable no se tiñe el citoplasma, sólo la exina de color verde. Las anteras fueron extraídas cuando aún se encontraban cerradas, de botones con un día previo a la antesis.

Determinación del sistema de cruce

Durante 2014 se realizaron cinco visitas a la población de *S. tridynamum*, que permitieron la implementación de tratamientos de polinizaciones controladas y naturales, para determinar el sistema de cruce, demostrar la funcionalidad del gineceo e identificar algún grado de autoincompatibilidad ($n = 30$ para cada tratamiento). Una vez identificado el periodo de receptividad del estigma, se escogieron 150 flores en preantesis, para los cinco tratamientos de polinización (Dafni, 1992) que fueron los siguientes:

- Tratamiento control (polinización abierta y natural). Las flores se marcaron sin manipulación.
- Tratamiento de autopolinización natural. Los botones se cubrieron con una bolsa sin remover anteras.
- Tratamiento de apomixis. Los botones se emascularon e inmediatamente se cubrieron con una bolsa.
- Tratamiento de entrecruza manual. Los botones de flores hermafroditas se emascularon y en el estigma se depositó polen de flores recién abiertas de otro individuo. Se utilizó por separado, polen de anteras cortas y largas.
- Tratamiento de autopolinización manual. El estigma receptivo se cubrió con polen proveniente de anteras cortas o largas de la misma flor. Se polinizaron 30 botones con polen de anteras cortas y 30 con polen de anteras largas.

Con excepción del control, todos los tratamientos se cubrieron de forma individual, con doble bolsa de tul, para evitar la entrada de polen externo, así como la presencia de visitantes florales durante el periodo de antesis y así como para evitar la pérdida de semillas en cada tratamiento, en caso de que el fruto abriera antes de la colecta.

Posterior a las polinizaciones, se dejaron transcurrir 100 días para que los frutos alcanzaran la madurez. Los frutos se colectaron por separado en bolsas de papel, etiquetadas de acuerdo con cada tratamiento. Se realizó el conteo de semillas producidas en cada tratamiento, diferenciando entre semillas bien formadas (de forma arriñonada y de color negro brillante) y abortadas (de tamaño



reducido, comprimidas o carentes de embrión). Se obtuvo el promedio de semillas por fruto. Todos los conteos se compararon con el control para determinar el sistema de cruce más eficiente, de forma directa.

Determinación del sistema de apareamiento: proporción Polen/Óvulos

Se realizó el conteo de óvulos y de granos de polen, tanto de las anteras cortas como las largas del morfo hermafrodita. Debido a que en las flores masculinas el gineceo es reducido y los óvulos muy pequeños, sólo se contaron los granos de polen. De esta manera se determinó el sistema de apareamiento, utilizando la proporción P/O. Para la obtención del número promedio de granos de polen por flor, se separaron antera corta y larga (aún sin dehiscencia) y se colocaron en microtubos con 0.25 ml de solución jabonosa, donde cada antera se maceró con una aguja de disección y posteriormente, se agitó vigorosamente para permitir la salida del polen y mantener homogénea la solución. De cada tubo se tomó una muestra de polen de 5 μ l y se colocó en una cámara de Neubauer para realizar el conteo de cuatro campos. Los datos obtenidos por muestra se extrapolaron al volumen total de la alícuota, para obtener el promedio de granos de polen por antera y por flor (Kearns e Inouye, 1993).

Se realizaron análisis estadísticos tipo prueba de *t* con contraste de medias, para establecer diferencias en las características florales dentro de un mismo morfo floral (longitud de las anteras y número de granos de polen entre anteras largas y cortas) y entre morfos florales (longitud de las anteras, número de semillas y número de granos de polen). Los resultados de comparación

morfológica y proporción P/O se analizaron, aplicando una prueba de t para presentar el promedio con la desviación estándar. Para comparar el número de semillas obtenidas en cada tratamiento se realizó la prueba de normalidad de Shapiro-Wilk, se aplicó la prueba de ANOVA con una prueba de comparación múltiple de Tukey's.

Visitantes florales

Durante las visitas de campo, antes de realizar las polinizaciones, se realizó la observación de visitantes florales en los diferentes individuos, en intervalos de 5 minutos durante 3 horas. Se registró el tipo de visitante, así como la actividad que realizaba (i.e. florivoría, herbivoría, polinizador, etc).

VII. RESULTADOS

Morfología floral

El pico de floración de *S. tridynamum* corresponde con la temporada de lluvias. En 2014, la floración fue abundante desde el mes de agosto y duró hasta inicios de noviembre. Los individuos desarrollan varias inflorescencias axilares, cada una con seis flores masculinas y una flor hermafrodita en la base de la inflorescencia y ubicada hacia el extremo opuesto del resto de las flores masculinas. Ambos morfos desarrollan polen y óvulos, sin embargo, los óvulos de las flores masculinas son muy pequeños y escasos debido a que presentan un gineceo reducido y no forman fruto, por lo que es una especie andromonoica (Fig. 2a). La floración es acrópeta, por lo que la antesis se presenta de forma gradual dentro de la inflorescencia, siendo la flor hermafrodita la primera en abrir, mientras que las masculinas aún se encuentran en botón. Cuando estas últimas están en antesis, las hermafroditas ya presentan un fruto en desarrollo (Fig. 2b). En cuanto a la longevidad de cada morfo floral, las flores masculinas duran de 3 a 4 días abiertas, mientras que las flores hermafroditas de 2 a 3 días, ambos ininterrumpidos (noche y día). Tanto las flores hermafroditas (Fig. 2c) como las masculinas (Fig. 2d) presentan anteras de diferente longitud (heteranteria) y dehiscencia poricida, el poro se ubica en el extremo apical de cada par de microsporangios. El pistilo de la flor hermafrodita (Fig. 2c) mimetiza en forma y longitud al conjunto de las anteras largas de la flor masculina (Fig. 2d).

Los botones de las flores hermafroditas presentan sépalos alargados, un denso indumento, constituido por tricomas estrellados, poseen “espinas” rígidas en la epidermis abaxial de la base de los sépalos y los pétalos son rectos (Fig. 3a).

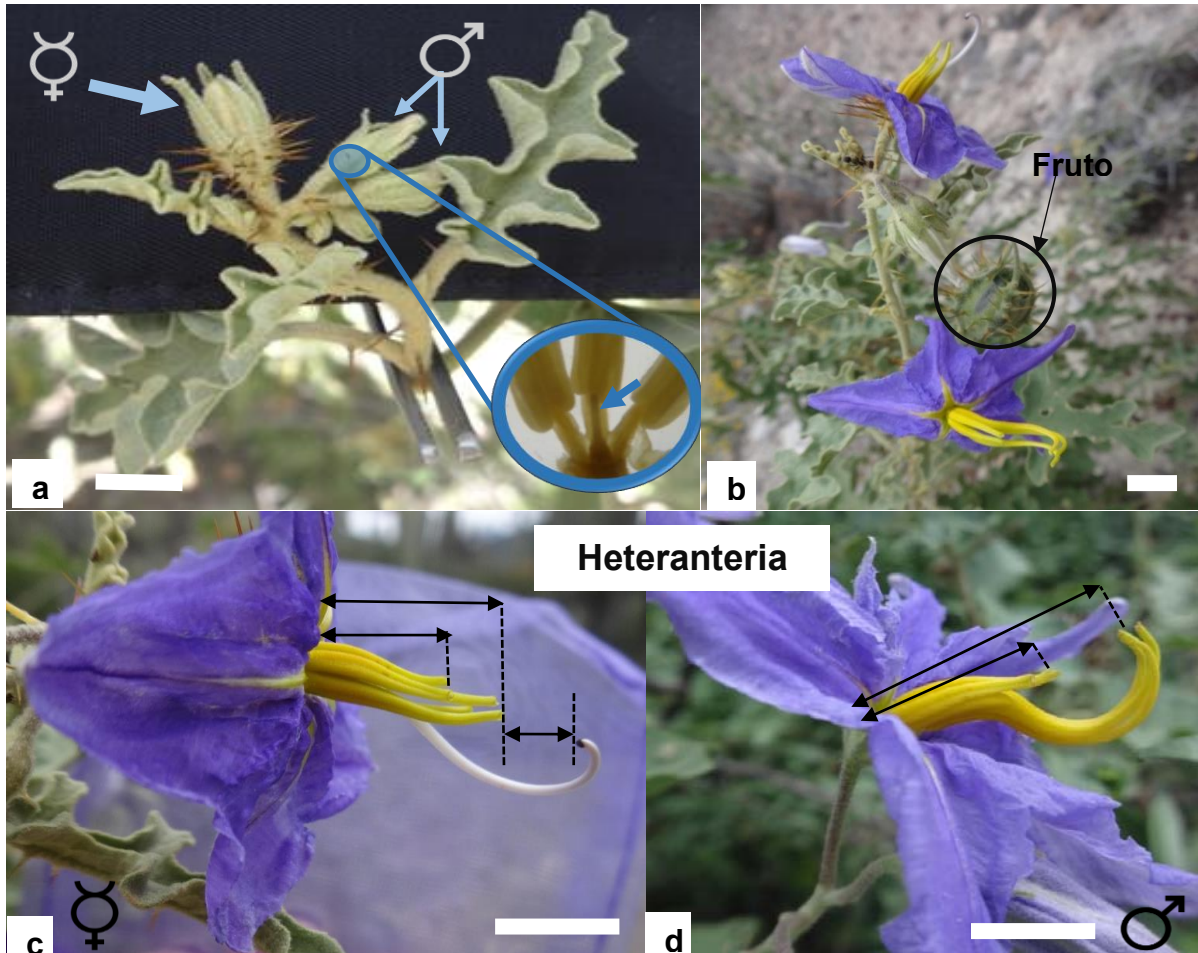


Figura 2. Flores de *S. tridynamum*. **a.** Inflorescencia con 6 botones florales masculinos y uno hermafrodita en la base de la inflorescencia. **b.** Dos inflorescencias, la superior con flor hermafrodita en antesis y botones de flores masculinas, en la inferior una flor masculina en antesis y un fruto producido por la flor hermafrodita. **c.** Flor hermafrodita heterantérica, el estigma se encuentra más cercano a los poros apicales de las anteras largas. **d.** Flor masculina con dos tipos de anteras (heterantérica) y mayor distancia entre ellas. Escala = 1 cm.

Al momento de la antesis presentan cinco anteras que muestran diferencias significativas en cuanto a la longitud ($t = 8.322$, $df = 58$; $P < 0.0001$; Fig. 4a): tres largas que miden 14.71 ± 1.23 mm y dos cortas 12.24 ± 1.07 mm, insertas en un

filamento muy corto, que se fusiona con el área basal de la corola (Tabla 1 y Fig. 2c). El pistilo de la flor hermafrodita presenta una curvatura dirigida al centro de la corola, de modo que el estigma se dispone a una distancia promedio de 1.61 ± 0.51 mm del poro apical de la antera larga y de 4.08 ± 0.51 mm del poro de la antera corta (Fig. 2c-d y Fig. 4b).

