



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA
DE MÉXICO

FACULTAD DE CIENCIAS

Estrategia reproductiva en *Cologania biloba* (Lindl.)
Nicholson (Fabaceae)

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO
DE:

BIÓLOGA

P R E S E N T A:

MARIANNA FERREIRA GÓMEZ



DIRECTORA DE TESIS:

DRA. KARINA JIMÉNEZ DURÁN

2018

CIUDAD UNIVERSITARIA, CDMX



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



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.

HOJA DE DATOS DEL JURADO

1. Datos del alumno

Ferreira
Gomez
Marianna
55 12 59 42 11
Universidad Nacional Autónoma de México
Facultad de Ciencias
Biología
311093179

2. Datos del tutor

Dra.
Karina
Jiménez
Durán

3. Datos sinodal 1

Dra.
Guadalupe Judith
Márquez
Guzmán

4. Datos sinodal 2

Dr.
Alfonso Octavio
Delgado
Salinas

5. Datos sinodal 3

Dra.
Ana Angélica
Cervantes
Maldonado

6. Datos sinodal 4

Dr.
Javier Andrés
Juárez
Díaz

7. Datos del trabajo escrito

Estrategia reproductiva en *Cologania biloba* (Lindl.) Nicholson (Fabaceae)
67
2018

AGRADECIMIENTOS ACADÉMICOS

Agradezco a la SEREPSA quién otorgó la autorización para trabajar con la población de *Cologania biloba* en la REPSA.

A la M. en C. M. Berenit Mendoza Garfías por apoyarme en el procesamiento y observación de las muestras en MEB.

A la M. en FP. Ana Isabel Bieler Antoliín por apoyarme en la toma de microfotografías.

A la M. en B. María Eugenia Muñiz Díaz de León por apoyarme en la germinación y observación de las semillas.

A las profesoras de taller (Mague, Sonia, Paty) que con sus comentarios me ayudaron a mejorar aspectos de esta tesis y a tener un crecimiento académico.

A la Red Universitaria de Observaciones Atmosféricas (RUOA) por facilitarme datos de precipitación necesarios para la integración de este trabajo.

A los integrantes de jurado Dra. Judith, Dra. Ana Angélica, Dr. Javier por los comentarios y la revisión que aportaron para la mejora de esta tesis.

Al Dr. Ulises Yunuén Rosas López por apoyarme en muchos aspectos y contribuir a mi crecimiento profesional y personal.

A mi cotutor el Dr. Alfonso Delgado Salinas por sus comentarios, discusiones, continuo apoyo y por su conocimiento aportado a la realización de la tesis.

A mi tutora la Dra. Karina Jiménez Durán quien me ha demostrado su confianza, amistad y me ha guiado durante la realización de este trabajo, además de ser un modelo a seguir. Muchas gracias Kary por todo el apoyo y confianza que me has tenido.

AGRADECIMIENTOS PERSONALES

Agradezco y dedico esta tesis a mis padres, Verónica y José, que gracias a todo el amor, apoyo, valores y libertad que me han brindado puedo realizar mis sueños por muy grandes que sean. A mi abuelita Chitas por darme mucho amor, apoyo, comprensión y hacerme muy feliz.

A mi hermano más que primo Daniel por ser siempre un pilar en mi vida y darme esa palabra de aliento cuando la necesito, te amo muchísimo.

A mis tíos Esther, Tony y Arturo por animarme, creer en mí y recordarme lo mucho que me apoyan siempre.

A mis abuelos Javier y Beba por todo el apoyo, amor y valores que me han enseñado.

A Fernanda (Francis) por ser la mejor amiga, por compartir la carrera conmigo, por ser mi confidente, por siempre estar ahí cuando la necesito, por creer en mí, por apoyarme, por estar orgullosa de mí, por todo, eres lo mejor que me dejó la carrera.

A Rubi por siempre ser tan amorosa, linda, comprensiva, por saber escucharme, por ser como eres, gracias por todo.

A Chezz por ser mi amiga la más señora, que me cuida, se preocupa, y estar al pendiente de mí, muchas gracias pequeño ser de luz. J' aime ta compagnie.

A Rodrigo por compartir muchos momentos inolvidables, por nunca juzgarme, por seguirme a donde vaya, por ayudarme, porque siempre aprendo algo nuevo cuando platicamos, gracias por tanto.

A Jorge por entender mi humor, por escucharme, por preocuparte, por siempre ayudarme a ver la realidad.

A mis amigos Diego, Carito, Sandy Vera, Dianita, porque hicieron mis días más divertidos y por todas las cosas buenas que compartimos y lo que me enseñaron. Los quiero.

A Gloria por las risas, el bullying, el chisme, el saber escuchar, la amistad y los Starbucks gratis. Ohana.

A mis hermanos (Clan Acalmani) Marco, Claudia, Raúl, Alan, Liz, Iván y Xav por todos los momentos compartidos, por todo el bullying, por todas las risas, por todos los enojos, por todas las lágrimas, por todas las fiestas, por todos los campamentos, son la familia que elegí, los quiero mucho.

A Angélica porque aunque estemos lejos, siempre estás conmigo, por apoyarnos y cuidarnos desde la prepa.

“Y lleva adentro, en fugaces células que a cada instante mueren por millones, todo lo que eres: tu pensamiento, tu memoria, tus palabras, tus ambiciones, tus deseos, tus miedos, tus miradas que a golpes de luz erigen la apariencia del mundo, tu alejamiento o entendimiento de lo que irrealmente llamamos realidad.”

José Emilio Pacheco

ÍNDICE

1. RESUMEN	9
2. INTRODUCCIÓN	10
3. ANTECEDENTES	11
3.1. Cleistogamia	11
3.2. Cleistogamia en la familia Fabaceae	13
4. OBJETIVOS	16
4.1. General	16
4.2. Particulares	16
5. MATERIALES Y MÉTODOS	16
5.1. Sitio de estudio	16
5.2. <i>Cologania biloba</i> (Lindl.) Nicholson	17
5.3. Fenología	18
5.4. Morfología Floral	21
5.5. Comparación de óvulos, granos de polen, frutos y semillas	24
5.5.1. Óvulos	24
5.5.2. Granos de polen	24
5.5.3. Frutos	25
5.5.4. Semillas	26
5.6. Proporción polen-óvulo	26
5.7. Germinación de semillas	27
6. RESULTADOS	27
6.1. Fenología	27
6.2. Proporción de flores casmógamas y flores cleistógamas	31
6.3. Morfología floral	34
6.3.1. Flores casmógamas	34
6.3.2. Flores cleistógamas	41
6.4. Comparación de número de óvulos, granos de polen, frutos y semillas	47
6.4.1. Número de óvulos	47
6.4.2. Granos de polen	47
6.4.3. Frutos	47

6.4.4.Semillas	48
6.5. Proporción polen-óvulo	50
6.6. Germinación de semillas.....	51
7. DISCUSIÓN	54
7.1. Fenología.....	54
7.2. Morfología.....	56
7.3. Comparación de óvulos, granos de polen, frutos y semillas.....	58
7.4. Germinación de semillas casmógamas y cleistógamas	59
7.5. Implicaciones de la cleistogamia en <i>C. biloba</i>	61
8. CONCLUSIONES	63
9. PERSPECTIVAS.....	64
10. BIBLIOGRAFÍA	64

RESUMEN

La familia Fabaceae tiene una distribución cosmopolita y se conocen aproximadamente 19,000 especies. En esta familia se presentan diversas adaptaciones reproductivas, tales como la cleistogamia. La cleistogamia es un sistema de reproducción definido por la producción de flores sin antesis, la reducción de los verticilos florales y la producción de frutos y semillas por medio de la autopolinización. Además de la producción de flores casmógamas, flores que presentan antesis. A pesar de ser un fenómeno presente en varias familias de las angiospermas, existen pocos trabajos sobre especies cleistógamas que describan las características fenológicas, morfológicas y reproductivas. El objetivo de este trabajo es describir la estrategia reproductiva de *Cologania biloba* (Fabaceae), este estudio es el primero en describir la cleistogamia para el género. El estudio se realizó en la población ubicada en la Reserva Ecológica del Pedregal de San Ángel. *C. biloba* presenta cleistogamia verdadera, lo que implica que las flores casmógamas y cleistógamas tienen diferencias morfológicas en la corola, el cáliz, las anteras y el ovario. La población presentó una proporción mayor de flores cleistógamas en 2016 y una proporción igual de flores casmógamas y cleistógamas en 2017. También se encontró una diferencia estadísticamente significativa en la producción de óvulos, granos de polen y semillas entre los dos tipos florales. Las flores casmógamas presentaron una cleistogamia pre-antesis, ya que las anteras son dehiscentes en botones florales y flores en pre-antesis. Se sugiere que la población se comporta como cleistógama; con base en lo cual se propone que las flores casmógamas presentan una polinización cruzada reducida o nula.

INTRODUCCIÓN

La familia Fabaceae es la tercera familia más grande dentro de las angiospermas, después de Orchidaceae y Asteraceae. Tiene una distribución cosmopolita y se conocen 770 géneros y aproximadamente 19500 especies (LPWG, 2017). En México se reportan 139 géneros y 1850 especies aproximadamente (Sousa *et al.*, 2004). En esta familia se presentan diversas estrategias reproductivas, tales como la cleistogamia (Turner, 1992). La cleistogamia es un sistema de reproducción definido por la producción de flores sin antesis, una reducción en los verticilos florales y la producción de frutos y semillas por medio de la autopolinización, lo cual implica un menor gasto de energía para la planta. Las plantas cleistógamas normalmente presentan flores con antesis (casmógamas) para evitar la endogamia; sin embargo, la proporción de flores casmógamas y cleistógamas que se producen dependerá de las condiciones ambientales y del estrés al que sea sometido el individuo. Se proponen varios factores por los cuales la cleistogamia evolucionó en 56 familias de angiospermas, tales como los ambientes heterogéneos, la depresión por endogamia, geitonogamia y la dispersión diferencial de las semillas (Lu, 2002; Culley y Klooster, 2007).

El género *Cologania* se distribuye únicamente en el continente americano desde el suroeste de Estados Unidos hasta Argentina. La gran variabilidad entre especies que se presentan en este género posiblemente se explique por la hibridación, además todas las especies de este género presentan cleistogamia (Turner, 1992). *Cologania biloba* se distribuye mayoritariamente en el centro de México, principalmente en bosques de pino-encino, bosques de *Quercus* y matorrales xerófilos, en suelos calcáreos, arcillosos, roca volcánica, y de litosol, entre los 1500 y los 2700 msnm (Flores, 2013). En la Reserva

Ecológica del Pedregal de San Ángel (REPSA) se encuentran 15 géneros de la familia Fabaceae, entre ellos se encuentra el género *Cologania* representado por dos especies *C. brissonetti* y *C. biloba*, las cuales contribuyen a la riqueza florística del lugar (Valiente-Banuet y Luna, 1990; Castillo-Argüero *et al.*, 2007). Conocer la estrategia reproductiva de esta especie permitirá tener más conocimiento sobre su éxito reproductivo en este ambiente y conocer más de su fenología, morfología y anatomía.

ANTECEDENTES

Cleistogamia

Gallardo *et al.* (1993) mencionan que el término cleistogamia fue propuesto por Kunth en 1867 para referirse a las flores que no presentan antesis y aun así forman frutos, es decir se autopolinizan. Sin embargo, la cleistogamia casi siempre implica la producción de dos tipos de flores en una misma población o planta: las casmógamas (con antesis) y las cleistógamas (sin antesis). Darwin (1877) sugirió que las flores cleistógamas son flores casmógamas que sufrieron un arresto durante el desarrollo por condiciones ambientales desfavorables. Por otro lado, Culley y Klooster (2007) describen tres tipos de cleistogamia: 1) la cleistogamia verdadera, también conocida como cleistogamia dimórfica, donde las flores casmógamas y cleistógamas se forman mediante vías de desarrollo diferentes, por lo que la cleistogamia está determinada genéticamente y existen diferencias morfológicas evidentes entre los dos tipos florales; 2) la cleistogamia completa donde el individuo solamente produce flores cleistógamas y 3) la cleistogamia inducida, también conocida como pseudocleistogamia, la cual es el arresto del desarrollo de las flores casmógamas, hace que una proporción no presente antesis

dando como resultado flores casmógamas y pseudocleistogamas que son morfológicamente iguales. La cleistogamia es un fenómeno ampliamente distribuido en las angiospermas, se presenta en 56 familias y 287 especies aproximadamente, apareciendo varias veces de manera independiente (Culley y Klooster, 2007). Entre las familias con más géneros de especies cleistógamas destaca la familia Fabaceae (Cuadro 1).

Cuadro 1. Listado de familias con más géneros que presentan cleistogamia (Tomado de Culley y Klooster, 2007).

Familia	Número de géneros con cleistogamia
Poaceae	88
Fabaceae	19
Orchidaceae	16
Scrophulariaceae	11
Acanthaceae	9
Commelinaceae	5
Brassicaceae	5
Campanulaceae	4
Asteraceae	4
Lamiaceae	4

Existen características morfológicas asociadas a las flores casmógamas y a las flores cleistógamas. Las flores cleistógamas presentan la corola y el androceo más reducidos que las otras piezas florales. Además, en algunos casos hay una disminución en el número de óvulos, y no ofrecen recompensas florales como néctar y aroma, también producen una menor cantidad de granos de polen, que son menos viables y presentan un menor tamaño, y tienen una pared más delgada que el polen de una flor casmógama. En algunos casos, las anteras están espacialmente más cercanas al estigma, ya que algunas veces las anteras no presentan dehiscencia y el tubo polínico

es capaz de atravesar la pared de la antera para llegar al estigma (Hempel, 2004). Las flores casmógamas, en cambio, presentan una corola con colores atractivos a los polinizadores, una producción mayor de polen, recompensas florales, como néctar y/o aroma, y no presentan ningún tipo de reducción en sus piezas florales. Además de las flores casmógamas y cleistógamas en algunos casos se presenta un estadio intermedio entre éstas, las flores pseudocleistogamas, las cuales no presentan antesis pero tienen la morfología de una flor casmógama (Lord, 1981).

Cleistogamia en la familia Fabaceae

En la familia Fabaceae existen especies anficárpicas, que se caracterizan por el desarrollo de flores y frutos subterráneos, tales como *Amphicapaea bracteata*, *Trifolium polymorphum*, *Lathyrus amphicarpos* y *Vicia amphicarpa*, que presentan flores cleistógamas subterráneas, flores cleistógamas aéreas y flores casmógamas aéreas. En estas especies se encuentran claras diferencias morfológicas entre las flores casmógamas y las cleistógamas, entre ellas, pétalos incoloros y una reducción de partes florales de la corola, un cáliz engrosado en forma de capuchón, una reducción en el número de anteras y el desarrollo de éstas se da mediante un íntimo contacto con el estigma; sin embargo, existen diferencias entre las semillas producidas por las flores cleistógamas subterráneas de las aéreas, como el peso, el tamaño y la cantidad de semillas producidas, ya que las especies anficárpicas tienden a favorecer la producción de frutos subterráneos (Trapp y Hendrix, 1988; Speroni e Izaguirre, 2003). Hay 19 géneros de la familia Fabaceae que presentan diferentes tipos de cleistogamia, como por ejemplo *Cologania*, *Arachis*, *Astragalus*, *Argyrolobium*, *Centrosema*, *Desmodium*, *Ononis*, *Lathyrus*, *Lespedeza*, *Vicia*, *Tephrosia* y *Glycine* (Rodríguez-Riaño *et al.*, 1999;

Flores, 2013). *Glycine clandestina* es una de las papilionoideas más estudiada y que presenta cleistogamia verdadera o dimórfica. En esta especie la cleistogamia está presente en todos ambientes donde se distribuye. *G. clandestina* no es muy exitosa con las flores casmógamas ya que un alto porcentaje de éstas se autopolinizan debido a que el vector requerido no es eficiente, además no hay un dimorfismo en la producción de semillas entre los tipos de flores (Hempel, 2004). Aparte de las leguminosas, los pastos y algunas plantas cultivadas, es muy común un tipo de cleistogamia denominado cleistogamia pre-antesis, donde la polinización ocurre en el botón floral y después se presenta la antesis. *Macroptilium arenarium* es una leguminosa que también presenta cleistogamia pre-antesis, ya que se observan granos de polen germinando entre las papilas estigmáticas así como el proceso de fecundación en flores pre-antesis y flores en post-antesis. Sin embargo, las flores cleistógamas de *M. arenarium* son subterráneas, se presentan racimos con pocas flores y éstas no presentan corola; además, se sugiere que forman frutos por apomixis, es decir, formación de semilla sin fecundación por lo que, las semillas son clonales (Lord, 1981; Gotelli *et al.*, 2006; Carrillo *et al.*, 2010). Otro caso del género *Macroptilium* es *M. fraternum*. En esta especie se presentan flores casmógamas y flores pseudocleistogamas, que no presentan diferencias morfológicas entre ellas, solamente unas presentan un arresto de las partes florales y una antesis breve o casi nula. Este caso es interesante porque además, las flores casmógamas también se comportan como flores cleistógamas pre-antesis, ya que se observa polen en la superficie del estigma en etapas de pre-antesis. Por otra parte, no se registró la presencia de polinizadores pero hay formación de frutos. Debido a la fragmentación del ambiente en el que se encuentra esta planta, por la

escasa producción de frutos y semillas y por la baja sobrevivencia de las plántulas se sugiere que en estas poblaciones puede estar ocurriendo depresión por endogamia (Hoc *et al.*, 2003). Otra especie cleistógama es *Viola pubescens* (Violaceae), que presenta una cleistogamia verdadera, con flores aéreas casmógamas y cleistógamas. Las flores casmógamas de *V. pubescens* tienen la capacidad de autofecundarse pues se observa un que al final del periodo de floración el estigma se encoge hacia las anteras para que haya autopolinización. A pesar de tener polinizadores ya identificados, sólo se observaron durante un año de los cuatro que duró el estudio, además de que la polinización cruzada no ocurre con tanta frecuencia (Culley, 2000).

Mediante la descripción de la estrategia reproductiva de *Cologania biloba* por medio de la comparación morfológica y reproductiva, de la proporción floral en la población y la germinación de semillas entre ambos tipos florales, este estudio contribuirá al conocimiento sobre la cleistogamia del género *Cologania* y en particular de *C. biloba*, ya que se desconocen diversos aspectos en la mayoría de las especies que presentan este fenómeno, el cual está ampliamente distribuido en las angiospermas y del cual no hay muchos trabajos descriptivos.

OBJETIVOS

General

Describir la estrategia reproductiva de *Cologania biloba*.

Particulares

- Describir las flores cleistógamas y casmógamas de *C. biloba*.
- Conocer la fenología de los dos tipos de flores de *C. biloba*.
- Comparar las características morfológicas de las flores cleistógamas y casmógamas.
- Comparar el número de óvulos, de granos de polen y de semillas, la longitud de las legumbres, el peso y el tamaño de las semillas, producto de flores cleistógamas y casmógamas.
- Comparar el porcentaje de germinación de semillas provenientes de flores cleistógamas y casmógamas.

MATERIALES Y MÉTODOS

Sitio de estudio

El estudio se llevó a cabo en el núcleo poniente de la Reserva Ecológica del Pedregal de San Ángel (REPSA) que se localiza al suroeste de la Ciudad de México (19° 17' N, 99° 11' O). La reserva tiene una extensión de 237 hectáreas, presenta un clima templado subhúmedo con lluvias en verano (de junio a octubre), con una temperatura media anual de 15.6 °C y una precipitación media anual de 833 mm (Figura 1). El sustrato que se encuentra en la reserva es roca volcánica originaria de la erupción del

volcán Xitle hace 1670 años aproximadamente, por lo que el suelo es escaso y poco profundo. La vegetación de este sitio ha sido denominada como un matorral xerófilo de alta elevación, donde domina *Pittocaulon praecox*, comúnmente llamado palo loco (Rzedowski, 1954; Rzedowski y Rzedowski 2001).



Figura 1. Mapa del núcleo poniente de la Reserva Ecológica del Pedregal de San Ángel (Obtenida de: repsa.unam.mx).

***Cologania biloba* (Lindl.) Nicholson**

Cologania biloba es una hierba perenne trepadora, crece de forma espiralada, tiene tallos delgados y pilosos (tricomas amarillos-claros). Las hojas miden de 4.2 a 20.5 cm, son trifoliadas, con estípulas de 5-7 mm de largo, los folíolos son ovados u ovado-oblongos con un ápice agudo, la nervadura es conspicua en el envés. La inflorescencia es racemosa o pseudoracemosa de 2.7-3.7 cm de largo con 2-8 flores casmógamas y

1-4 flores cleistógamas, el pedúnculo de 2-10 cm de largo y el pedicelo de 3-9 mm de largo, ambos estrigulosos y con brácteas. La flor casmógama es de color púrpura, violeta, morada, rojo-púrpura; cáliz de 13-19 mm de largo, 4 mm de ancho, densamente estrigoso, los dientes de 2-5 mm de largo; el estandarte de 24-30 mm de largo y 8-16 mm de ancho, ovado-oblongo; las alas de 21-24.5 mm de largo y 4-6 mm de ancho ovadas; la quilla 15-19 mm de largo y 3-4 mm de ancho, ovado-oblonga; el androceo es diadelfo, las anteras miden de 0.3-0.6 mm de largo y 0.2-0.3 mm de ancho, oblongo-elípticas; el ovario de 17-19 mm de largo y 0.8-1 mm de ancho, densamente seríceo en los márgenes y un centro glabrescente; el estilo de 2.5-3 mm ligeramente curvado; el estigma de 0.2 mm de diámetro; de 5-13 óvulos. Legumbre casmógama de 4-7 cm de largo y 3-4.5 mm de ancho, ligeramente curvada con valvas pardoverdosas densamente pilosa; semillas de 2.5-3.5 mm de largo y 2-2.5 mm de ancho, oblongas con testa pardo-clara. Legumbre cleistógama de 3-3.6 cm de largo y 3.5-4 mm de ancho con valvas pardoverdosas, pilosas, ligeramente curvadas y el ápice fuertemente rostrado; semillas de 2.5-3.5 mm de largo y 2 mm de ancho, oblongas, la testa lisa y pardo-clara (Flores, 2013).

Fenología

En los meses de agosto y septiembre de 2016, se identificó una población de *C. biloba* en la REPSA (Figura 2). Para determinar la proporción de flores casmógamas y cleistógamas se marcaron 15 plantas y se recolectaron y etiquetaron inflorescencias apicales, medias y basales de cada una (Figura 3). Se realizaron conteos de las flores casmógamas y las flores cleistógamas en el microscopio estereoscópico Olympus

SZX7. En el mes de agosto de 2017, se visitó nuevamente la población de *C. biloba* ubicada en la REPSA. Para determinar la proporción de flores casmógamas y cleistógamas, se marcaron 21 plantas y se realizaron conteos en campo de inflorescencias apicales, medias y basales de cada una (Figura 3). Para obtener la proporción de flores casmógamas y cleistógamas de 2016 y 2017, dentro de la población se realizó una regla de tres, con el número total de flores. Además se obtuvo el porcentaje de flores casmógamas y cleistógamas para los dos años.

Finalmente, para saber si hay una diferencia estadísticamente significativa entre las flores casmógamas (apicales, medias y basales) y las flores cleistógamas (apicales, medias y basales), se realizó una prueba de ANOVA y la prueba post-hoc de Tukey con $\alpha=0.05$, en el programa R3.1.2.



Figura 2. Vista aérea del área de la REPSA donde se encuentra distribuida *C. biloba* (Obtenida de: googlemaps.com).

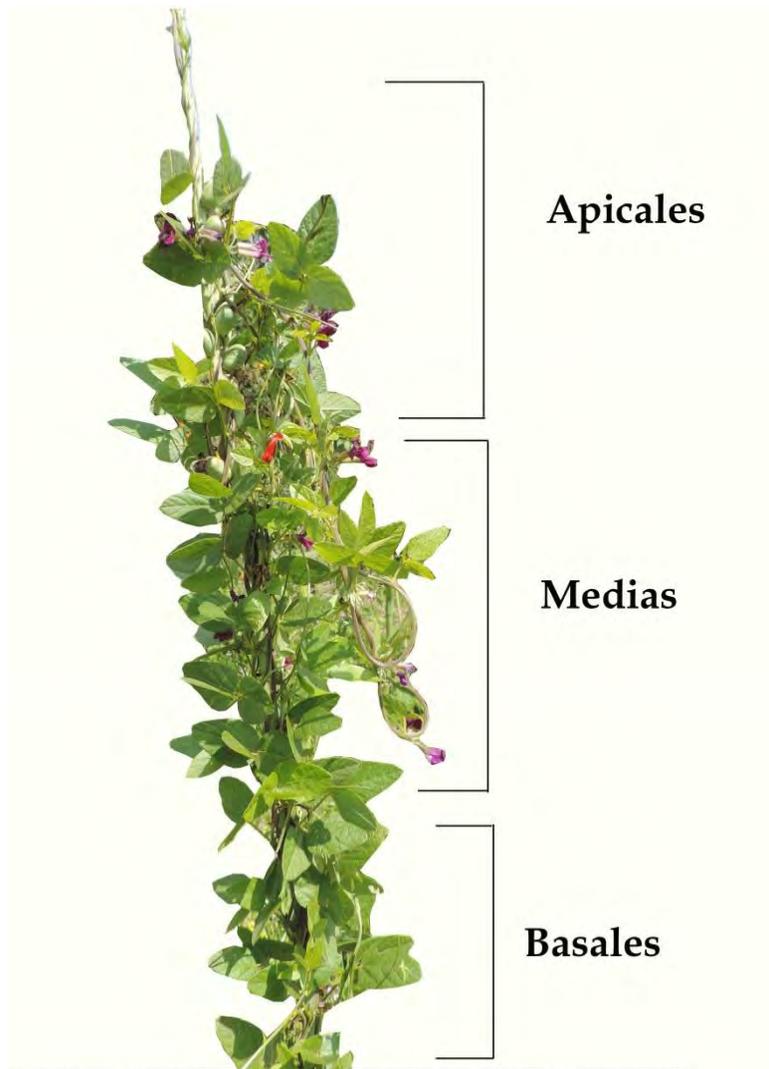


Figura 3. Planta de *Cologania biloba* donde se ilustran las inflorescencias apicales, medias y basales muestreadas.

Para conocer el tiempo que tardan en desarrollarse las flores casmógamas y cleistógamas así como el tiempo que tardan en madurar los frutos casmógamos y cleistógamos, se marcaron 15 flores casmógamas y 15 flores cleistógamas. Se realizaron observaciones del 4 de agosto al 3 de noviembre de 2017. Además para

determinar el tiempo que tardan las flores en abrir y cuánto tiempo permanecen en anthesis se marcaron 15 flores en etapa de pre-antesis de un individuo y se realizaron 6 observaciones los días 29, 30 y 31 de agosto y los días 1, 2 y 3 de septiembre de 2016 entre las 11:00 am y mediodía.

Para conocer si las flores casmógamas se autopolinizan, se embolsaron y etiquetaron 20 flores casmógamas en pre-antesis para evitar la polinización cruzada, se dejaron 1 mes cubiertas, después se retiraron las bolsas y se contabilizaron los frutos formados

Morfología Floral

Para realizar la descripción morfológica de las flores se recolectaron flores casmógamas y cleistógamas dos veces por semana del 12 de agosto al 2 de septiembre de 2016. Las muestras se fijaron en FAA (formol-alcohol-ácido acético-agua 1:5:0.5:3.5) por al menos 24 horas. Los botones florales casmógamos y cleistógamos se separaron en 10 etapas de desarrollo (Cuadro 2), con base en la longitud. Se realizaron dos duplicados de cada etapa. Se midieron con un vernier TRUPER (0.1mm). Se muestran los intervalos de de las etapas de desarrollo en el Cuadro 2.

Cuadro 2. Intervalos de tamaño (longitud) de las 10 etapas de desarrollo para las flores casmógamas y cleistógamas de *Cologania biloba*.

Etapas de desarrollo	Casmógamas	Cleistógamas
1	0.8 a 0.96 cm	0.16 a 0.26 cm
2	0.97 a 1.12 cm	0.27 a 0.40 cm
3	1.13 a 1.28 cm	0.41 a 0.53 cm
4	1.29 a 1.44 cm	0.54 a 0.64 cm
5	1.45 a 1.60 cm	0.65 a 0.85 cm
6	1.61 a 1.76 cm	0.86 a 0.94 cm
7	1.77 a 1.92 cm	0.95 a 1.09 cm
8	1.93 a 2.08 cm	1.10 a 1.15 cm
9	2.09 a 2.24 cm	1.16 a 1.29 cm
10	2.25 a 2.4 cm	1.30 a 1.60 cm

Los botones y las flores fueron disectadas exponiendo el ovario y las anteras, en el microscopio estereoscópico Olympus SXZ7, con el cuál se tomaron fotografías al igual que con la cámara Nikon P520.