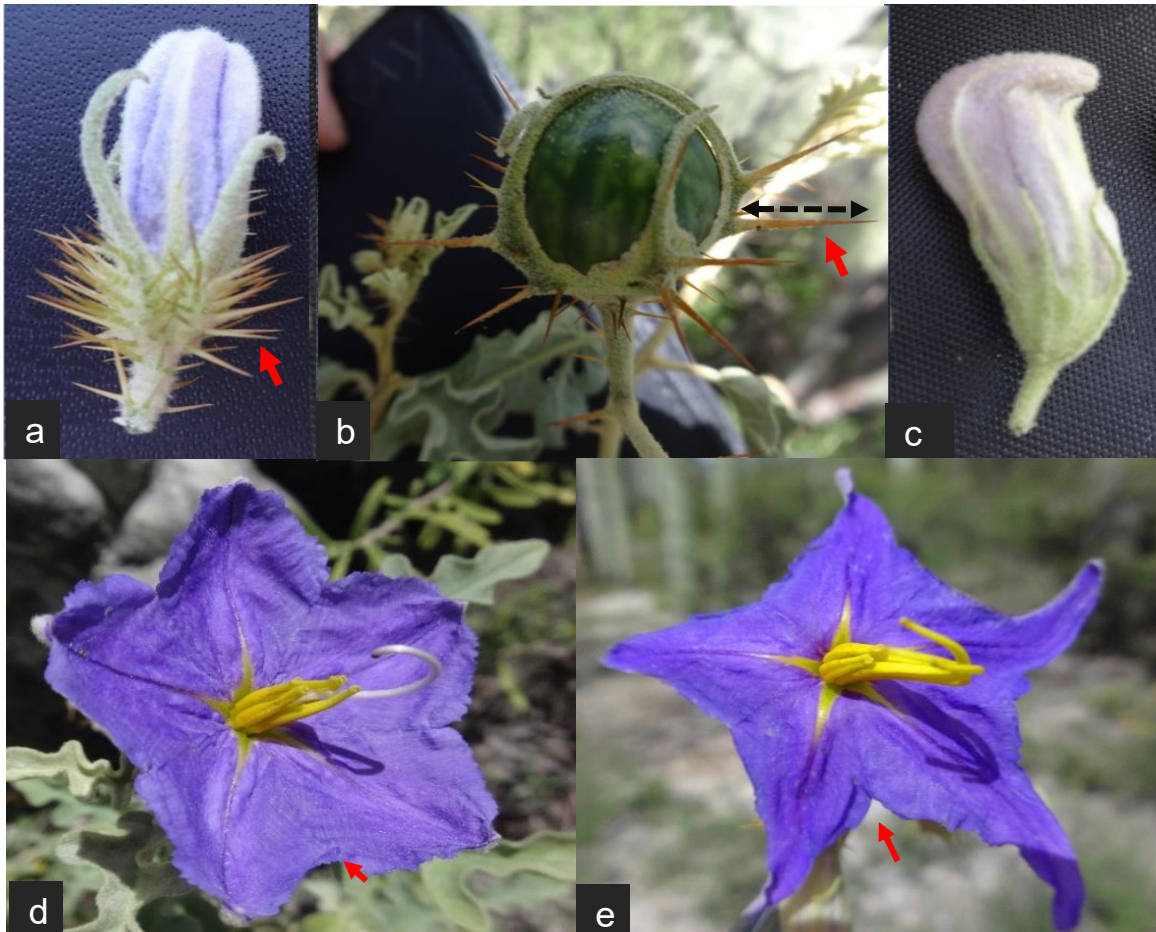


Figura 3. Diferentes morfos florales de *S. tridynamum*. **a.** Flor hermafrodita en botón con forma ovalada que muestra sépalos ornamentados con “espinas” rígidas. **b.** Fruto (cápsula) de color verde, pubescente y rodeado por los sépalos alargados y entrelazados. Se puede observar un mayor crecimiento de las “espinas” (señaladas por la flecha roja). **c.** Flor masculina en botón curvada en la punta con sépalos pubescentes y sin “espinas”. **d.** Flor hermafrodita con pétalos fusionados (señalados por la flecha roja) y coloración pálida. **e.** Flor masculina con corola estrellada y de colores ligeramente más intensos y contrastantes.

La flor masculina tiene un pistilo reducido, que apenas alcanza el nivel del filamento corto de las anteras (Fig. 2b), los sépalos, en comparación con aquellos de las hermafroditas, carecen de “espinas” rígidas y los pétalos son curvos, en forma de “S” (Fig. 3c).

En ambos morfos florales la corola es pentámera, los pétalos se encuentran fusionados y su color es morado pálido (Fig. 3d-e). Los sépalos de las hermafroditas son persistentes, durante la antesis mantienen sus dimensiones menores a la corola; sin embargo, una vez ocurrida la fecundación y, por consiguiente la formación del fruto, éstos se alargan y entrelazan sus ápices para envolver y proteger al fruto contra los depredadores el cual tiene diferentes tonos de color verde cuando es joven (Fig. 3b) y cambia a color café cuando madura aproximadamente a los 80-90 días postpolinización y es una cápsula.

Los botones florales masculinos también presentan sépalos indumentados, pero, a diferencia de las hermafroditas, sus tricomas son más cortos y escasos y carecen de “espinas” (Fig. 3c), son urticantes ya que provocan comezón y ardor.

Tabla 1. Dimensión de los verticilos sexuales (mm, promedio \pm d.e.) de flores hermafroditas y masculinas ($n = 30$)

Característica	Hermafrodita	Masculina
Antera larga	14.71 \pm 1.23	24.26 \pm 1.78
Antera corta	12.24 \pm 1.07	12.65 \pm 1.29
Largo del pistilo	24.34 \pm 3.38	2.46 \pm 0.97
Distancia del estigma a la base del ovario (considerando curvatura del pistilo)	16.33 \pm 2.52	-
Distancia del estigma a la antera larga (considerando curvatura del pistilo)	1.61 \pm 0.51	-
Distancia del estigma a la antera corta (considerando curvatura del pistilo)	4.08 \pm 0.51	-

Este morfo también presenta cinco anteras, que muestran diferencias significativas en cuanto a su longitud ($t = 26.67$, $df = 58$; $P = 0.0001$; Fig. 4a), las cuales se muestran en la Tabla 1 así como el tamaño del estilo reducido. La corola es pentámera con forma estrellada, de coloración morado intenso, contrastante con los estambres amarillos (Fig. 2a, 2c y 3d).

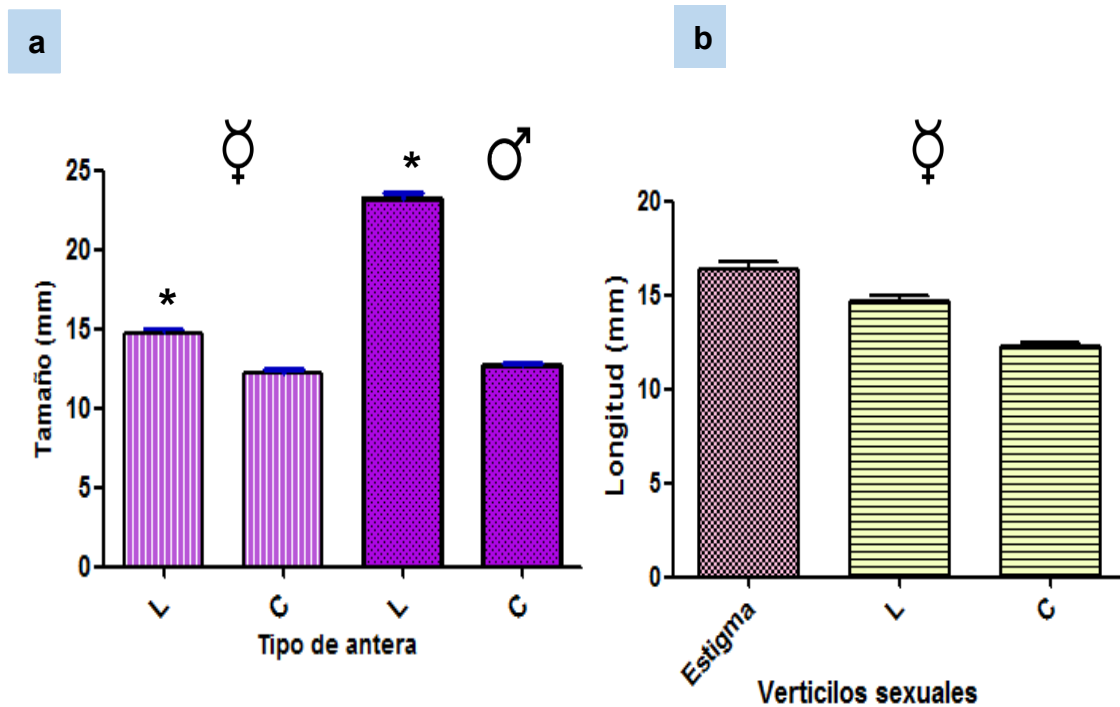


Figura 4. Dimensiones de los verticilos sexuales de *S. tridynamum*. **a.** Longitud de las anteras en flores masculinas y flores hermafroditas: L= antera larga, C= antera corta. **b.** Distancia del estigma a la base del ovario (considerando curvatura de pistilo) comparada con la longitud de las anteras grandes y cortas en la flor hermafrodita: se interpreta una cercanía entre el estigma y la dehiscencia poricida de la antera larga. Los datos son el promedio de las mediciones, mostrando el error estándar de 30 muestras.

Comparando la longitud de las anteras entre ambos morfos florales, se encontró una diferencia significativa en los estambres más largos ($t = 21.77$, $df = 58$; $P = 0.0001$; Fig. 4a y Tabla 1). Se puede observar claramente que las anteras

largas de la flor masculina son de mayor dimensión que las de la flor hermafrodita, mientras que en ambas el tamaño de la antera corta es similar y no hay diferencias significativas ($t = 1.36$ $df = 58$; $P = 0.0885$).

Receptividad del estigma y viabilidad y morfología de los granos de polen

La receptividad del estigma, determinada mediante la presencia de peroxidasas de la flor hermafrodita, comenzó antes de la antesis en botones que empiezan a tomar coloración morada (Fig. 5a) aproximadamente dos días previos a la antesis. En este momento el estigma es de color blanquecino o verde y según la prueba de receptividad con peróxido de hidrógeno el resultado fue positivo. Por su parte, los poros apicales de las anteras aún se encuentran cerrados. En flores de hasta dos días después de la antesis mostraron también resultado positivo de receptividad (Fig. 5b), aunque el estigma se oxida y cambia a un color negro lo cual podría relacionarse con una disminución progresiva de peroxidasas.