Para describir los cambios morfológicos durante el desarrollo de los botones florales y las flores en anthesis se hicieron observaciones en un microscopio electrónico de barrido (MEB). Los botones florales y las flores en anthesis fijados en FAA, se deshidrataron en una serie etanólica (30, 50, 70, 85, 96% y etanol absoluto). Cada muestra se dejó mínimo 2 h en cada dilución. Las muestras se desecaron a punto crítico con CO₂, se montaron en portamuestras de aluminio con cinta conductiva, se recubrieron con oro y se realizaron las observaciones en un microscopio electrónico de barrido SU1510 Hitachi (López *et al.*, 2005). Además, para observar la posición del pistilo y las anteras, así como el número de anteras durante el desarrollo de las flores, se realizó el aclarado de los botones de 10 etapas de desarrollo de flores casmógamas y cleistógamas; para

ello los botones se colocaron en una solución de NaOH al 10% por un día. Después, se cambiaron a una solución aclaradora de NaCl al 10% y las muestras fueron expuestas a luz solar durante dos días. Se tomaron fotomicrografías de los botones en un microscopio estereoscópico Olympus S2X7.

Para observar la anatomía y la dehiscencia de las anteras, se realizaron cortes histológicos. Los botones florales y flores en antesis fijados en FAA, se deshidrataron en una serie etanólica (30, 50, 70, 85, 96% y etanol absoluto), cada muestra se dejó mínimo 2 h en cada dilución. Para la infiltración de las muestras se realizó un cambio de LR-White-etanol (1:1) dejándolas 24 horas a 4°C. Posteriormente se cambiaron a LR-White absoluto, dejándolas 24 horas a 4°C. La inclusión se hizo en cápsulas de gelatina y se dejaron polimerizar a 60°C (López *et al.*, 2005). Los cortes se realizaron en un ultramicrotomo Power Tome X RMC con un grosor de 1 µm, se tiñeron con azul de toluidina O y se observaron y tomaron fotomicrografías en un microscopio óptico Olympus BX51.

Para observar tubos polínicos en flores casmógamas en pre-antesis y antesis, y botones de flores cleistógamas en las últimas etapas de desarrollo, se utilizó la metodología de Mori *et al.* (2006), donde se separaron botones y flores casmógamas y cleistógamas de las etapas 7, 8, 9 y 10 previamente fijados en FAA, se cortaron los estigmas, estilos y la parte distal de los ovarios. Al material se le realizó una rehidratación en una serie etanólica (70, 50, 30% y agua destilada), dejando el material por 10 minutos en cada dilución. Posteriormente se transfirieron a una solución alcalina de NaOH 8 M, donde se dejaron 24 horas. Para lavar el tejido de la solución alcalina se transfirió el material a

agua destilada durante 10 minutos. Para teñir el tejido se desechó el agua y se añadió azul de anilina al 0.1% (p/v) y se recubrieron los tubos de 1.5 ml con aluminio, asegurando que no quedara superficie expuesta a la luz. Posteriormente se almacenaron a 4°C durante 24 horas. Para observar las muestras se colocaron en portaobjetos con una gota de azul de anilina y se colocó un cubreobjetos aplastando el tejido, sin dejar que el tejido se secase y se sellaron las muestras. Las observaciones se realizaron en un fotomicroscopio Olympus Arcgis AX70.

Comparación de óvulos, granos de polen, frutos y semillas

Óvulos

Se cuantificó el número de óvulos disectando el ovario de 10 flores casmógamas y 10 flores cleistógamas en el microscopio estereoscópico. Para comparar el número de óvulos en flores casmógamas y cleistógamas se obtuvo el promedio y la desviación estándar y se realizó una prueba de *t* de student ($\alpha=0.05$) en el programa R3.1.2 para determinar si hay una diferencia estadísticamente significativa.

Granos de polen

Para cuantificar los granos de polen se utilizó la metodología basada en Massinga *et al.* (2005); se obtuvieron las anteras de 10 flores casmógamas en etapa siete, y 10 flores cleistógamas en etapa cinco, se colocaron en tubos De 1.5 ml con 200 μ L de etanol al 100% y 15 μ L de Tween 20 (poliexietileno) y las anteras se maceraron. Con la finalidad de degradar la pared de la antera y liberar los granos de polen, se añadieron 300 μ L de HCl al 10% y se incubó a 40°C, durante 20 minutos. Para separar el tejido de los granos

de polen se centrifugó durante 10 minutos y el precipitado se resuspendió en 100 μ L de una solución 3:1 de ácido láctico y glicerol. Los tubos de 1.5 ml se agitaron manualmente hasta resuspender el botón. Se tomó 1 μ L y se cuantificaron los granos de polen a 10X, se realizaron tres repeticiones de cada muestra, el cálculo total de los granos de polen se obtuvo multiplicando el promedio de las repeticiones por 100. Para comparar el número de granos de polen en flores casmógamas y cleistógamas se obtuvo el promedio y la desviación estándar para realizar una prueba de *t* de student ($\alpha=0.05$) en el programa R3.1.2 para determinar si hay una diferencia estadísticamente significativa.

Para determinar la viabilidad de los granos de polen se utilizó la metodología basada en López *et al.* (2005). Se colectaron flores casmógamas y cleistógamas frescas en 2017, se colocaron las anteras en un tubo De 1.5 ml y se golpearon los tubos hasta obtener los granos de polen. Con una aguja de disección se colocaron en un portaobjetos y se agregó una gota de reactivo Alexander, se mezcló con el polen, para acelerar la reacción, se pasó el portaobjetos por la flama de un encendedor 3 veces. Se visualizaron en un microcopio óptico Olympus BX51 con campo claro, se contaron 50 granos de polen en cada individuo (N=10), y se contaron como granos de polen viables los que se tiñeron de color magenta o rojo intenso, mientras que los granos de polen no viables los que se tiñeron de color verde.

Frutos

Para identificar los frutos casmógamos y cleistógamos se etiquetaron flores casmógamas y cleistógamas que se removieron cuando el fruto ya estaba formado. Se

separaron 20 legumbres de cada tipo floral y se midió el largo de la vaina con un vernier TRUPER (0.1mm). Para comparar el largo de las legumbres casmógamas y cleistógamas se obtuvo el promedio y la desviación estándar y se realizó una prueba de *t* de student ($\alpha=0.05$) en el programa R3.1.2 para determinar si hay una diferencia estadísticamente significativa.

Semillas

Para determinar el número de semillas por legumbre, se separaron 20 legumbres casmógamas y 20 legumbres cleistógamas, de las cuales se realizó un conteo de semillas. Además, para saber el tamaño y el peso de las semillas, se obtuvieron 50 semillas casmógamas y 50 semillas cleistógamas, se midieron con el vernier y se pesaron en una balanza analítica AX124 (0.0001) Sartorius. Para comparar el número, el tamaño y peso de las semillas casmógamas y cleistógamas, se obtuvo el promedio y la desviación estándar y se realizó una prueba de *t* de student ($\alpha=0.05$) en el programa R3.1.2 para determinar si hay una diferencia estadísticamente significativa.

Proporción polen-óvulo

Se obtuvo la proporción polen-óvulo utilizando la metodología de Cruden (1977). Se obtuvo el coeficiente dividiendo el promedio de granos polen en cada flor casmógama y cleistógama, entre el promedio de óvulos de cada flor casmógama y cleistógama. Se comparó con la tabla de Cruden (1977) para saber a cuál sistema de reproducción corresponde la proporción de las flores casmógamas y cleistógamas.

Germinación de semillas

Se utilizaron semillas casmógamas y cleistógamas de 2016 y 2017. Para los experimentos de germinación se utilizó la metodología basada en Lovey *et al.* (2010). Primero se separaron 30 semillas casmógamas colectadas en 2016, 30 semillas cleistógamas de 2016, 30 semillas casmógamas de 2017 y 30 semillas cleistógamas de 2017. Para la escarificación mecánica se frotaron en las caras laterales de la cubierta con una lija de esmeril. Las semillas se colocaron en cajas de Petri (10 semillas por caja) con papel absorbente humedecido con agua, se colocaron en una cámara de germinación a 25° C, con un periodo luz:oscuridad de 8:16 horas. Se registraron las semillas germinadas al día 1, 2, 3, 4, 5, 8, 12, 17, 23 y 30 a partir de la siembra, que se realizó el 12 de febrero de 2018. Se tomaron fotomicrografías en el microscopio estereoscópico Leica Microsystems M60 y fotografías con una cámara Nikon P520. Se realizó una prueba de ANOVA $\alpha=0.05$ en el programa R3.1.2.

RESULTADOS

Fenología

La floración de *C. biloba* en la población de la REPSA durante el 2016 comenzó a principios de agosto y finalizó a mediados del mes de septiembre. Para el 2017 comenzó a principios de agosto y finalizó el 30 de agosto de 2017.

C. biloba se caracteriza por ser una enredadera que tiene inflorescencias desde la base hasta el ápice. En cada nudo se desarrolla una inflorescencia racemosa que presenta de 1 a 3 flores casmógamas y de 7 a 11 flores cleistógamas. Las flores casmógamas en

antes de la antesis miden de 2.25 a 2.4 cm. La corola es de color púrpura o color ciruela, tienen dos alas, una quilla y un estandarte, tienen néctar en la base de los verticilos y presentan un cáliz verde (Figuras 4A y 4C). El desarrollo de las flores casmógamas toma entre diez y doce días. Las flores en pre-antesis (Figura 4D) tardan entre tres y cuatro días para llegar a la antesis (Figura 4E) y permanecen abiertas por tres días.

Las flores cleistógamas miden de 1.30 a 1.60 cm, no presentan una corola y están envueltas en el cáliz, el cual es verde y pubescente (Figuras 4A y 4B). El desarrollo de las flores cleistógamas toma entre siete y ocho días.

La formación de los frutos casmógamos y cleistógamos tarda de 2 a 3 meses aproximadamente; son legumbres verdes, pubescentes, envueltas en un cáliz seco (Figuras 4F y 4G). Las legumbres casmógamas miden de 5.32 a 7.7 cm (Figura 4F) y las legumbres cleistógamas miden de 3.65 a 5.17 cm (Figura 4G).

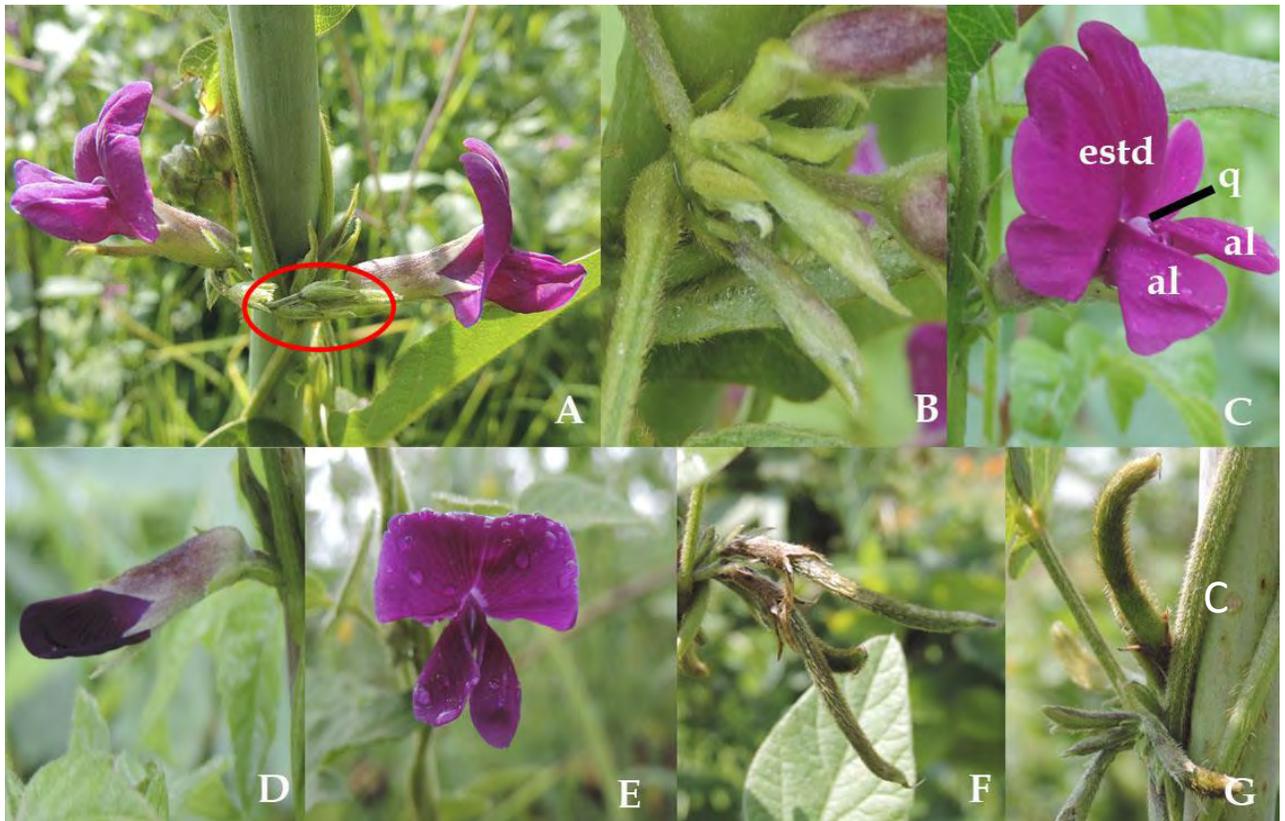


Figura 4. Flores casmógamas y flores cleistógamas de *Cologania biloba*. A) Flores casmógamas con un círculo rojo se señalan las flores cleistógamas. B) Flores cleistógamas. C) Flor casmógama D) Flor casmógama en pre-antesis. E) Flor casmógama en antesis. F) Legumbre casmógama. G) Legumbre cleistógama. estd= estandarte, q=quilla y al=alas.

Durante el desarrollo de las flores casmógamas, se observó que en las primeras etapas florales el color púrpura es más intenso (Figuras 5A – 5E), además el cáliz recubre la corola y se notó un crecimiento paralelo de la corola y el cáliz (Figura 5F). Posteriormente, se notó que la corola rebasa el cáliz para emerger (Figura 5G) y comienza a perder la coloración ciruela en la corola para adquirir un color púrpura (Figuras 5H – 5J).

En las flores cleistógamas, durante todo su desarrollo, el cáliz recubre permanentemente a los órganos sexuales (Figuras 5A – 5J). En las primeras etapas el

cáliz es más largo que los órganos sexuales (Figuras 5A – 5E) y conforme avanza el desarrollo sobresalen dos dientes del cáliz (Figuras 5F - 5J). Durante todo el desarrollo la coloración verde del cáliz es constante (Figuras 5A – 5J).

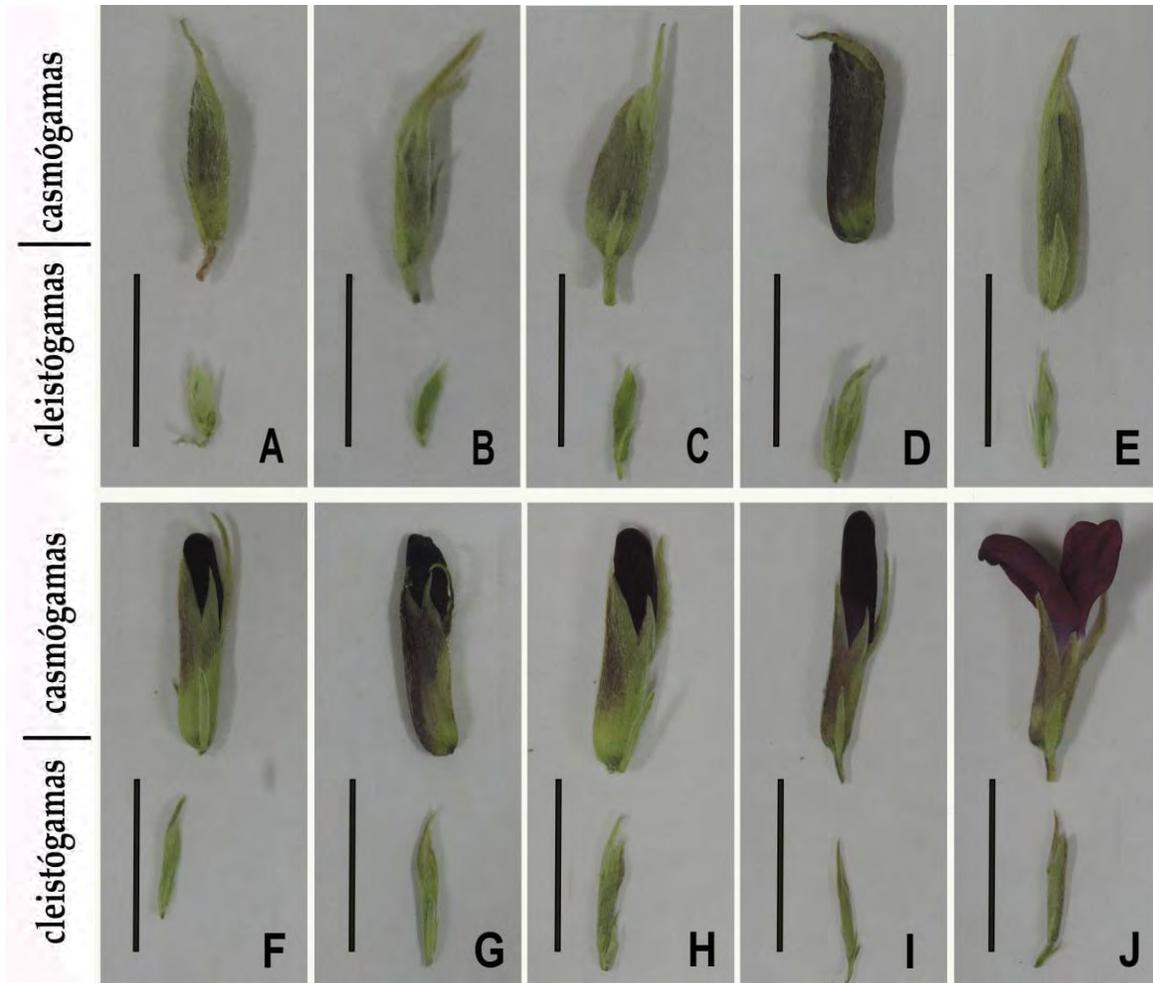


Figura 5. Etapas del desarrollo de las flores casmógamas (arriba) y las flores cleistógamas (abajo). A) Etapa 1. B) Etapa 2. C) Etapa 3. D) Etapa 4. E) Etapa 5. F) Etapa 6. G) Etapa 7. H) Etapa 8. I) Etapa 9. J) Etapa 10. Escala = 1cm.

Proporción de flores casmógamas y flores cleistógamas

En el conteo de los dos tipos de flores que se llevó a cabo en agosto y septiembre de 2016, en 15 individuos, se encontraron 110 flores casmógamas y 409 flores cleistógamas. Por lo tanto, la proporción es de 3.52 flores cleistógamas por cada flor casmógama para la población (Cuadro 3). En las inflorescencias apicales de las 15 plantas se contabilizaron 27 flores casmógamas, en las medias 45 flores casmógamas y en las basales 44 flores casmógamas; mientras que para las cleistógamas se obtuvieron 150 flores en las inflorescencias apicales, 154 flores en las medias y 105 flores en las basales (Cuadro 3, Figura 6). No se encontró una diferencia significativa entre el número de flores casmógamas apicales, medias y basales con la prueba ANOVA ($F=2.182$, $P=0.125$) ni con la Prueba de Tukey ($q=0.197$, $q=0.994$, $q=0.163$) así como tampoco se encontraron diferencias significativas entre el número de flores cleistógamas apicales, medias y basales con la prueba de ANOVA ($F=2.157$, $P=0.128$) ni con la Prueba de Tukey ($q=0.210$, $q=0.159$, $q=0.987$).

En el conteo que se llevó a cabo en 21 individuos durante agosto de 2017, se encontraron 667 flores casmógamas y 820 flores cleistógamas. Por lo tanto la proporción es de 1.22 flores cleistógamas por cada flor casmógama para la población (Cuadro 3). En los nudos apicales, de las 21 plantas se contabilizaron 242 flores casmógamas, en los intermedios 227 flores casmógamas y en los basales 198 flores casmógamas; mientras que para las cleistógamas se obtuvieron 271 flores en los nudos apicales, 287 flores en los intermedios y 238 flores en los basales (Cuadro 3, Figura 6). No se encontró una diferencia significativa entre el número de flores casmógamas apicales, medias y basales con la prueba ANOVA ($F=2.476$, $P=0.0826$) ni con la Prueba

de Tukey ($q=0.074$, $q=0.339$, $q=0.709$) así como tampoco se encontraron diferencias significativas entre las flores cleistógamas de los nudos apicales, medios y basales con la prueba de ANOVA ($F=2.134$, $P=0.102$) ni con la Prueba de Tukey ($q=0.192$, $q=0.123$, $q=0.979$).

Cuadro 3. Número de flores en las inflorescencias apicales, medias y basales. Proporción de flores cleistógamas por cada flor casmógama. Población 2016 N=15, Población 2017 N=21. CL=Cleistógamas y C=Casmógamas.

Población	2016		2017	
	CL	C	CL	C
Apicales	150	27	271	242
Medias	154	45	287	227
Basales	105	44	238	198
Total	409	116	820	667
Proporción CL/C	3.52:1		1.22:1	

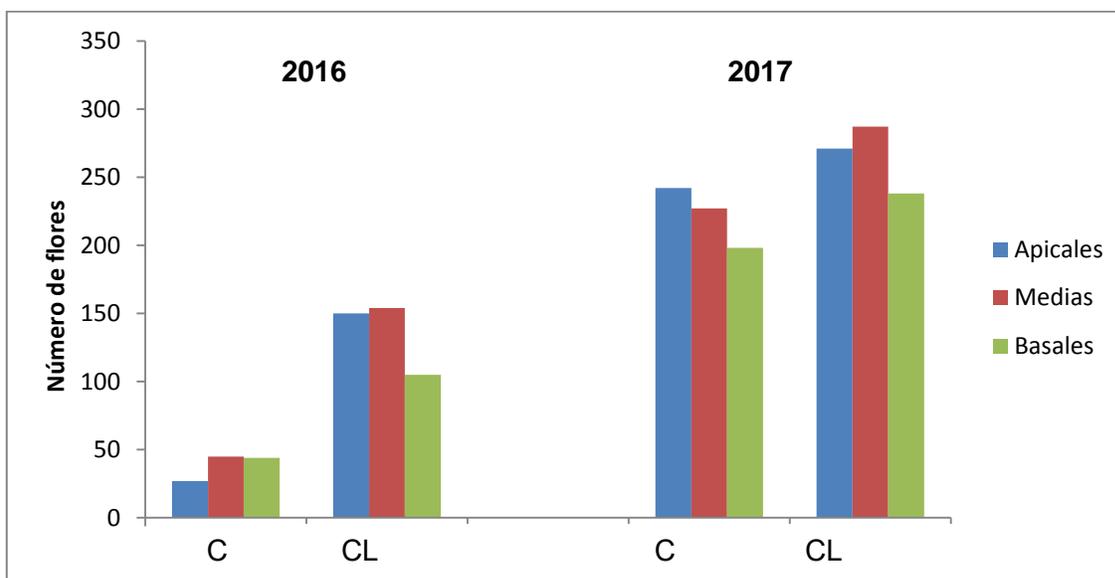


Figura 6. Número de flores casmógamas y cleistógamas en las inflorescencias apicales, medias y basales en 2016 y 2017. C= Casmógamas, CL= Cleistógamas.

Para comparar la producción de flores casmógamas y cleistógamas durante el 2016 y 2017, se obtuvieron los porcentajes de flores de cada año. En 2016 el porcentaje de flores casmógamas fue del 22.3%, mientras que el porcentaje de las flores cleistógamas fue del 77.7%. En 2017 el porcentaje de flores casmógamas fue del 44.8%, mientras que el porcentaje de flores cleistógamas fue del 55.2% (Figura 7).

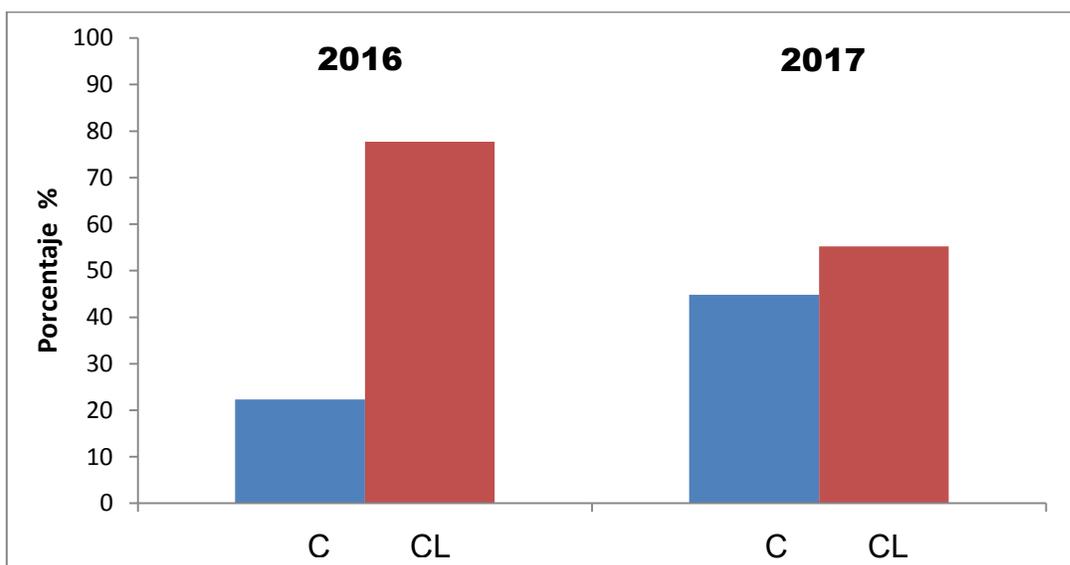


Figura 7. Porcentajes de flores casmógamas y flores cleistógamas en el 2016 y 2017. C= Casmógamas, CL= Cleistógamas.

El número de flores cleistógamas y casmógamas va cambiando mientras avanza el periodo de floración. En el primer día de muestreo (7 de agosto de 2017), al inicio del periodo de floración, el número de flores casmógamas fue de 256 y el de flores cleistógamas de 198; el día 16 de agosto de 2017 el número de flores casmógamas fue de 238 y el de flores cleistógamas de 277; finalmente, el día 23 de agosto de 2017, al final del periodo de floración, el número de flores casmógamas fue de 157 y el de las flores cleistógamas de 311 (Figura 8).

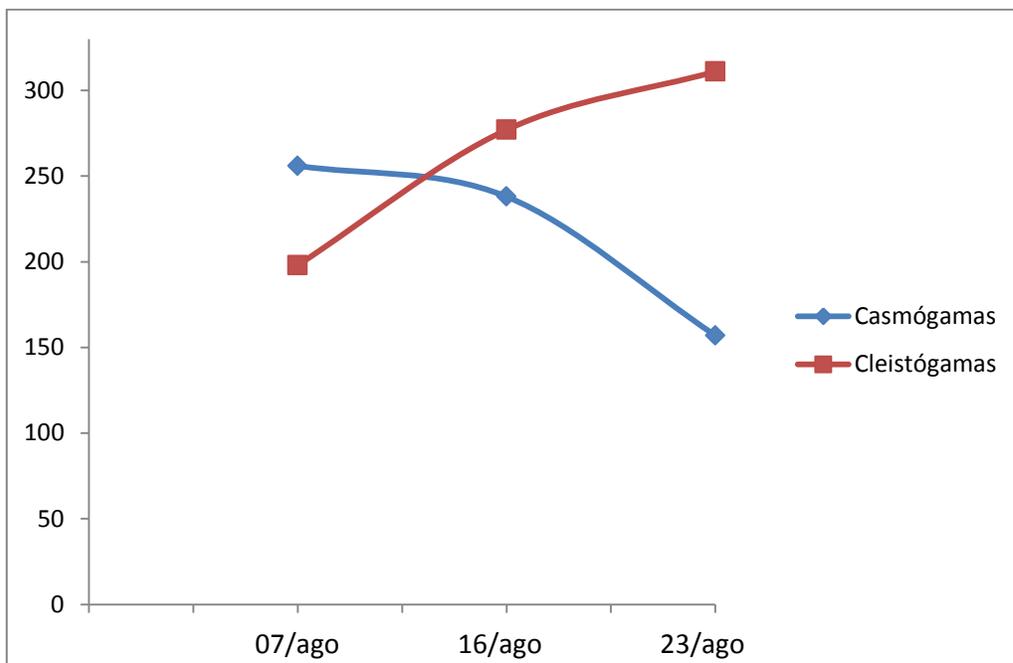


Figura 8. Número de flores casmógamas y cleistógamas durante el periodo de floración de 2017.

Se realizó el conteo de frutos de las 20 flores casmógamas embolsadas un mes después, 12 flores casmógamas produjeron frutos mientras que 8 flores senescieron sin producir frutos.

Morfología floral

- **Flores casmógamas**

Las flores casmógamas presentan un cáliz verde y pubescente que recubre la parte basal de las flores, presentan una corola color ciruela que se compone de una quilla, un estandarte, y dos alas (Figura 9A), durante todo el desarrollo presentan siete anteras subasifijas insertas con dos tecas, con estambres diadelfos, tiene un gineceo inserto compuesto de un ovario súpero verde y pubescente, el estilo es alargado y blanco sin

tricomas, el estigma es capitado (Figura 9B). El tamaño de las flores casmógamas en antesis es de 2.25-2.4 cm.