En la segunda prueba, que consistió en evaluar la receptividad del estigma por la germinación de polen, se observó que a las 6 h postpolinización (hpp) pocos han germinado (Fig. 6a), a las 12 hpp la mayoría de los granos de polen ya tienen tubos polínicos muy largos (Fig.6b), a las 24 h se observaron tubos polínicos en el estilo (Fig. 6c) y a las 48 h, los tubos polínicos ya se observan alcanzando los óvulos (Fig. 6d).

Con respecto a la viabilidad de los granos de polen con la prueba del reactivo de Alexander, se observó que el citoplasma de los granos de polen

viables, se tiñó de un color violeta y la pared de la exina de color verde, mientras

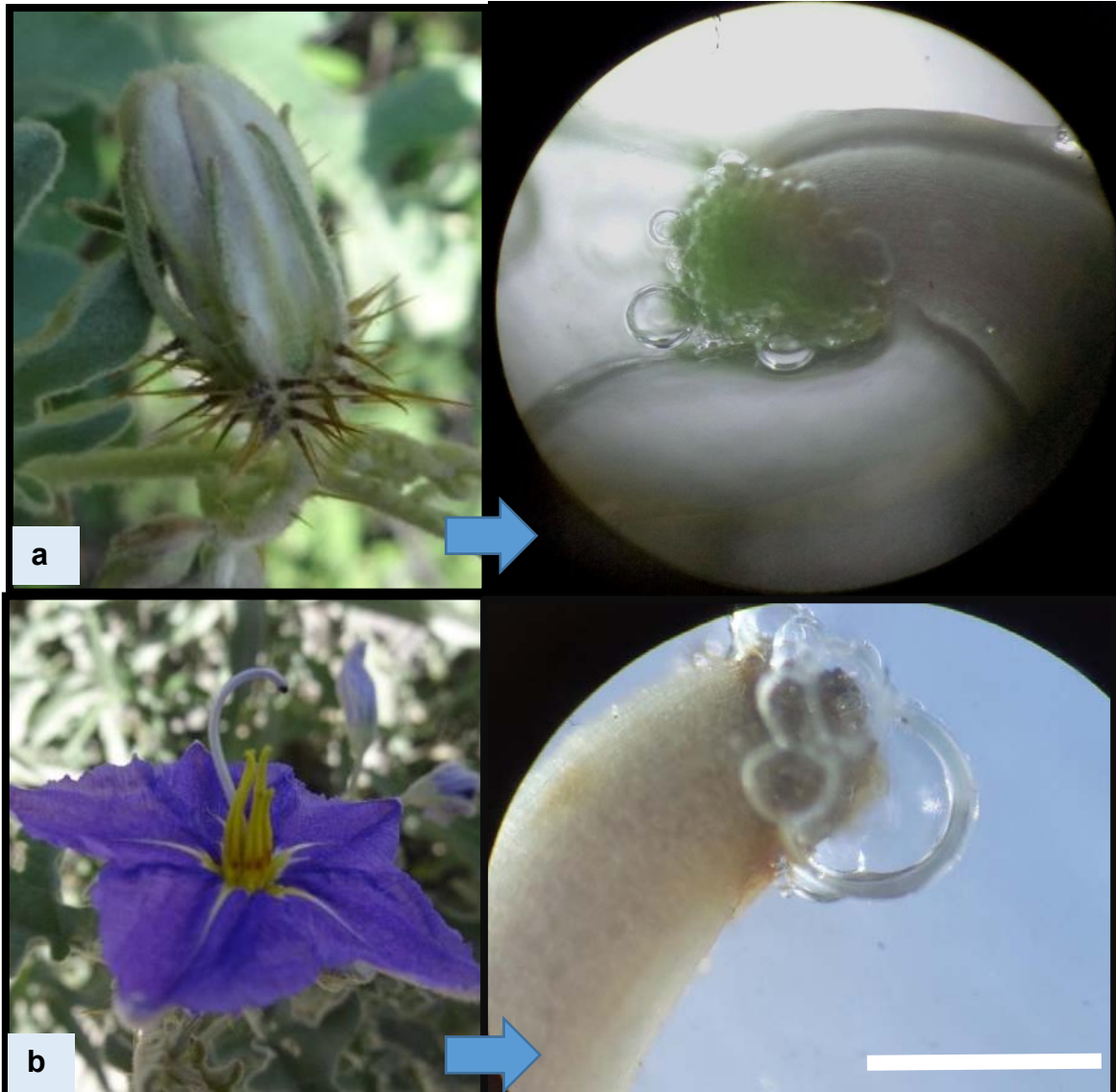


Figura 5. Receptividad del estigma en flores hermafroditas. **a.** Botón floral (dos días antes de antesis) que representa el inicio de la receptividad del estigma dando positivo (efervescencia) en la prueba con peróxido de hidrógeno. A la derecha, note el estigma aún de color verde. **b.** Flor después de la antesis (2 días) mostrando a la derecha el estigma en color negro. Escala = 3 mm.

que el citoplasma de los granos inviables no se tiñeron de violeta y lucían un color verde pálido únicamente en la exina (Fig. 7). Se obtuvo un 87% de viabilidad para

granos de polen producidos por anteras largas y un 81% de granos viables a partir de las anteras cortas en el morfo masculino (Tabla 3). En el caso de las hermafroditas, la viabilidad fue de 76.6 % en anteras largas y de anteras cortas fue de 55.1%.

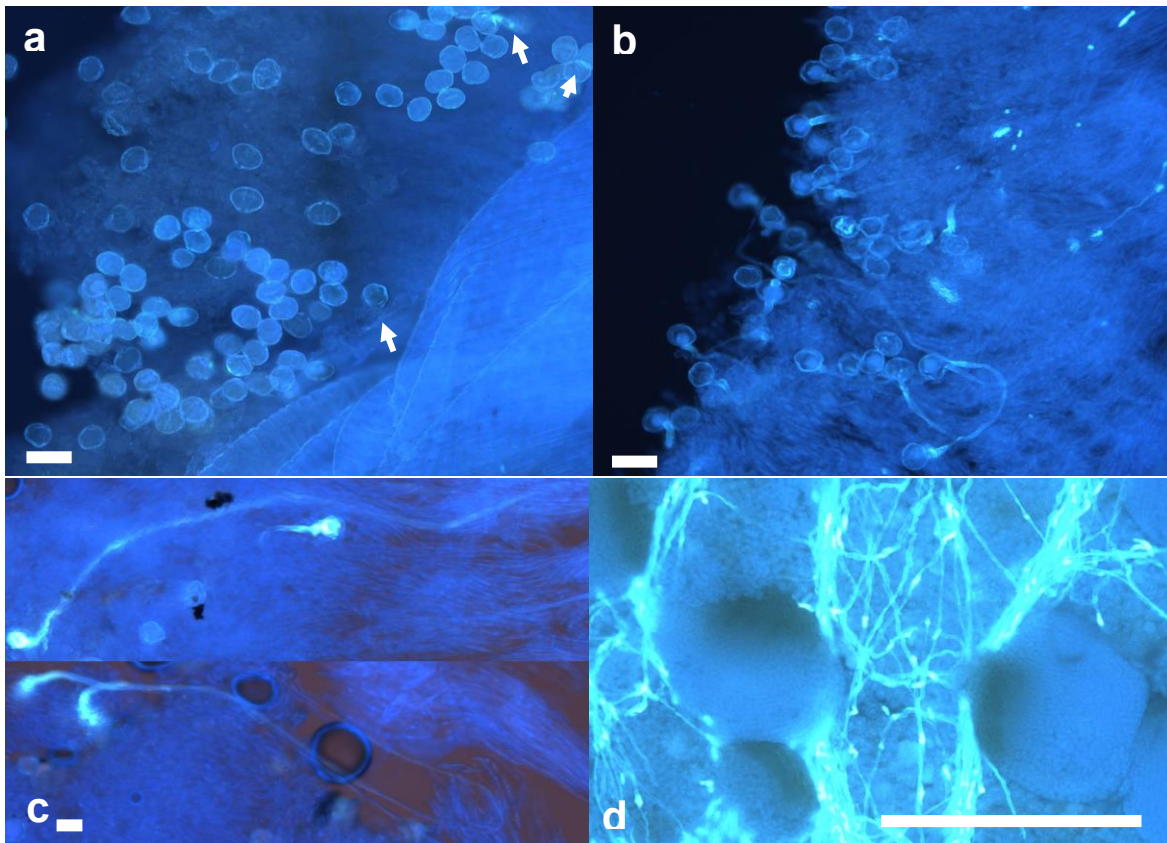


Figura 6. Evaluación de receptividad del estigma por germinación de los granos de polen. **a.** Granos de polen sobre la superficie estigmática 6 hpp con escasos tubos polínicos **b.** Granos de polen germinados a las 12 hpp, se observa crecimiento de los tubos polínicos **c.** A las 24 hpp se observan tubos polínicos a lo largo del estilo **d.** A las 48 hpp ya se observan los tubos polínicos alrededor de los óvulos. hpp = horas postpolinización. Escala 30 μ m

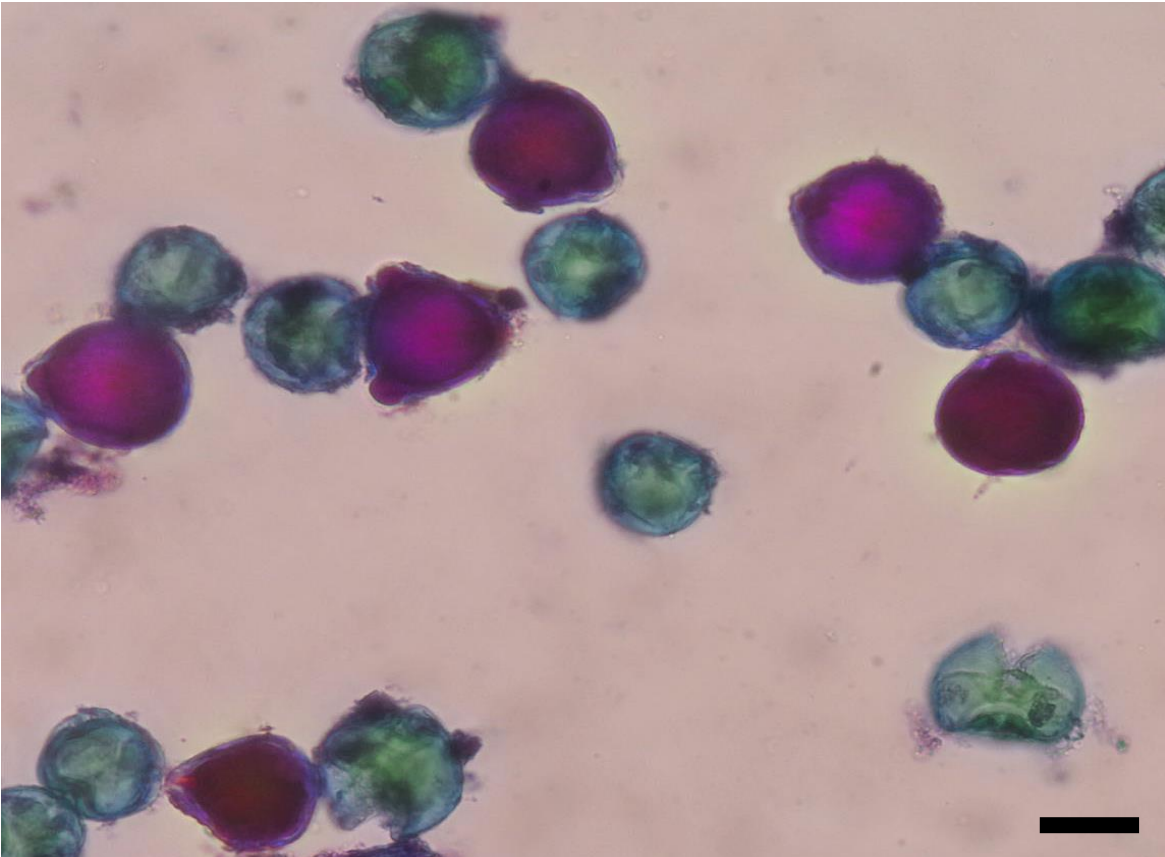


Figura 7. Viabilidad de los granos de polen (prueba de Alexander). El citoplasma del grano de polen se tiñe de violeta indicando viabilidad, mientras que el color verde indica inviabilidad. Escala = 20 μ m.

El análisis de la micromorfología de los granos de polen observados en el microscopio electrónico de barrido, muestran que los morfos de anteras cortas (Fig. 8a, c) y largas (Fig. 8b, c), tanto de flores masculinas como de hermafroditas son similares, producen granos de polen pequeños, isopolares, que se dispersan en mónadas, son radialmente simétricos, tricolporados y con exina microequinada,

con escultura microgranulada, con opérculo (membrana del poro) globoso y colpo ornamentado con gránulos diminutos.

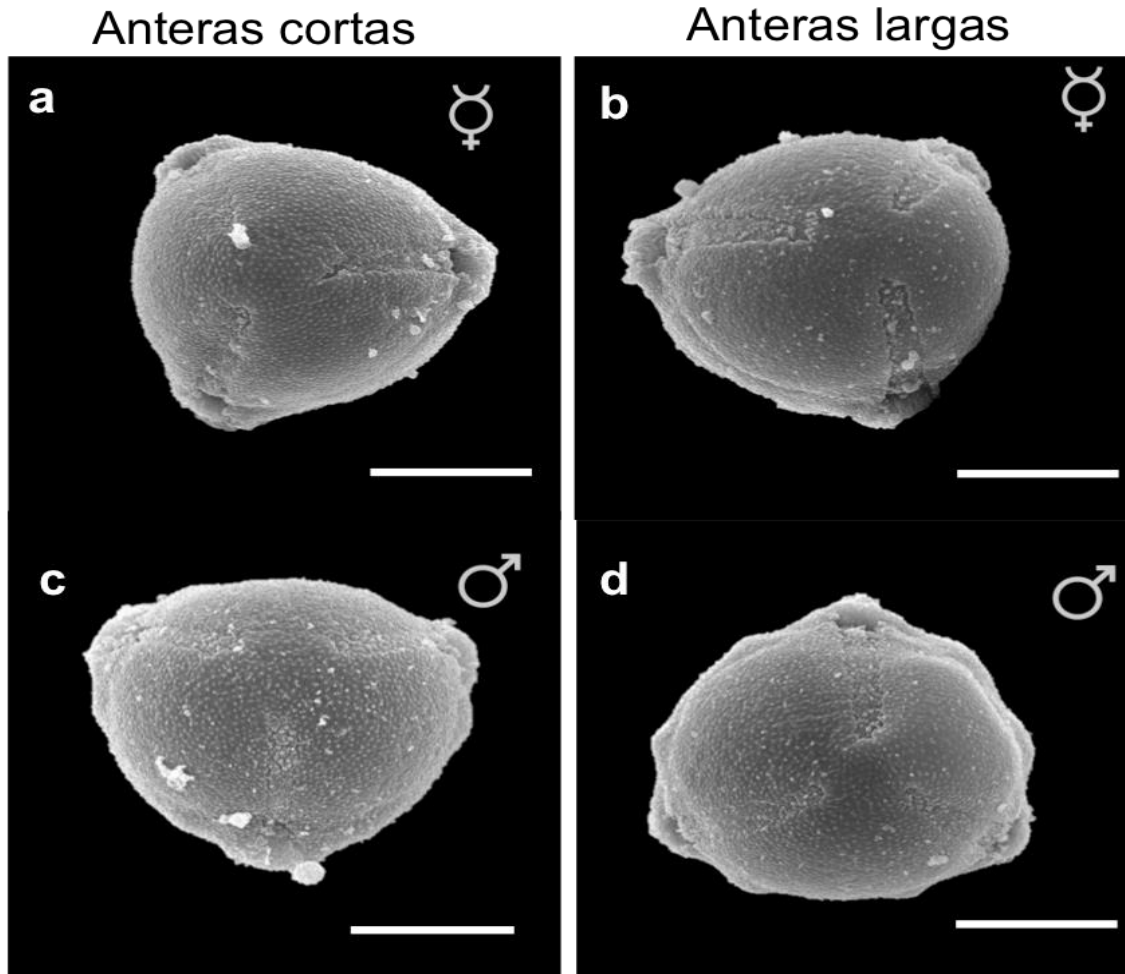


Figura 8. Micromorfología de los granos de polen en *S. tridynamum* (vista polar). **a.** Antera corta, flor hermafrodita. **b.** Antera larga de flor hermafrodita. **c.** Antera corta de flor masculina. **d.** Antera larga de flor masculina. En todas las anteras los granos de polen son tricolporados y con exina microequinada. Escala = 10µm.

Sistema de cruza

Los resultados de los tratamientos de polinización (Tabla 2), aunados con la morfología floral, indican que *S. tridynamum* es una especie andromonoica, cuyas semillas se forman por un proceso sexual, ya que en el tratamiento de apomixis no se formaron frutos y todas las flores abortaron en antesis. A pesar de que *S. tridynamum* es una especie autocompatible, la autopolinización no ocurre de manera natural ya que en los tratamientos de autopolinización natural no hubo formación de frutos, las 30 flores tratadas fueron abortadas (Fig. 9a), pero sí en la autopolinización manual (Fig. 9b). Los frutos son cápsulas, con dehiscencia apical, rodeados por cáliz persistente, seco, lignificado, con “espinas” largas y rígidas, que cubren más del 80% la pared seca del fruto (Fig. 9c, d).

TABLA 2. Resultado de los tratamientos de polinización ($n = 30$ flores por tratamiento)

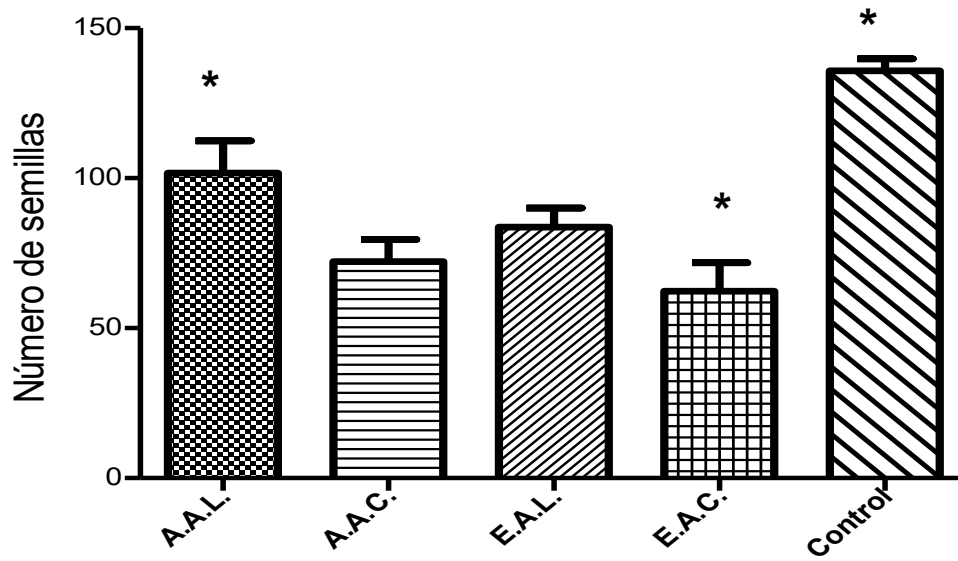
TRATAMIENTO	Frutos	Semillas bien formadas	Semillas abortadas
Control	30	136.07 \pm 22.52	7.43 \pm 2.01
Apomixis	0	0	0
Autopolinización natural	0	0	0
Autopolinización manual con A. C.	20	72.15 \pm 7.39	9.5 \pm 1.6
Autopolinización manual con A. L.	19	101.7 \pm 10.81	10.79 \pm 3.46
Entrecruza manual con A. C.	22	62.32 \pm 9.50	28.5 \pm 10.35
Entrecruza manual con A. L.	28	83.68 \pm 6.44	6.28 \pm 1.83

De acuerdo con el tratamiento control, las flores hermafroditas generan frutos que contienen en promedio 136 ± 22.5 semillas (Tabla 2), de color negro

brillante, aplanadas y en forma arriñonada (Fig. 9 c, d). Al contrastar el número de semillas formadas por cada tratamiento de polinización, se obtuvieron diferencias significativas entre los tratamientos ($F = 16.90$; $P = 0.0001$, Fig. 10) y se observa que el éxito en producción de semillas es similar tanto para entrecruza como para autocruza (Fig. 10).



Figura 9. **a.** Flores hermafroditas abortadas en el tratamiento de autopolinización natural. **b.** Fruto formado resultado del tratamiento de entrecruza manual con el polen de antera larga. **c.** Fruto seco de tratamiento control, dehiscente en la zona apical que muestra la forma de las semillas (señalado con flecha roja). **d.** Tamaño del fruto seco y semillas. Escala = 1 cm.



Tratamientos de polinizaciones controlada

Figura 10. ANOVA contraste de número de semillas obtenidas en cada tratamiento. Se encontraron diferencias significativas con la prueba de comparación múltiple de Tukey's en el tratamiento de autocruza con antera larga vs entrecruza con antera corta (diferencia de medias = 39.37).