Durante las primeras etapas de desarrollo, las anteras se encuentran cerradas, el ovario no es tan alargado y tampoco tan pubescente, el estilo está ligeramente alargado pero curvado hacia las anteras y la membrana que recubre al estigma está completa (Figuras 9C-H). Después se alarga el ovario y el estilo sigue curvado en dirección a las anteras no dehiscentes (Figuras 9I-J). Posteriormente, en la etapa de botones florales, algunas anteras comienzan a presentar dehiscencia, el ovario se alarga y se llena de tricomas, el estilo también se alarga y endereza. La membrana que recubre al estigma continúa completa (Figuras 9K-N). En las últimas etapas del desarrollo, todas las anteras presentan dehiscencia, el ovario se alarga más y es pubescente, el estilo se continúa alargando y es recto, la membrana que recubre al estigma se revienta exponiendo las papilas estigmáticas y en algunos casos, se puede observar que el polen tricolporado está adherido en el estigma (Figura 9R).

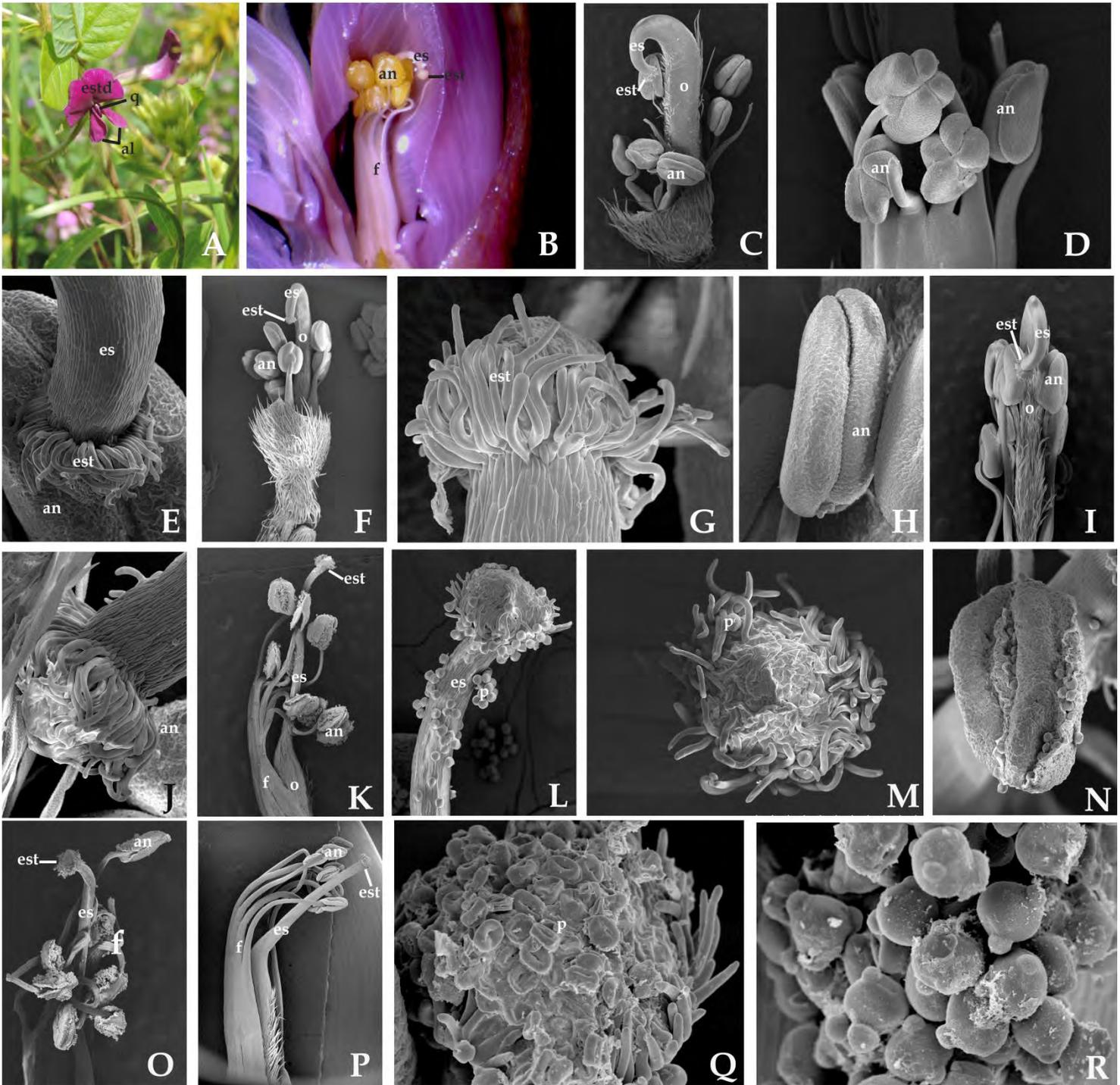


Figura 9. Imágenes de la morfología y desarrollo de las flores casmógamas. A) Flor en antesis. B) Estructura interna de la flor. C-H) Botones en etapas iniciales I-J) Botones en etapas intermedias K-O) Botones en etapas finales del desarrollo (Pre-antesis). P) Estructura interna de una flor en antesis. Q) Estigma de un botón en pre-antesis. R) Polen de las flores casmógamas. Al=alas, an=antera, es=estilo, est=estigma, estd=estandarte, f=filamento, o=ovario, p=polen y q=quilla

Para saber la posición y la cercanía del estigma con respecto a las anteras durante el desarrollo se realizaron aclarados. En las primeras etapas de desarrollo el estilo está ligeramente curvo en dirección a las anteras. Posteriormente, el estilo comienza a enderezarse; sin embargo, las anteras continúan rodeando al estigma cercanamente. Durante todo el desarrollo el estigma y las anteras están cercanos (Figura 10).

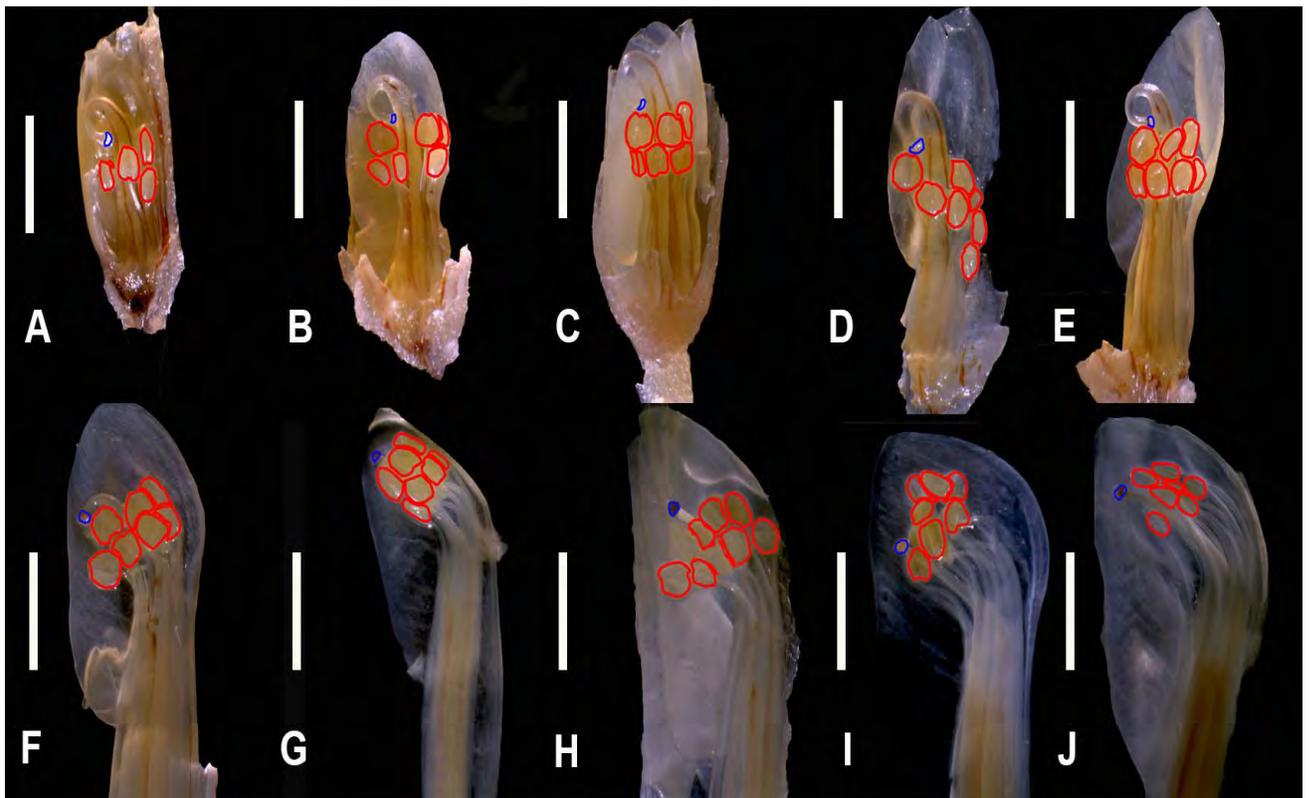


Figura 10. Posición de anteras (círculo rojo) y estigma (círculo azul) durante las diez etapas de desarrollo de las flores casmógamas. A) Botón de etapa 1. B) Botón de etapa 2. C) Botón de etapa 3. D) Botón de etapa 4. E) Botón de etapa 5. F) Botón de etapa 6. G) Botón de etapa 7. H) Botón de etapa 8. I) Botón de etapa 9. J) Flor de etapa 10. Escala = 3 mm.

Para determinar si la polinización se presentaba antes de la antesis se realizó la tinción de tubos polínicos. En etapas previas a la antesis de las flores casmógamas se observaron granos de polen y tubos polínicos. En la etapa donde algunas anteras

presentaron dehiscencia hay pocos individuos que presentaron granos de polen adheridos al estigma, la germinación y crecimiento de los tubos polínicos fue bajo y no se encontraron tubos polínicos en el ovario (Figura 11A). Posteriormente, en etapas aún en pre-antesis pero donde ya todas las anteras se encuentran dehiscentes, el número de individuos con granos de polen en el estigma aumenta. A pesar de que no todos los granos de polen han germinado y formado tubos polínicos, ya se pueden observar tubos polínicos en el ovario (Figuras 11-B,C). En la antesis se encontraron tubos polínicos en todos los estilos; sin embargo, no se observó polen en todos los estigmas, ni tubos polínicos en todos los ovarios (Cuadro 4, Figura 11D).

Cuadro 4. Número de individuos de flores casmógamas con granos de polen en el estigma, con tubos polínicos en el estilo y ovario, donde las etapas 7 y 8 son botones, 9 flores en preantesis y 10 flores en antesis. N=15 TP= Tubos polínicos.

Etapas	Granos de polen en el estigma (# de estigmas con polen / # total de estigmas)	TP en el estilo (# de estilos con TP / # total de estilos)	TP en el ovario (# de ovarios con TP / # total de ovarios)
7	4/15	2/15	0/15
8	10/15	9/15	9/15
9	14/15	11/15	10/15
10	12/15	15/15	11/15

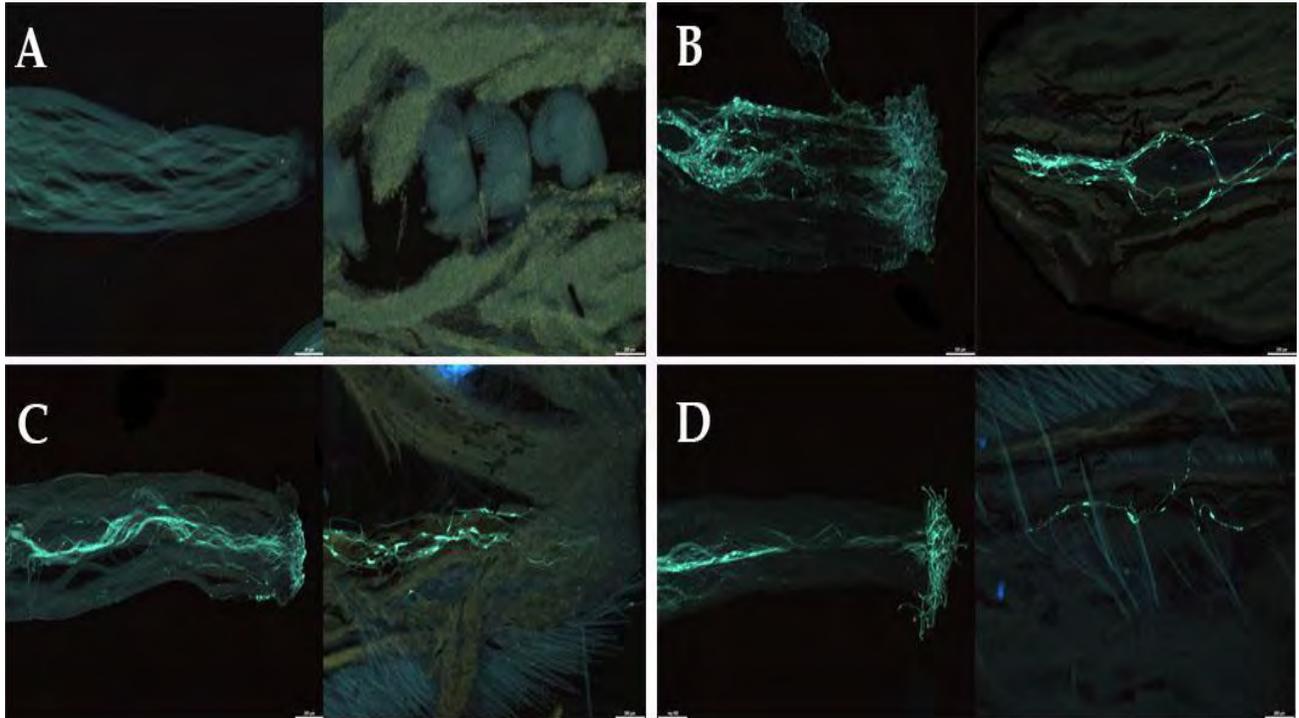


Figura 11. Fotomicrografías de los estilos y ovarios de flores casmógamas y cleistógamas donde se observan tubos polínicos. A) Casmógama etapa 7. B) Casmógama etapa 8. C) Casmógama etapa 9. D) Casmógama etapa 10.

Para corroborar el momento de la dehiscencia de las anteras casmógamas, se realizaron cortes histológicos. En las anteras de las flores casmógamas, los granos de polen ya están maduros, uninucleados y bien formados desde etapas tempranas (Figuras 12-A,B). Posteriormente, se observó el adelgazamiento del estrato parietal y en algunas partes se observó un adelgazamiento del endotecio y de la epidermis (Figuras 12-C,D). En etapas pre-antesis y antesis se observó la apertura completa de la antera, ya que se rompe el endotecio, en la epidermis se observaron pocos granos de polen (Figuras 12-E,F).