Sistema de apareamiento

En cuanto a la producción de granos de polen en anteras largas y en anteras cortas (Fig. 11a, Tabla 3), se encontró una diferencia significativa en cuanto al número de granos de polen producidos en la antera larga y en la antera corta ($t = 2.45$, $df = 64$; $P = 0.0083$); sin embargo, al comparar la cantidad de polen que produce la flor hermafrodita con la que produce la masculina, no fue significativa la diferencia ($t = 1.08$, $df = 58$; $P = 0.1421$, Fig. 11b).

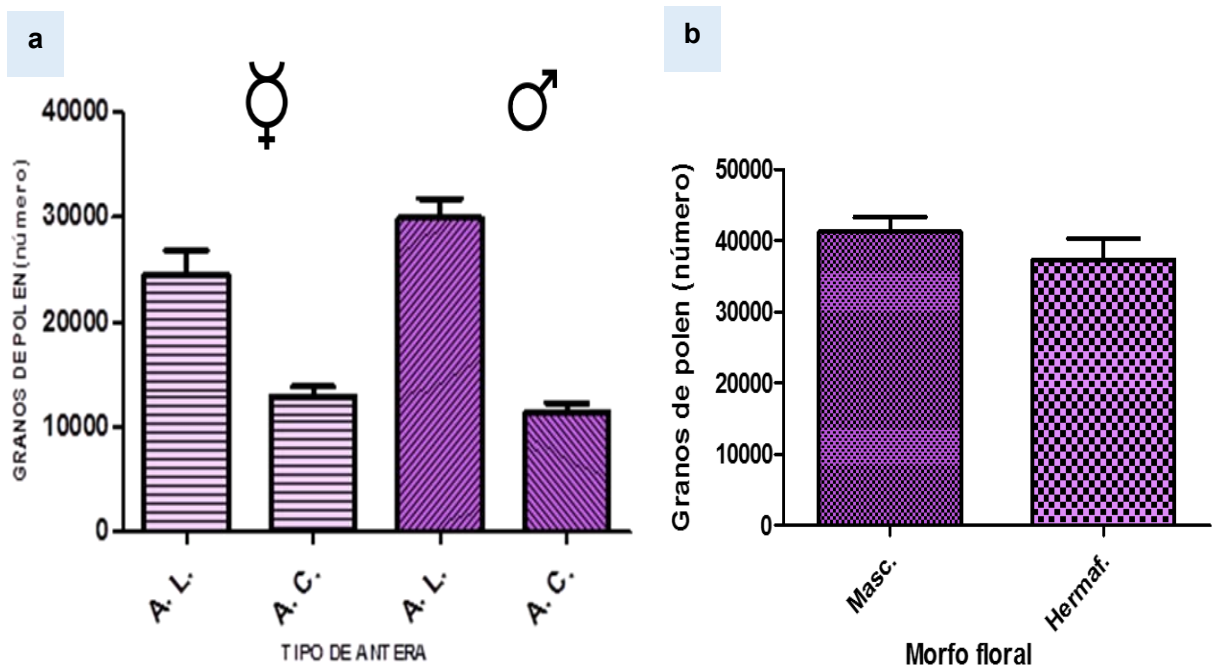


Figura 11. Producción de granos de polen en anteras cortas y largas de flores masculinas y hermafroditas. **a.** Promedio del número de granos de polen que se producen en los distintos tipos de anteras de los morfos florales. Las anteras largas producen un número mayor de granos de polen en comparación con las anteras cortas en ambos morfos. Los granos de polen producidos por anteras cortas no presentan mucha variación entre ambos morfos. Las anteras largas del morfo masculino producen una cantidad significativa de granos de polen **b.** No hay diferencia significativa en el número total de granos de polen que produce cada morfo. Los valores son los promedios con su desviación estándar de 30 repeticiones.

TABLA 3. Cantidad de polen en anteras cortas (2) y largas (3) de ambos morfos de *S. tridynamum* (n = 30)

MORFO	Tipo de antera	Polen X Flor	Óvulos	Viabilidad del polen
MASCULINA	Larga	29 885 ± 1 878	--	87.6 %
	Corta	11 353 ± 890.9		81.6 %
	Total	41 240 ± 2 086		
HERMAFRODITA	Larga	24 430 ± 2 341	193.30 ± 8.19	76.6 %
	Corta	12 900 ± 929.5		55.1 %
	Total	37 330 ± 2 953		

De acuerdo con los valores establecidos por Cruden (1977), para el cálculo de relación P/O (Tabla 4), y considerando que la especie presenta una inflorescencia con seis flores masculinas y una flor hermafrodita, la especie presenta un sistema de apareamiento de xenogamia facultativa, pues en promedio se producen 284,770 ± 12,811 granos de polen disponibles para cada flor hermafrodita en cada inflorescencia.

Tabla 4. Sistemas de apareamiento y relación polen/óvulos (Cruden, 1977)

Sistema de apareamiento	P/O (Cruden, 1977) (promedio ± e.e.)	P/O de <i>S. Tridynamum</i> (promedio ± d.e.)
Cleistogamia	4.7 ± 0.7	
Autogamia obligada	27.7 ± 3.1	
Autogamia facultativa	168.5 ± 22.1	
Xenogamia facultativa	796.6 ± 87.7	1473.20 ± 18.55
Xenogamia	5859.2 ± 936.5	



Visitantes florales

Se observaron tres tipos de especímenes de insectos, los cuales fueron identificados únicamente hasta orden. Del orden Coleoptera, el espécimen mostró actividad florívora al comerse las anteras del morfo masculino (Fig. 12a, b), así como otras estructuras florales como los pétalos, lo cual afecta y la flor se cae. Lo anterior se observó incluso en botones.

Los visitantes del orden Hymenoptera fueron hormigas y abejas. Las hormigas mostraron mayor actividad recorriendo diferentes áreas de la planta, a lo largo del tallo, entre las ramas, las hojas y el eje de la inflorescencia, incluso en algunos sépalos (Fig. 12c y d). En estas estructuras es posible que se encuentren nectarios extraflorales.

Los distintos tipos de abejas solitarias mostraron ser los polinizadores efectivos (superfamilia Apoidea). Tienen una alta actividad sobre las anteras de flores masculinas y hermafroditas. En las flores masculinas se observó que se posan sobre las anteras cortas y recogen polen, mientras que la parte dorsal (tórax y abdomen) de su cuerpo está siendo bañada con polen de las anteras largas debido a las vibraciones emitidas (Fig. 13a). Antes de retirarse de la flor masculina pasa a las anteras largas, consumiendo polen o lo guarda en sus escopas (Fig. 13b, c). Después pasa a la flor hermafrodita, se posa sobre las anteras cortas y largas, las cuales están muy cercanas unas de otras y colecta el polen, al mismo tiempo la parte dorsal de la abeja hace contacto con el estigma (que guarda la misma posición, forma y altura que las anteras largas de la flor

masculina), depositando el polen acumulado en su dorso, realizando de esta manera la polinización (Fig. 13d y flor superior de la Fig. 13e). Debido a que son más flores masculinas las que abren sobre una planta (aunque diariamente sólo hay una flor abierta por día en cada inflorescencia), con respecto a las hermafroditas, cuando llega a una flor hermafrodita para depositar el polen, ya lleva mucho acumulado.



Figura 12. Visitantes florales. **a.** Especimen de orden Coleoptera sobre flor masculina consumiendo las anteras. **b.** Flor masculina posterior a la presencia del escarabajo, sin anteras y con corola afectada. **c.** Presencia de la hormiga en el pedicelo de la flor y sobre los sépalos. **d.** Actividad de la hormiga a lo largo del tallo pubescente.

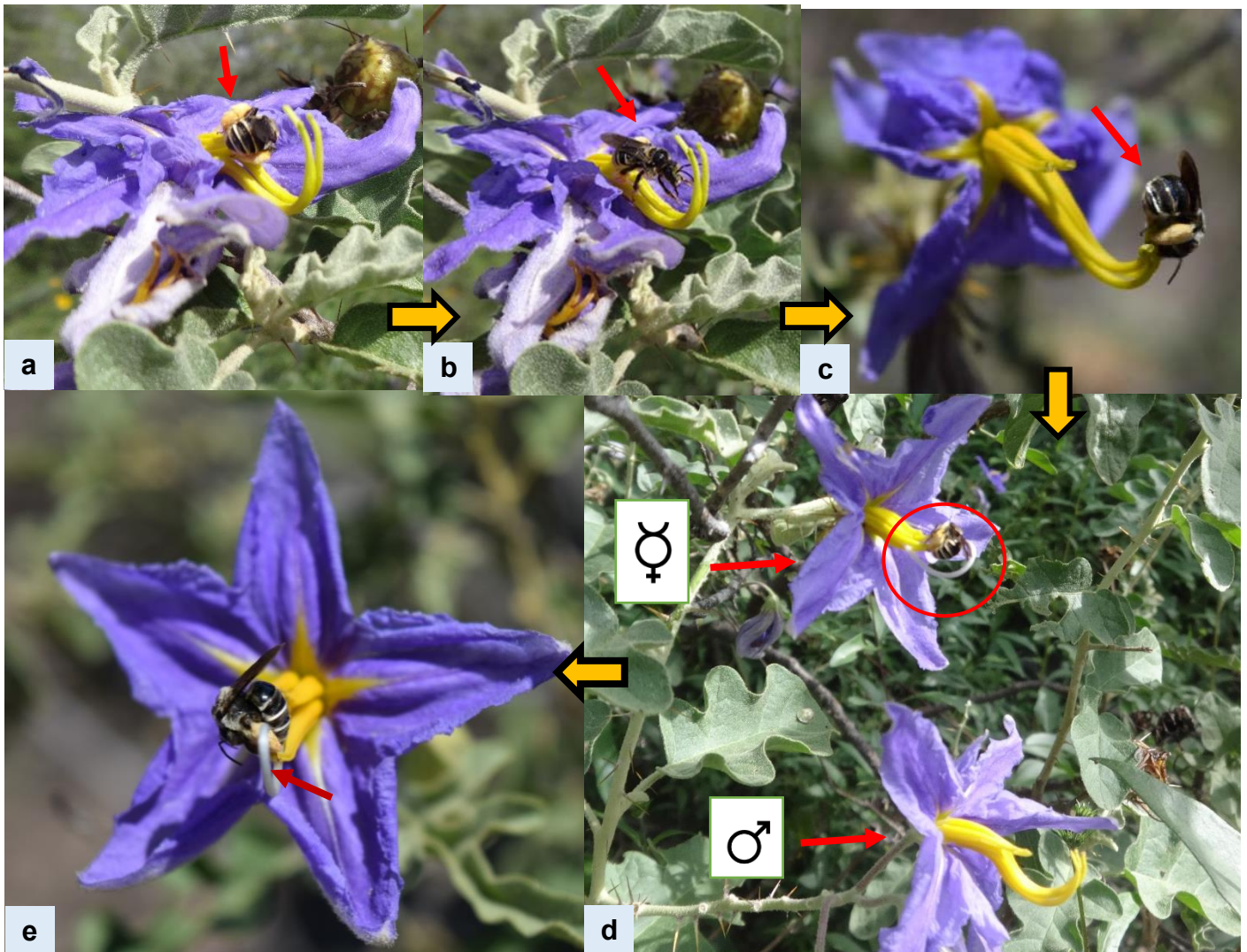


Figura 13. Secuencia de la actividad de la abeja en las flores de *S. tridynamum*. **a.** La abeja se posa sobre las anteras cortas en el morfo masculino y gira alrededor de ellas mientras es bañada con polen de las anteras largas sobre su dorso. **b.** Después de unos segundos se mueve hacia las anteras largas. **c.** En las anteras largas se mantiene en una sola posición llenando sus escopas con polen. **d.** Migra a una inflorescencia más arriba, donde se encuentra una flor hermafrodita en antesis. **e.** En la flor hermafrodita consume polen de las anteras cortas y largas y en este momento su tórax con polen de una flor anterior hace contacto con el estigma.