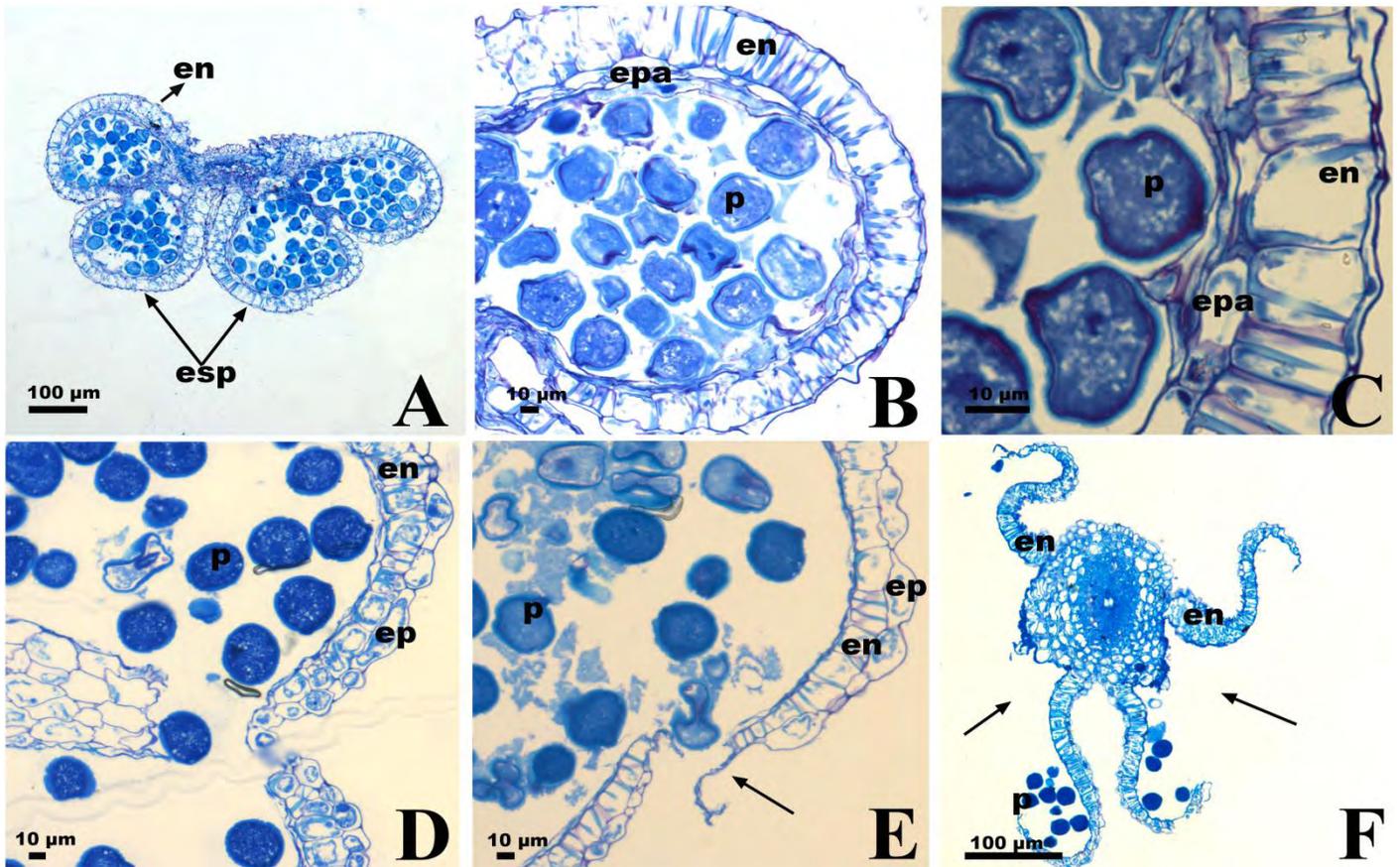


Figura 12. Fotomicrografías de las anteras casimógamas. A,B) Etapas iniciales del desarrollo de las anteras. C,D) Etapas intermedias del desarrollo de las anteras. E,F) Etapas finales del desarrollo de las anteras. En=endotecio, ep=epidermis, epa=estrato parietal esp=esporangio, p=polen y se señala con flechas la ruptura del tejido.

- **Flores cleistógamas**

Las flores cleistógamas no presentaron corola pero durante todo el desarrollo presentaron un cáliz verde pubescente en forma de capuchón con dos dientes, uno adaxial y uno abaxial; presentaron dos o tres anteras reducidas con una teca, los estambres libres y los filamentos en forma de zigzag en la base, el ovario es pubescente y verde, el estilo es apical verde sin tricomas y está doblado en forma de U en dirección a las anteras. El estigma es truncado con prolongaciones en la orilla (Figuras 13-A,B). Las flores cleistógamas maduras midieron de 1.30 a 1.60 cm.

Durante las primeras etapas de desarrollo las anteras se encontraron completamente adheridas al estigma, algunas incluso perdieron el filamento y quedaron adheridas a los tricomas del ovario o al estigma. El ovario no fue tan alargado pero muy pubescente. El estilo está alargado y completamente doblado en dirección a las anteras y el estigma no presento membrana, por lo que se encuentran expuestas las papilas estigmáticas (Figuras 13C-E). Posteriormente, se comienza a alargar el ovario (Figura 13J). Las anteras se separaron del estigma, algunas anteras pierden el filamento, mientras avanza el desarrollo, la separación entre el estigma y las anteras se va haciendo mayor (Figuras 13F-K). El estigma comenzó a presentar protuberancias de las papilas donde se observó polen (Figuras 13L-N).

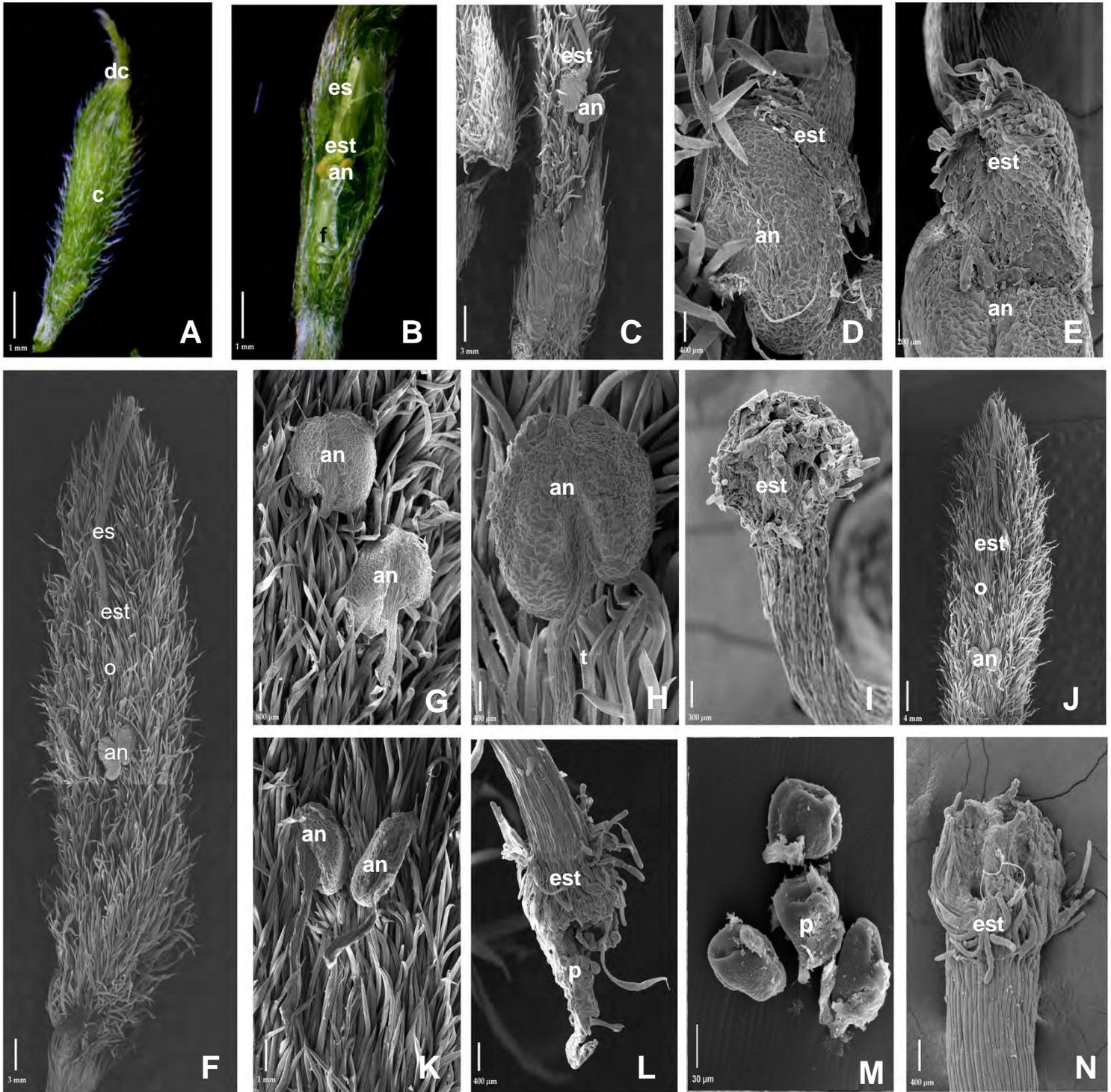


Figura 13. Imágenes de la morfología y desarrollo de las flores cleistógamas. A) Morfología externa de flor cleistógama. B) Morfología interna de flor cleistógama. C-E) Flor en etapas iniciales del desarrollo. F) Flor en etapa final del desarrollo. G-J) Flores en etapas intermedias del desarrollo. K-N) Flores en etapas finales del desarrollo. An=antera, c= cáliz, dc= dientes del cáliz, es=estilo, est= estigma, f=filamento, o=ovario, p= polen y t= tricoma.

En las primeras etapas del desarrollo las anteras y el estigma están en contacto. Posteriormente, hubo un alargamiento del ovario, lo que hace que las anteras y el estigma se separen. Las anteras quedaron adheridas al ovario pero no volvieron a tener un contacto estrecho con el estigma; sin embargo, el estilo nunca se hace recto y se mantuvo en posición de U con el estigma frente a las anteras (Figura 14).

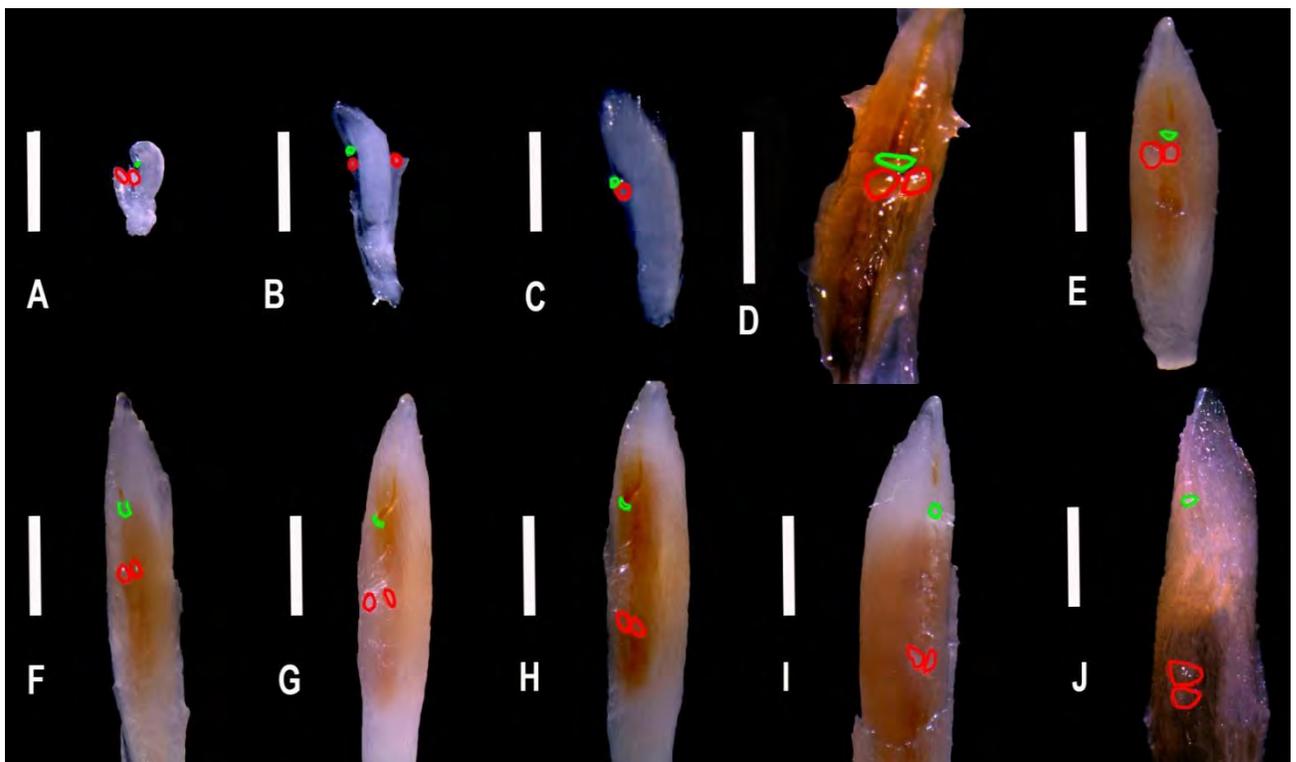


Figura 14. Posición de anteras (en rojo) y pistilo (en verde) durante las diez etapas de desarrollo de las flores cleistógamas. A) Botón de etapa 1. B) Botón de etapa 2. C) Botón de etapa 3. D) Botón de etapa 4. E) Botón de etapa 5. F) Botón de etapa 6. G) Botón de etapa 7. H) Botón de etapa 8. I) Botón de etapa 9. J) Botón de etapa 1. Escala= 3mm.

Durante las etapas donde las anteras están separadas del estigma en las flores cleistógamas, se observaron granos de polen y tubos polínicos (Figura 15D). En la etapa donde la separación es mínima, se encontraron más estigmas con granos de polen adheridos comparado con etapas donde la separación ya es notoria (Figura 15-A,B,C). También se observó un aumento en el número de individuos con tubos polínicos presentes en el estilo y ovario mientras la separación aumenta (Cuadro 5).

Cuadro 5. Número de individuos de flores cleistógamas sin granos de polen en el estigma, con tubos polínicos en el estilo y ovario. N=15 TP= Tubos polínicos.