VIII. DISCUSIÓN

Biología floral

La población estudiada de *S. tridynamum* tiene un sistema sexual de tipo andromonoico y con flores heterantéricas. Las flores masculinas presentan un gineceo reducido e inconspicuo, como ocurre en otras especies andromonoicas del género *Solanum* (Bertin, 1982; Strauss, 1996; Miller y Diggle, 2007; Vallejo y Rausher, 2007). En la inflorescencia, las flores obedecen al patrón morfológico generalizado de las especies andromonoicas en *Solanum*, ubicadas en el subgénero *Leptostemonum* (Anderson y Symon, 1989; Levin *et al.*, 2006), las cuales tienen la flor hermafrodita en la base de la inflorescencia como *S. vespertilo* y *S. carolinense*, aunque en ellas la floración es basípeta (Anderson y Connolly, 2003; Anderson *et al.*, 2014), mientras que en *S. tridynamum* es acrópeta.

De acuerdo con la duración del periodo de antesis, las flores masculinas de *S. tridynamum* permanecen más tiempo abiertas, posiblemente como una estrategia de reducción del costo energético, al mantener más flores abiertas por más de un día, en contraste con la necesidad de producir flores nuevas cada día, como se ha constatado en otras especies de *Solanum* (Solomon, 1987; Anderson y Symon, 1989; Strauss, 1996; Anderson y Connolly, 2003; Barrett 2003; Miller y Diggle 2007; Vallejo y Raesher, 2007). También se vincula con la reducción de costos derivados por el consumo de polen por los polinizadores o por la florivoría (Charlesworth y Charlesworth, 1990; Strauss, 1996; Dupont y Mogens, 2006; Tang y Huang, 2007). Lo anterior puede considerarse como una “pantalla o engaño”



generada por las flores “viejas”, con corolas atractivas, lo cual resulta ventajoso al actuar como atrayente principalmente de las abejas polinizadoras, como ocurre en otras especies de *Solanum* (Wyatt, 1983; Bezerra y Machado, 2003; Vallejo y Rausher, 2007).

Dado que la época de lluvias abarca periodos cortos (septiembre - noviembre) en la Reserva de Tehuacán-Cuicatlán, los picos de floración de *S. tridynamum* también son cortos y por lo tanto, se requiere aprovechar de manera eficiente la brevedad de la temporada reproductiva para dispersar los gametos masculinos y así fecundar a las flores hermafroditas que se encuentran en antesis dentro del mismo individuo (ya que acepta su propio polen), o en individuos cercanos. La distribución de la flor hermafrodita en la inflorescencia con respecto a las masculinas también está reportada para otras especies, tales como *S. campanulatum*, *S. heteropodium*, *S. melonospermum*, *S. eburneum*, entre otras (Cruden *et al.*, 1983; Anderson y Symon, 1989; Mandujano *et al.*, 1996; Dupont y Mogens, 2006). Aunado a lo anterior, también se sabe que las flores estaminadas requieren menor asignación de recursos que las flores perfectas (Bertin, 1982; Sutherland y Delph, 1984; Solomon, 1986; Barrett *et al.*, 2000) y que las plantas con flores hermafroditas, que frecuentemente se autofecundan, invierten menos en estructuras florales para atraer polinizadores, que las especies que regularmente se entrecruzan (Wyatt, 1983; Charlesworth y Charlesworth, 1987), ya que se pudo corroborar que *S. tridynamum* no ofrece néctar a sus polinizadores, únicamente polen. Aunque pocas especies andromonoicas como *S. stramonifolium*, producen también aromas en los pétalos como atrayentes

(Bezerra y Machado, 2003) o, las especies dioicas *S. dioicum*, *S. cunninghamii* y *S. tudununggae* en las que se asocian los nectarios extraflores con la recompensa ofrecida a himenópteros (Anderson y Symon, 1985).

Andromonoecia

Autores como Solomon (1986), Anderson y Symon (1989), Diggle (1994), Dupont y Mogens (2006) y Miller y Diggle (2007), que han estudiado la condición andromonoica en el género *Solanum*, concuerdan con que los cambios morfológicos que se observan en el gineceo de las flores con estilo corto podrían representar algunas de las alteraciones que acompañan la evolución de la andromonoecia; además de que en cuestiones ecológicas, la producción de mayor número de flores donantes de polen incrementa la capacidad de atracción de los polinizadores a la planta y, por tanto, refuerza la función masculina (Bertin, 1982; Solomon, 1987). En *S. tridynamum* también el gineceo reducido de las flores masculinas, podría representar una estrategia para distribuir más recursos a la producción de estas flores. En el presente trabajo se observó que el gineceo reducido de *S. tridynamum* produce óvulos muy pequeños; sin embargo, no producen semillas y en el campo no se detectaron frutos formados en las flores masculinas. En relación con lo anterior, la presencia de estructuras femeninas vestigiales en las flores funcionalmente masculinas en la especie andromonoica de *S. gardneri*, son consideradas por varios autores como una condición derivada del hermafroditismo (Bertin, 1982; Charlesworth y Morgan, 1991; Hokche y Ramírez, 2006; Rupesh *et al.*, 2011).

Receptividad del estigma

En el morfo hermafrodita de *S. tridynamum* la receptividad del estigma en ambas pruebas se detectó antes de la apertura de las anteras, cuando aún se encuentra en botón previo a la antesis, lo cual representa un grado de dicogamia que reduce la probabilidad de autofecundación cuando las estructuras sexuales se encuentran cercanas (Barrett *et al.*, 2000; Barrett, 2003). A un día de la apertura floral, las anteras ya son dehiscentes, y a lo largo del periodo en antesis, el estigma se acerca gradualmente a las anteras largas y las anteras cortas, debido a la curvatura del estilo, de modo que la distancia del estigma al cuerpo del polinizador es menor y aumentan las probabilidades de deposición de polen externo en el estigma (Charlesworth y Charlesworth, 1990; Endress, 1999; Diggle, 1994; Anderson *et al.*, 2014) o bien podría haber deposición de polen propio y lograrse la formación de semillas por autopolinización, debido a la manera en la cual se expulsa el polen por las vibraciones del polinizador. Lo anterior se demostró en los tratamientos de autopolinización manual, ya que no existen barreras de incompatibilidad, como ocurre en otras especies andromonoicas, tales como *S. xantii*, *S. palinacanthum* y *S. laciniatum* (Buchmann *et al.*, 1977; Coleman y Coleman, 1982; Eguiarte *et al.*, 1992; King y Buchmann, 1996).

Heteranteria, morfología y viabilidad de los granos de polen

La semejanza morfológica (dado que se observan las aberturas colporadas por las cuales sale el tubo polínico) y de viabilidad de los granos de polen de las anteras (cortas y largas) de flores masculinas y hermafroditas de *S. tridynamum* sugiere



que tienen la capacidad de germinar, aunque la viabilidad del polen de las anteras cortas de las hermafroditas es menor. La viabilidad del polen es fundamental para la reproducción sexual, de tal manera que la producción de semillas se da tanto por autofecundación como por entrecruza, como ocurre en *S. rostratum*, *S. carolinense* y *S. vespertilio* (Charlesworth y Charlesworth, 1990; Bezerra y Machado, 2003; Vallejo y O' Brien, 2006).

Tal como se ha documentado para *S. rostratum*, *S. carolinense* y *S. vespertilio*, la presencia de heteranteria no se relaciona con algún grado de esterilidad masculina producida por algún tipo de anteras que pudiera representar una división de trabajo, donde el polen de las anteras cortas es ofrecido como recompensa al polinizador y el de las anteras largas para polinizar (Bowers, 1975; Anderson y Connolly, 2003; González, 2011; Anderson *et al.*, 2014). Sin embargo la condición heterantérica en *S. tridynamum* parece estar actuando como una estrategia que promueve la deposición del polen (proveniente de flores masculinas) en sitios estratégicos del polinizador, que es entregado cuando el polinizador hace contacto con el estigma de la flor hermafrodita, del mismo u otro individuo, al mismo tiempo que el polinizador toma el polen de anteras cortas como recompensa.

Sistema de cruza y sistema de apareamiento

Los resultados que se obtuvieron con los tratamientos de polinizaciones controladas para identificar el sistema de cruza de forma directa en *S. tridynamum* indican que esta especie tiene un sistema de cruza mixto y sugieren que la

especie es autocompatible porque hubo formación de semillas, tanto por autocruza manual como por entrecruza (natural y manual). Debido a que en el tratamiento de autopolinización natural no hubo formación de frutos y, por tanto, tampoco de semillas, se infiere que es necesaria la presencia del polinizador para que los granos de polen se expulsen, se transporten y se depositen en el estigma de otra flor de esa misma (geitonogamia) u otra planta (xenogamia). Se ha reportado la acción de los polinizadores para todos estos eventos para otras especies de *Solanum* (Buchmann y Cane, 1989).