Etapas	Granos de polen en el estigma (# de estigmas con polen / # total de estigmas)	TP en el estilo (# de estilos con TP / # total de estilos)	TP en el ovario (# de ovarios con TP / # total de ovarios)
7	12/15	10/15	7/15
8	10/15	14/15	8/15
9	8/15	13/15	13/15
10	7/15	15/15	15/15

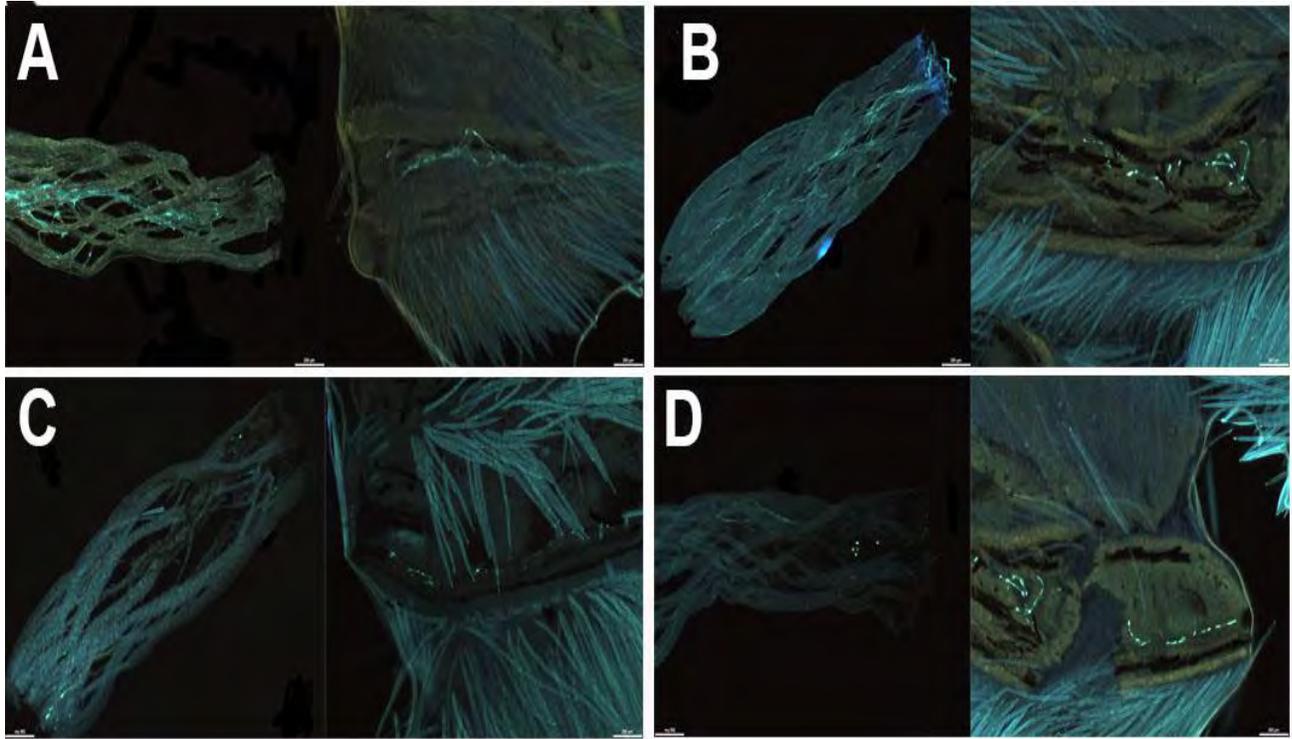


Figura 15. Fotomicrografías de los estilos y ovarios de flores cleistógamas donde se observan tubos polínicos. A) Cleistógama etapa 7. B) Cleistógama etapa 8. C) Cleistógama etapa 9. D) Cleistógama etapa 10.

Para corroborar el momento de la dehiscencia de las anteras cleistógamas, se realizaron cortes histológicos. En las anteras de las flores cleistógamas, los granos de polen ya están maduros desde etapas tempranas, además, desde la primera etapa se observaron granos de polen bien formados y uninucleados (Figuras 16-A,B,C), aunque posteriormente los granos de polen se ven anormales (Figura 16-D,E). Posteriormente, se observó la epidermis y el endotecio adelgazados, y el polen deformado (Figuras 16-F,G). En las últimas etapas se observó la ruptura del endotecio, es una ruptura en forma de poro por lo que no fue tan evidente. Se observó una pequeña cantidad de polen anormal en el poro (Figura 16H).

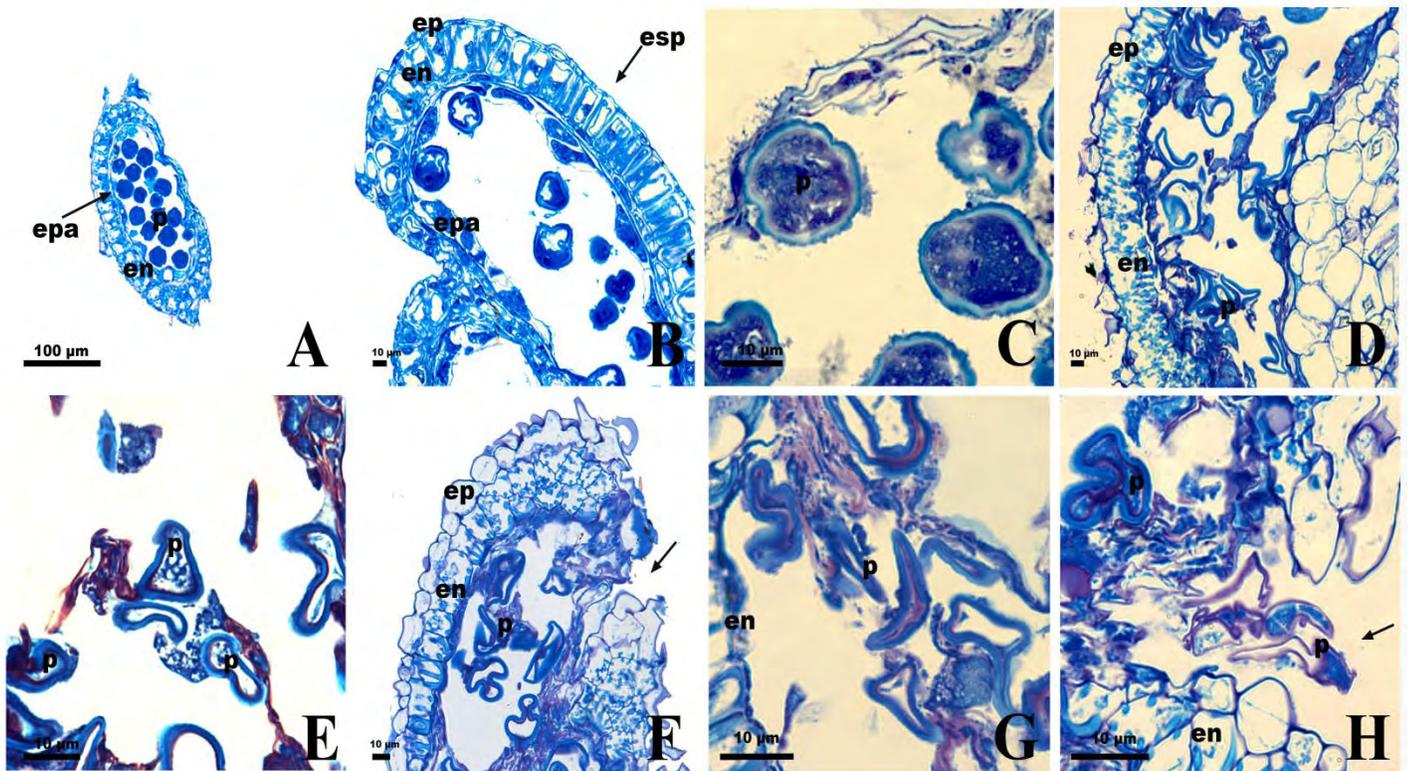


Figura 16. Fotomicrografías de las anteras cleistógamas. A-C) Etapas iniciales del desarrollo de las anteras. D-F) Etapas intermedias del desarrollo G,H) Etapas finales del desarrollo En=endotecio, ep= epidermis, epa= estrato parietal, esp= esporangio, p=polen y se señala con flechas la ruptura del tejido.

Comparación de número de óvulos, granos de polen, frutos y semillas

Número de óvulos

El promedio de óvulos en las flores casmógamas fue de 16 ± 0.66 y el promedio de óvulos en las flores cleistógamas fue de 9.6 ± 0.69 (Figura 17, Cuadro 6). En cuatro de diez flores se encontró 1 óvulo abortado. Se encontró una diferencia estadísticamente significativa entre el número de óvulos de las flores casmógamas y cleistógamas ($t=20.9486$ y $P=4.321e-14$).

Granos de polen

El promedio de granos de polen de flores casmógamas fue de 12840.7 ± 5409.1 y el promedio de granos de polen de flores cleistógamas fue de 3056.6 ± 1136.7 (Figura 17, Cuadro 6). Se encontró una diferencia estadísticamente significativa entre el número de granos de polen entre las flores casmógamas y las flores cleistógamas ($t=5.307$ y $P=5.673e-08$).

El porcentaje de la viabilidad de polen de las flores casmógamas fue del 63%, mientras que el porcentaje de viabilidad del polen de las flores cleistógamas fue del 39% (Figura 18).

Frutos

El promedio de la longitud (cm) de las legumbres casmógamas fue de 6.238 ± 0.571 y el promedio del largo (cm) de las legumbres cleistógamas fue de 4.326 ± 0.413 (Figura 17, Cuadro 6). Se encontró una diferencia estadísticamente significativa entre el largo de las legumbres casmógamas y cleistógamas ($t=12.1166$ y $P=1.272e-14$).

Semillas

El promedio del número de semillas en las legumbres casmógamas fue de 14.2 ± 1.98 y de las legumbres cleistógamas fue de 7.35 ± 1.59 semillas (Figura 16, Cuadro 6). Se encontró una diferencia estadísticamente significativa entre el número de semillas en las legumbres casmógamas y cleistógamas ($t=12.0036$ $P= 1.69e-14$). El promedio del tamaño (cm) de las semillas casmógamas fue de 1.326 ± 0.024 y el tamaño promedio de las semillas cleistógamas fue de 1.316 ± 0.005 (Figura 17, Cuadro 6). No se encontró una diferencia estadísticamente significativas ($t=1.2124$, $P=0.229$)

El promedio del peso (mg) de las semillas casmógamas fue de 13.07 ± 1.86 y el peso promedio de las semillas cleistógamas fue de 12.28 ± 2.01 (Figura 17, Cuadro 6). No se encontró una diferencia estadísticamente significativa ($t=1.2299$, $P= 0.2212$).

Cuadro 6. Promedios del número óvulos por legumbre, número de granos de polen por flor, longitud de las legumbres (cm), número de semillas, tamaño de semillas (cm) y peso de semillas (mg) en flores casmógamas y cleistógamas.

Tipo de flor	No. Óvulos N=10	No. Granos Polen N=10	Longitud Vaina (cm) N=20	No. Semillas N=20	Tamaño Semillas (cm) N=50	Peso Semillas (mg) N=50
Casmógamas	16 ± 0.66	12840.7 ± 5409.1	6.238 ± 0.571	14.2 ± 1.98	1.326 ± 0.024	13.07 ± 1.86
Cleistógamas	9.6 ± 0.69	3056.6 ± 1136.7	4.326 ± 0.413	7.35 ± 1.59	1.316 ± 0.005	12.28 ± 2.01

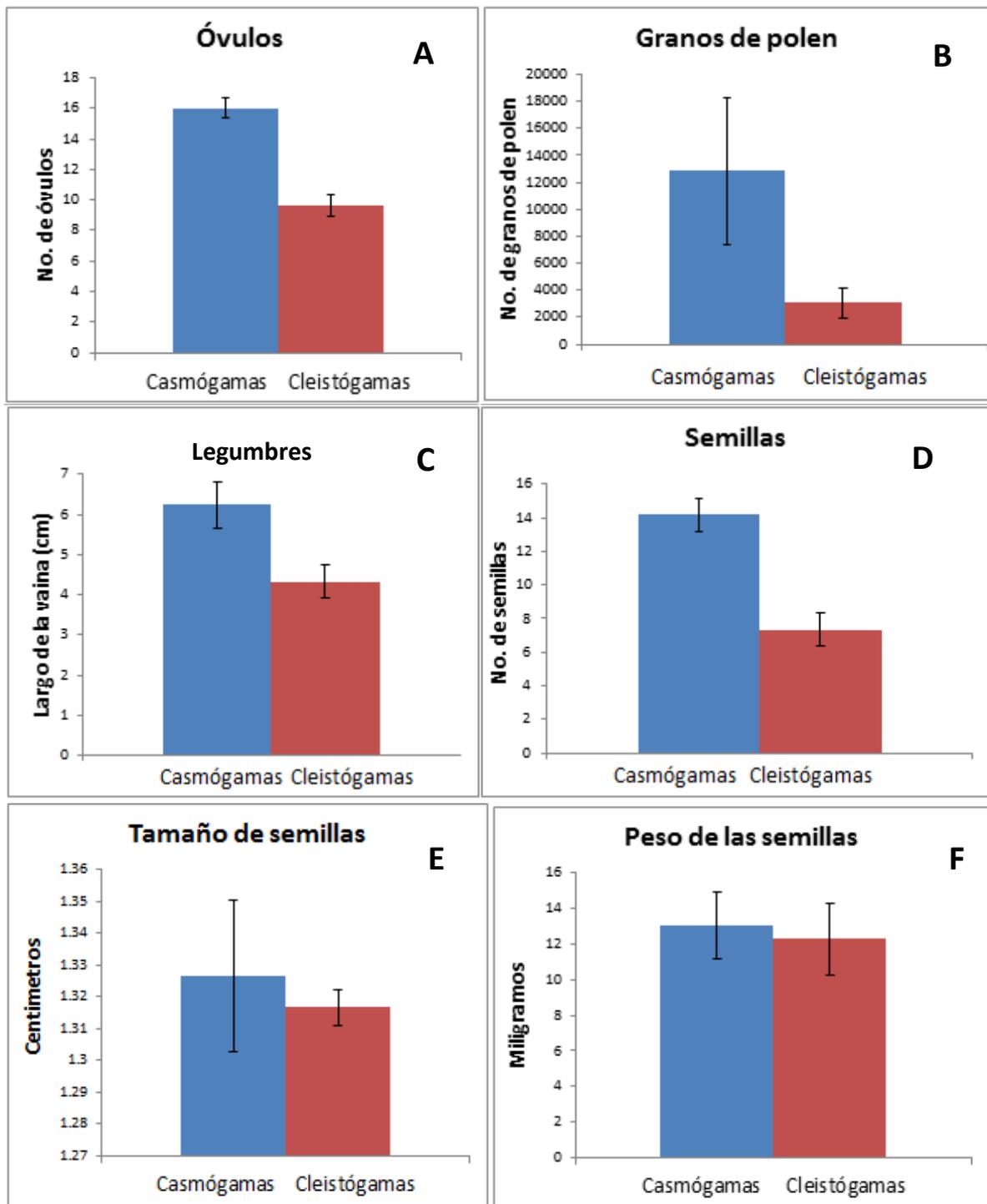


Figura 17. A) Promedio del número de óvulos de flores casmógamas y cleistógamas N=10. B) Promedio de los granos de polen de flores casmógamas y cleistógamas N=10. C) Promedio del largo de las legumbres casmógamas y cleistógamas N=20. D) Promedio del número de semillas de flores casmógamas y cleistógamas N=20. E) Promedio del tamaño de semillas casmógamas y cleistógamas N=50. F) Promedio del peso de semillas casmógamas y cleistógamas N=50.