Aunado a lo anterior, la relación P/O que se obtuvo indica que la especie presenta un sistema de apareamiento de xenogamia facultativa. Por lo tanto, no existen mecanismos de autoincompatibilidad y tiende prioritariamente a la entrecruza pero requiere de un polinizador (Cruden *et al.*, 1983), como se ha documentado en otras especies de *Solanum* (Buchmann *et al.*, 1977; Anderson y Connolly, 2003; Becerra y Machado, 2003; Anderson *et al.*, 2014). La alta producción de polen concuerda con lo que generalmente se reporta para las especies xenógamas facultativas, que en comparación con las que se autopolinizan es mucho mayor, además de que presentan una serie de características que les permiten la autopolinización, pero ésta se liga de manera directa a la presencia de un polinizador, ya sea por animales en general o por otros factores, tales como el viento (Cruden, 1977). Este fenómeno en *S. tridynamum* sucede en adición a la entrecruza, por lo cual podría estar influyendo sobre la evolución floral variando el diseño y la asignación de recursos para la expresión de la función masculina o femenina (Charlesworth y Morgan, 1991;



Vallejo y Rausher, 2007), que repercute en el éxito reproductivo de la especie. El sistema de apareamiento de xenogamia facultativa, en *S. tridynamum*, se debe a que la flor hermafrodita está expuesta al polen de un número considerable de flores estaminadas, dentro del mismo individuo y de la población, y, por lo tanto, es imposible afirmar completamente que sólo se limite al número de granos de polen producidos por la flor hermafrodita, para la formación de semillas, para lo cual se estima el número de flores masculinas dentro de la inflorescencia. Incluso, para hablar de una estimación más precisa, se tomaría en cuenta el número de flores masculinas en la inflorescencia y la relación del número de inflorescencias con respecto al número de hermafroditas en etapa reproductivas dentro del mismo individuo, o bien, aplicar el índice de limitación por polen que de acuerdo con la disponibilidad del mismo, repercute en la reducción del fruto y por tanto de semillas (Cruden, 1977; Rupesh *et al.*, 2011). El incremento en la relación P/O asociado con la andromonoecia se interpreta como un sistema favorecido, cuando los sistemas de polinización requieren grandes cantidades de polen (Cruden, 1977; Cruden *et al.*, 1983). Por ejemplo, es posible considerar como una respuesta a la polinización entomófila, pues parte del polen se pierde con el movimiento de los polinizadores al visitar la flor, donde además, la planta ofrece polen como única recompensa (Solomon, 1987; Anderson, 1989; Lloyd y Barrett, 1996; Luo *et al.*, 2008), como sucede en *S. tridynamum*.

La heteranteria es una estrategia que promueve que los visitantes florales, al extraer el polen, tengan una mayor posibilidad de contacto con la superficie estigmática en la flor hermafrodita, disminuya la autopolinización y en



consecuencia los efectos negativos de la endogamia (Charlesworth y Charlesworth, 1987; Rupesh *et al.*, 2011). Sin embargo, con los datos que aquí se obtuvieron en *S. tridynamum*, no se descarta que haya formación de frutos por autopolinización, debido a que no presenta autoincompatibilidad, pero se confirma que para que suceda, es necesaria la presencia del polinizador. En este caso, la progenie procedente de la autopolinización representaría el mantenimiento del genotipo parental, que en la mayoría de las ocasiones se encuentra bien adaptado a las condiciones ecológicas prevalecientes (Barrett, 2003). Se sugiere que la autocompatibilidad favorece a las especies que la presentan (Wyatt, 1983), pues se dispersan exitosamente a distancias largas y colonizan nuevos sitios, lo cual favorece el establecimiento de la población (Grime, 1982). Sin embargo, a lo largo de la evolución de las plantas, han ido apareciendo mecanismos de reproducción, que favorecen la xenogamia y excluyen parcialmente la autogamia; por ejemplo, existen especies en donde los gametos masculinos y femeninos se desarrollan en flores diferentes de una misma planta o bien, maduran asincrónicamente, ya sea el androceo (protandria) o el gineceo (protoginia) (Bawa y Beach, 1981; Barrett, 2002b). Lo anterior representa una gran ventaja sobre los sistemas autogámicos, ya que la progenie de polinización cruzada posee la recombinación genética, que mantiene una mayor variación útil ante los diversos cambios ambientales y ecológicos (Mandujano, 1996; Miller y Diggle, 2007).

Visitantes florales

Las flores de *S. tridynamum* tienen atributos característicos de las flores polinizadas por vibración, descrita por Buchman y Cane (1989), tales como la



antesis diurna, inflorescencias más o menos densas, ornamentación de la corola con patrones visibles coloridos, estambres llamativos asociadas a heteranteria, dehiscencia poricida y carencia de néctar (Vallejo *et al.*, 2010). Son flores que carecen de néctar, por lo que la única recompensa floral que ofrecen es el polen, que se recoge exclusivamente por abejas hembras que utilizan el recurso para alimento de sus larvas (Buchmann *et al.*, 1977; Solomon, 1987; Vallejo *et al.*, 2009; Rupesh *et al.*, 2011). La demanda de estos animales por las flores que ofrecen este tipo de función, ha permitido la evolución y la permanencia de dichos atributos florales (Cruden *et al.*, 1983; Wyatt, 1983; Anderson y Connolly, 2003).

En este estudio se observó que, el despliegue floral en la población estudiada atrae las visitas de los polinizadores, facilitando el forrajeo, acarreo y la deposición del polen sobre ellos, en sitios estratégicos sobre su tórax, con el cual hará contacto en algún momento con el estigma de la flor hermafrodita para llevar a cabo la polinización. La abeja es su polinizador y tiende a visitar diferentes flores dentro del mismo u otro individuo de la población. Polinizan mientras forrajean y durante la dehiscencia poricida, las anteras liberan el polen que es depositado en el cuerpo del polinizador. Lo anterior concuerda con lo descrito para otras especies del género *Solanum*, sosteniendo la hipótesis de que las abejas son los principales agentes polinizadores debido a que tienen mayor probabilidad de remover polen y llenar sus cuerpos de éste, mientras que al mismo tiempo se les recompensa con polen para la alimentación de sus larvas (Bowers, 1975; Harder y Barclay, 1994; Anderson y Connolly, 2003; Bezerra y Machado, 2003; Levin *et al.*, 2006; Rupesh *et al.*, 2011).

Adicionalmente, debido a que al visitar a otro individuo o flor, la abeja toca el estigma con la zona del cuerpo donde lleva polen, convirtiéndose en los polinizadores más efectivos (Bowers, 1975; Solomon, 1987; Buchmann y Cane, 1989; Harder y Barclay, 1994; King y Buchmann, 1996; Becerra y Machado, 2003; Luo *et al.*, 2008). Este sistema de polinización favorece en mayor grado al entrecruzamiento, pero en un hábitat extremo podrían estar ausentes los agentes polinizadores y en estos casos es factible que se favorezca la condición de autocruza, por lo tanto la habilidad de autofecundarse es un carácter bajo selección y las fuerzas selectivas responsables de la evolución de la autogamia dependerán en gran medida de la forma particular de polinización (Buchmann *et al.*, 1977; Dafni, 1992; Kearns e Inouye, 1993; Dupont y Mogens, 2006).

En cuanto a los visitantes florales, la florivoría sobre *S. tridynamum* por parte de individuos del orden Coleoptera, podría implicar la alta proporción de flores masculinas con respecto a la flor hermafrodita en las inflorescencias, puesto que hay pérdida de polen debido a que consumen anteras y sus movimientos no producen la salida del mismo, por lo tanto una mayor cantidad de flores masculinas reduce la pérdida de polen disponible para la polinización (Wyatt, 1983; Lloyd y Barrett, 1996; Strauss, 1996). Estos eventos se relacionan con la hipótesis de *saciedad del depredador*, pues menciona que la cantidad de presas, que en este caso son las anteras de las flores, excede el número potencial que puede consumir una densidad fija de depredadores y cuando esto sucede, la presa sobrevive y se sigue reproduciendo de manera que se recupera el número de individuos (Sweeney y Vannote, 1982).



Por otro lado, la presencia de las hormigas no puede ser explicada, pero sugiere la existencia de posibles nectarios extraflores en ambos morfos, pues en especies dioicas como *S. dioicum*, *S. cunninghamii* y *S. tudununggae* la presencia de las hormigas se relaciona directamente con el descubrimiento de nectarios extraflorales en la parte abaxial de los pétalos y sépalos durante la fase de botón, en las axilas y parte abaxial de las hojas (Anderson y Symon, 1985).



IX. CONCLUSIONES

Solanum tridynamum es una especie andromonoica, heterantérica y con dehiscencia poricida. La mayor producción de flores masculinas es constante, con respecto a las hermafroditas, lo cual es una ventaja para la especie, ya que además de atraer polinizadores debido al color y mayor tamaño de las anteras, aunado con el incremento en la cantidad de polen, se garantiza la producción de semillas, además de que, se contrarrestan los efectos de costos ocasionados por la florivoría.

La heteranteria se relaciona con atracción y recompensa, constituyendo una estrategia asociada a los sistemas reproductivos que promueven la polinización cruzada y evitan los efectos negativos de la endogamia.

Los granos de polen que producen ambos morfos sexuales y los tipos de antera (larga y corta), no presentan diferencias morfológicas, por lo que son funcionales, con capaces de fecundar y, por lo tanto, de formar semillas. La formación de semillas obedece a un proceso sexual, en el cual se implica la funcionalidad de los órganos sexuales.

La especie de estudio no presenta barreras de incompatibilidad y mantiene un sistema de apareamiento xenógamo facultativo, que tiende a la entrecruza, pero es evidente que se requiere de un polinizador especializado para la salida de los granos de polen a través de las vibraciones que éste emite. El polinizador efectivo es una abeja solitaria pendiente de ser identificada a nivel de especie.



Se considera que la producción de semillas es un indicador de una polinización exitosa, por lo que se vuelve necesario confirmar su viabilidad, para lo cual la prueba definitiva es determinar la tasa de germinación, estudio que se sugiere llevar a cabo en análisis posteriores.

X. BIBLIOGRAFÍA

- Anderson J. G. y B. A. Connolly. 2003. Functional significance of the androecium in staminate and hermaphroditic flowers of *Solanum carolinense* (Solanaceae). *Plant Systematics and Evolution* 240: 235-243.
- Anderson J. G. y D. E. Symon. 1985. Extrafloral nectaries in *Solanum*. *Biotropica* 17(1): 40-45.
- Anderson J. G. y D. E. Symon. 1989. Functional dioecy and andromonoecy in *Solanum*. *Evolution* 43(1): 204-219.
- Anderson J. G., G. Bernadello y A. S. Guerra. 2014. Reproductive biology of *Solanum vespertilio* (Solanaceae), a zygomorphic, heterantherous, enantiostylous, and andromonoecious rare Canary Islands endemic. *Plant Systematics and Evolution*. 1-16.
- Ángel C. C., G. Parra, R. Ospina y C. D. Melo. 2011. Biología floral y reproductiva de la Gulupa *Passiflora edulis* f. *edulis* Sims. *Caldasia* 33(2): 433-451.
- Barrett S. C. H. 2002a. Sexual interference of the floral kind. *Heredity* 88: 154-159.



- Barrett S. C. H. 2002b. The evolution of plant sexual diversity. *Nature* 3: 274-284.
- Barrett S. C. H. 2003. Mating strategies in flowering plants: the outcrossing-selfing paradigm and beyond. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London* 358:991-1004.
- Barrett S. C. H., L. Jesson y A. Baker. 2000. The Evolution and function of stylar polymorphisms in flowering plants. *Annals of Botany* 85 (suplemento A): 253-265.
- Bateman A. J. 1948. Intra-sexual selection in *Drosophila*. *Heredity* 2(3): 349–368.
- Bawa K.S. y J.H. Beach.1981. Evolution of sexual systems in flowering plants. *Annals of the Missouri Botanical Garden* 68(2):254-274.
- Bertin R. I. 1982. The evolution and maintenance of andromonoecy. *Evolutionary Theory* 6: 25-32.
- Bezerra E. L. e I. C. Machado. 2003. Floral biology and pollination system of *Solanum stramonifolium* Jacq. (Solanaceae) in an Atlantic Forest remnant in Pernambuco. *Acta Botanica de Brasil* 17(2): 77-81.
- Bredemeijer M. M. G. 1984. The role of peroxidases in pistil-pollen interactions. *Theoretical and applied genetics* 68: 193-206.
- Bowers K. A. W. 1975. The pollination ecology of *Solanum rostratum* (Solanaceae). *American Journal of Botany* 62: 633-638.
- Buchmann S. L. y J. H. Cane. 1989. Bees assess pollen returns while sonicating *Solanum* flowers. *Oecologia* 81: 289–294.



- Buchmann S. L., Jones C. E., y L. J. Colin. 1977. Vibratile pollination of *Solanum douglasii* and *Solanum xantii* (Solanaceae) in Southern California. *The Wasmann Journal Biology* 35:1-25.
- Charlesworth P. y B. Charlesworth. 1987. Inbreeding depression and its evolutionary consequences. *Annual Review of Ecology and Systematics* 18: 237-268.
- Charlesworth D. y B. Charlesworth. 1990. Inbreeding depression with heterozygote advantage and its effect on selection for modifiers changing the outcrossing rate. *Evolution* 44: 870–888.
- Charlesworth D. y M.T. Morgan. 1991. Allocation of resources to sex functions in flowering plants. *Philosophical Transactions Serie B* 332: 91-102.
- Coleman J. R. y M. A. Coleman. 1982. Reproductive biology on andromonoecious *Solanum* (*S. palinacanthum* Dunal). *Biotropica* 14(1): 69-75.
- Cruden R. W. 1977. Pollen/ovule ratios: a conservative indicator of breeding systems in flowering plants. *Evolution* 31:32-46.
- Cruden R. W., S. M. Hermann y S. Peterson. 1983. Patterns of nectar production and plant-pollinator coevolution. En: Bentley B. y T. Elias (eds.). *The biology of nectaries*. Columbia. University Press. Nueva York.
- Cuevas A. C., O. Vargas y A. Rodríguez. 2008. Solanaceae diversity in the state of Jalisco, México. *Revista Mexicana de Biodiversidad* 79: 67-79.



- Dafni A. 1992. *Pollination Ecology*. Oxford University Press. Reino Unido. 272 p.
- Diggle P. K. 1994. The expression of andromonoecy in *Solanum hirtum* (Solanaceae): phenotypic plasticity and ontogenetic contingency. *American Journal of Botany* 81: 1354–1365.
- Dupont L. Y. y J. Mogens. 2006. Andromonoecy and buzz pollination in *Solanum* species (Solanaceae) endemic to the Canary Islands. *Anales del Jardín Botánico de Madrid* 63(1): 63-66.
- Eguiarte E. L., J. F. Núñez, C. Domínguez y C. Cordero. 1992. Biología evolutiva de la reproducción en plantas. *Ciencias* 6: 69-86.
- Endress K. P. 1999. Symmetry in flower: diversity and evolution. *International Journal of Plant Sciences* 160(6): S3-S23.
- González B. A. 2011. Morfología del androceo de *Solanum rostratum* (Solanaceae) y presentación de polen en anteras dimórficas. Tesis de Licenciatura (Biólogo). Facultad de Ciencias. Universidad Nacional Autónoma de México. México, D.F. 60 pp.
- Grime J.P. 1982. Estrategias de adaptación de las plantas y procesos que controlan la vegetación. Limusa, México.
- Harder L. D y R. M. Barclay. 1994. The functional significance of poricidal anthers and buzz pollination: controlled pollen removal from *Dodecatheon*. *Functional Ecology* 8(4): 509-517.



- Hokche D. O. y N. Ramírez. 2006. Biología reproductiva y asignación de biomasa floral en *Solanum gardneri* Sendth. (Solanaceae): una especie andromonoica. *Acta Botánica Venezolana* 29(1): 69-88.
- Kearns C.A. y D. W. Inouye. 1993. Techniques for pollination biologists. University Press of Colorado, Niwot. 583 p.
- King M. J. y S. L. Buchmann. 1996. Sonication dispensing of pollen from *Solanum laciniatum* flowers. *Functional Ecology* 10: 449–456.
- Knapp S., V. Persson y S. Blackmore. 1998. Pollen morphology and functional dioecy in *Solanum* (Solanaceae). *Plant Systematics and Evolution* 210:113–139.
- Levin A. R., N. R. Myers y L. Bohs. 2006. Phylogenetic relationships among the “spiny solanums” (*Solanum* Subgenus *Leptostemonum*, Solanaceae). *American Journal of Botany* 93(1): 157-169.
- Lloyd D. G. y S. C. H. Barrett. 1996. Floral biology: studies on floral evolution in animal-pollinated plants. Thompson Publishing. Nueva York. 424 pp.
- López M., J. Márquez y G. Murguía. 2005. Técnicas para el desarrollo en angiospermas. 2ª. ed. Las prensas de Ciencias. Universidad Nacional Autónoma de México. México D. F. 178 pp.
- Luo Z., D. Zhang y S. S. Renner. 2008. Why two kinds of stamens in buzz-pollinated flowers? Experimental support for Darwin’s division-of-labor hypothesis. *Functional Ecology* 22: 794-800.



- Mandujano M. C., C. Montaña y L. E. Eguiarte 1996. Reproductive ecology and inbreeding depression in *Opuntia rastrera* (Cactaceae) in the Chihuahuan Desert: Why are sexually derived recruitments so rare? *American Journal of Botany* 83:63-70.
- McInnis M. S., D. C. Emery, R. Porter, R. Desikan, J. T. Hancock y S. J. Hiscock. 2006. The role of stigma peroxidases in flowering plants: insights from further characterization of a stigma-specific peroxidase (SSP) from *Senecio squalidus* (Asteraceae). *Journal of Experimental Botany* 57(8): 1835-1846.
- Miller J. S. y P. K. Diggle. 2007. Correlated evolution of fruit size and sexual expression in andromonoecious *Solanum* sections *Acanthophora* and *Lasiocarpa* (Solanaceae). *American Journal of Botany* 94:1706–1715.
- Nee M. 1993. Solanaceae II (III). En: Sosa V., L. Cabrera, T. Duncan, M. T. Mejía-Saulés, N. P. Moreno, M. Nee, L. I. Nevling, J. Rzedowski, B. G. Schubert y A. Gómez-Pompa (eds.). Flora de Veracruz. Fascículo 72. Instituto de Ecología. Xalapa, Veracruz, México. p: 107-158.
- Olmstead G. R. y J. D. Palmer. 1997. Implications for the phylogeny, classification, and biogeography of *Solanum* from cpDNA restriction site variation. *Systematic Botany* 22(1): 19-29.
- Ornduff R. 1969. Reproductive biology in relation to systematics. *Taxon* 18: 121-133.
- Orozco G. y S. Vázquez. 2013. Sistemas de reproducción sexual. En: Márquez J., M. Collazo, M. Martínez, A. Orozco y S. Vázquez (Eds).



Biología de Angiospermas. Universidad Nacional Autónoma de México. México, D.F. pp: 158 – 168.

- Osborn M. M., P. G. Kevan y M. A. Lane. 1988. Pollination biology of *Opuntia polyacantha* and *Opuntia phaeacantha* (Cactaceae) in southern Colorado. *Plant Systematics and Evolution* 159: 85-94.
- Podolsky D. R. 1993. Evolution of flower dimorphism: How effective is pollen dispersal by “male” flowers? *Ecology* 74(8): 2255-2260.
- Rupesh R. K., S. R. Scanlon, M. C. Mescher, C. M. De Moraes y A. G. Stephenson. 2011. Inbreeding Depression in *Solanum carolinense* (Solanaceae) under Field Conditions and Implications for Mating System Evolution. *PLoS ONE* 6(12): e28459.
- Solomon B.P. 1986. Sexual allocation and andromonoecy: resource investment in male and hermaphrodite flowers of *Solanum carolinense* (Solanaceae). *American Journal of Botany* 73: 1215-1221.
- Solomon B. P. 1987. The role of male flowers in *Solanum carolinense*: pollen donors or pollinator attractors? *Evolution Trends Plants* 1: 89–93.
- Strauss S. Y. 1996. Floral herbivory affects floral characters and plant attractiveness to pollinators: implications for male and female plant fitness. *The American Naturalist* 147 (6): 1098-1107.
- Sutherland S. y L. F. Delph. 1984. On the importance of male fitness in plants: Patterns of fruit-set. *Ecology* 65: 1093-1104.
- Sweeney W. B. y R. L. Vannote. 1982. Population synchrony in mayflies: a predator satiation hypothesis. *Evolution* 36(4): 810-821.

- Tang L. y S. Huang. 2007. Evidence for reductions in floral attractants with increased selfing rates in two heterandrous species. *New Phytologist* 175: 588-595.
- Vallejo M. M. y H. O'Brien. 2006. Correlated evolution of self-incompatibility and clonal reproduction in *Solanum* (Solanaceae). *New Phytologist* 173: 415-421.
- Vallejo M. M. y D. M. Rausher. 2007. The role of male flowers in andromonoecious species: energetic costs and siring success in *Solanum carolinense* L. *The Society for the Study of Evolution* 61(2): 404-412.
- Vallejo M. M., J. S. Manson, J. D. Thomson y S. C. Barrett. 2009. Division of labor within flowers: heteranthy a floral strategy to reconcile contrasting pollen fates. *Journal of Evolutionary Biology* 22(4): 828-839.
- Vallejo M. M., E. M. Da Silva, R. D. Sargent y S. C. H. Barrett. 2010. Trait correlates and functional significance of heteranthy in flowering plants. *New Phytologist* 188: 418–25.
- Wetzstein H. Y., R. Nadav, E. Wilkins y A. M. Pinheiro. 2011. A morphological and histological characterization of bisexual and male flower types in pomegranate. *Journal of the American Society for Horticultural Science* 136 (2): 83-92.
- Wyatt, R. 1983. Pollinator-plant interactions and the evolution of breeding systems. En: Real L. (ed.). *Pollination biology*. Academic Press, U.S.A. pp: 51-95.