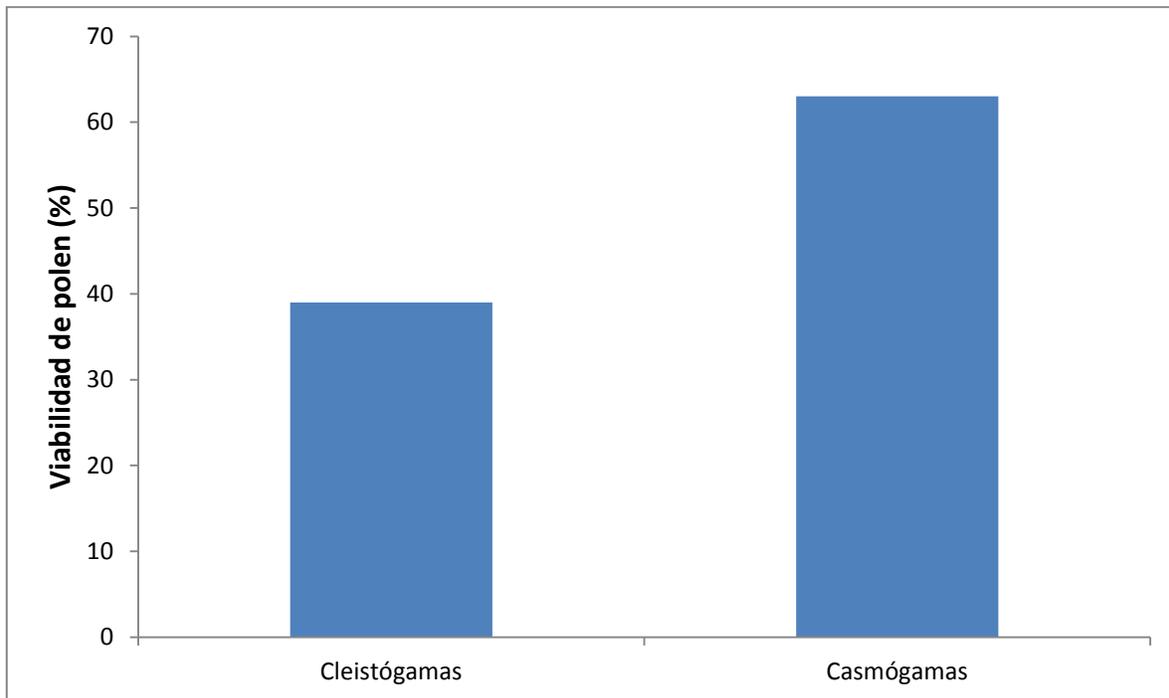


Figura 18. Porcentaje de viabilidad del polen de flores casmógamas y flores cleistógamas recolectadas en el año 2017.

Proporción polen-óvulo

Se realizó la división del promedio de polen de flores casmógamas (12840.7) entre el promedio de óvulos (16), y se obtuvo una proporción de 802.5. De acuerdo con la tabla de Cruden (1977) esta proporción corresponde al sistema de reproducción de xenogamia facultativa.

Se realizó la división del promedio de polen de flores cleistógamas (3056.6) entre el promedio de óvulos (9.6), y se obtuvo una proporción de 318.39. De acuerdo con la

tabla de Cruden (1977) esta proporción corresponde al sistema de reproducción de autogamia facultativa.

Germinación de semillas

Al momento de recolectar las semillas de las legumbres cascógamas y cleistógamas, en las legumbres colectadas en 2017 hubo una mayor cantidad de semillas podridas y abortadas en comparación con las de 2016. Además ambas colectas de legumbres sufrieron granívoría.

Las semillas cascógamas y cleistógamas presentaron la misma coloración, pardo-claro con manchas oscuras, la forma puede ser ovalada, cuadrangular o redonda. El hilo es oval y se encuentra a un costado de la semilla (Figura 19).

En el día 1 del ensayo de germinación, las semillas no se hidrataron ya que no estaban hinchadas, durante los días 2 y 3 las semillas que se hidrataron cambiaron su color a un color café sin manchas pardas perdiendo las manchas oscuras y aumentando su tamaño. Durante los días 3 y 4, se consideraron semillas germinadas aquellas que presentaron la radícula emergida de más de 2 mm de longitud. La germinación es de tipo epígea. La radícula tiene el extremo triangular con pubescencia y el hipocótilo está enrollado. Del día 4 al día 7 y 8 hay una elongación de la radícula y el hipocótilo, elevando los cotiledones y emergiendo de la cubierta seminal al día 8. También se notó un color púrpura cerca del nudo cotiledonar. Los cotiledones son oblongos y de margen entero. Comienza el elongamiento del epicótilo con el primer par de hojas simples y opuestas. Después comenzaron a emerger los nomófilos (Figura 19).

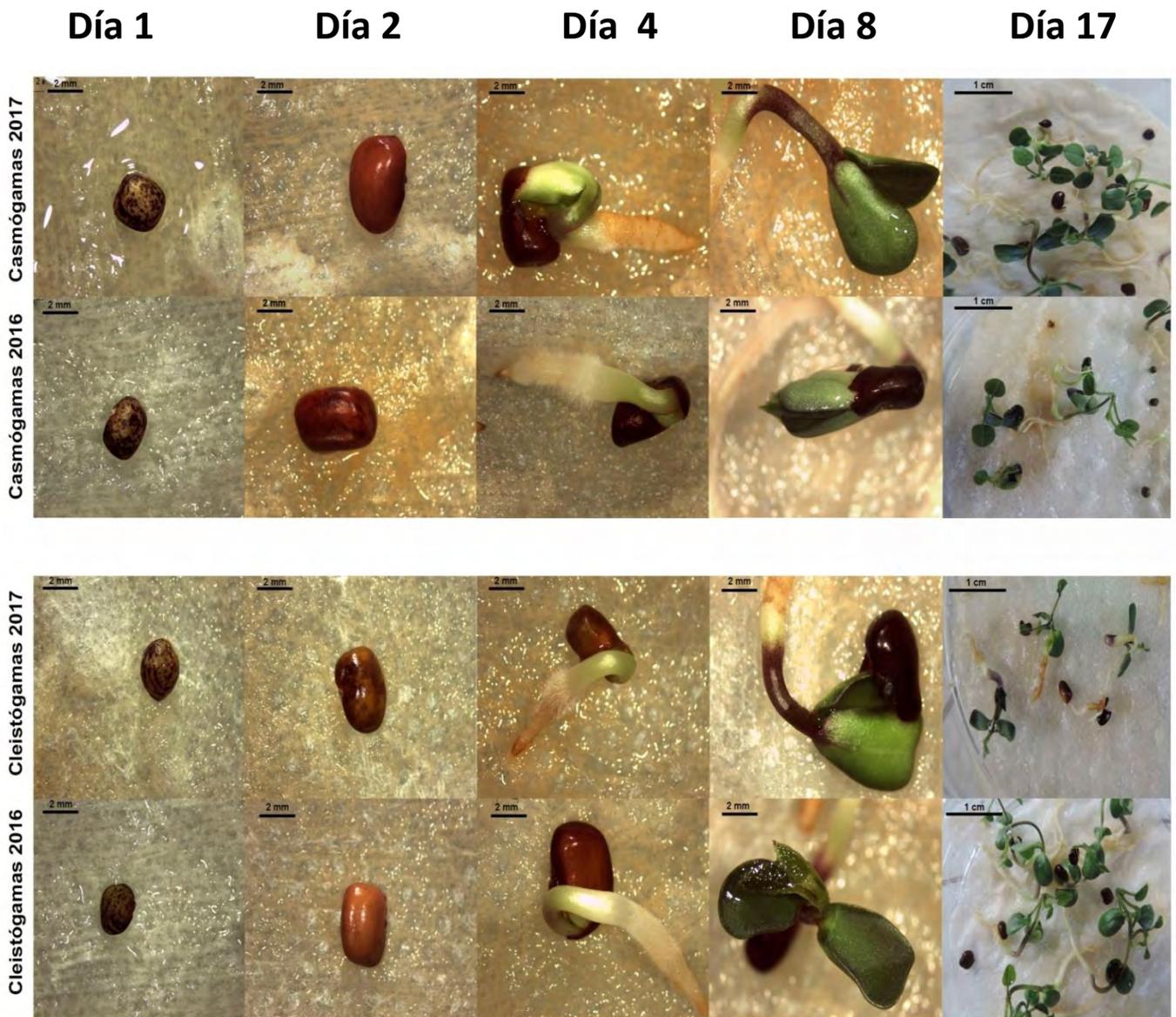


Figura 19. Semillas y plantúlas casmógamas y cleistógamas de los años 2016 y 2017. Escala= 2 mm y 1 cm.

Las semillas casmógamas y cleistógamas comenzaron a germinar a partir del día 3 desde la siembra. El pico de germinación para las semillas casmógamas colectadas en 2016 fue el día 3 y se obtuvo un porcentaje de germinación del 96.6%; sin embargo, para las semillas casmógamas de 2017 la germinación se dio paulatinamente durante

los 30 días y se obtuvo un porcentaje de germinación del 66.6% (Figura 20), además una plantúla casmógama no sobrevivió los 30 días. El pico de germinación de las semillas cleistógamas de 2017 fue el día 8 y se obtuvo un porcentaje de germinación del 93.3%; sin embargo, para las semillas cleistógamas de 2016, el pico de germinación fue el día 4, pero solamente se obtuvo un porcentaje de germinación del 60% (Figura 20), en este caso todas las plantúlas cleistógamas sobrevivieron los 30 días. No se encontraron diferencias significativas entre el número de semillas casmógamas y cleistógamas germinadas con la prueba de ANOVA ($F=2.216$, $P=0.103$).

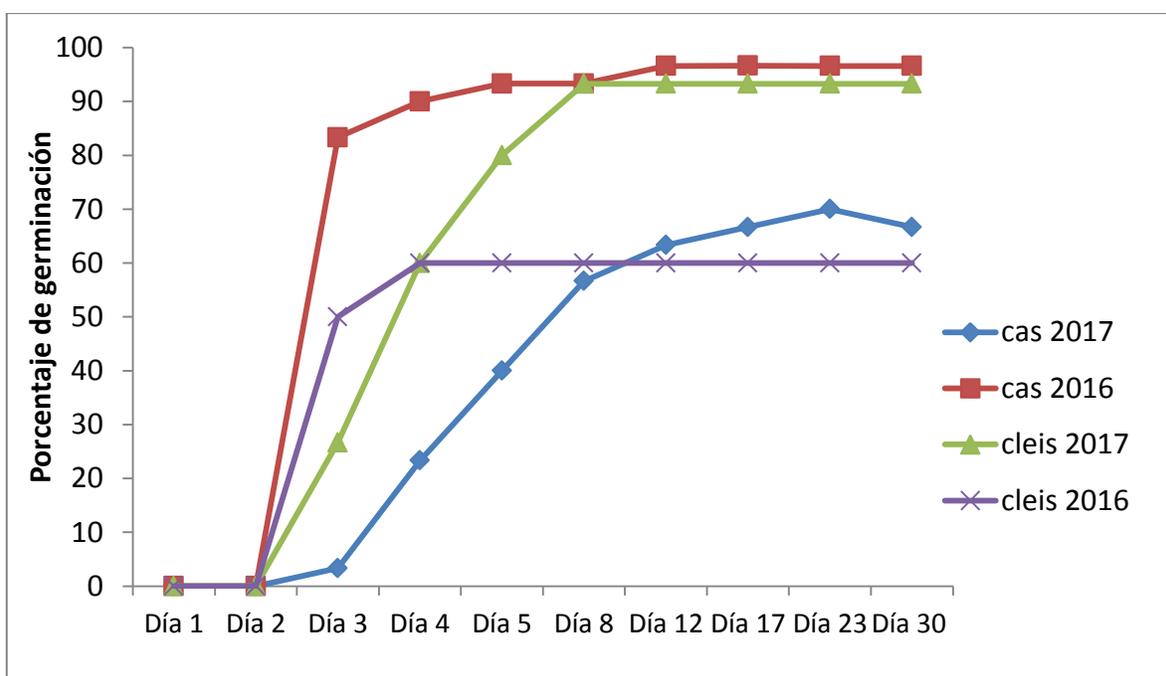


Figura 20. Porcentaje de germinación de semillas casmógamas y cleistógamas durante 30 días.

DISCUSIÓN

Fenología

La duración de la floración de *Cologania biloba* para el año 2016 fue de mes y medio (agosto y septiembre) y para el 2017 de un mes (agosto). Esta variación entre los años puede explicarse debido a factores ambientales, tales como la precipitación. Al analizar los valores de precipitación registrados por la Red Universitaria de Observatorios Atmosféricos ROUA-UNAM (com. pers. Dra. Rocío García) en 2016 no hubo valores de precipitación extremos y se presentó una continuidad en la cantidad de precipitación desde el 27 de mayo hasta el 14 de septiembre, coincidiendo con el término de la floración; en 2017 se registraron varios valores extremos durante el periodo de lluvias como en mayo (32 mm), julio (50 mm y 29 mm) y en agosto (69.2 mm). Este aumento en la precipitación pudo ser la causa de que el periodo de floración de la población durante el 2017 se acortara, ya que la precipitación no ocurrió de manera continua como sucedió en 2016, sino que se presentó con intervalos y en estos la precipitación era mayor que durante 2016.

No se encontró un patrón de distribución de las flores en las inflorescencias apicales, medias y basales; sin embargo, se encontró que en las inflorescencias basales siempre hay menos flores, ya sean casmógamas y cleistógamas (Figura 6). En la población se encontró que durante el 2016, la mayor proporción de flores fue de cleistógamas mientras que en 2017 la proporción de flores casmógamas y cleistógamas fueron la misma (Cuadro 3). En la literatura se reporta que la proporción de flores casmógamas y

cleistógamas depende de factores ambientales, y cambia de acuerdo con las condiciones son favorables o desfavorables para la planta. En general cuando hay condiciones favorables las flores cleistógamas disminuyen y cuando hay condiciones desfavorables, las flores cleistógamas aumentan (Hempel, 2004; Oakley *et al.*, 2007). Lo que reporta Lord (1981), también concuerda con los resultados obtenidos en este trabajo ya que se encontraron diferentes proporciones en dos años sugiriendo que la distribución de flores casmógamas y cleistógamas en la población de *C. biloba* en la REPSA se debe a factores ambientales, tales como la precipitación. En términos de éxito reproductivo, expresado en semillas producidas, el 2016 fue el año más favorable, ya que las legumbres no presentaban putrefacción, mientras que en 2017 la mayoría de las legumbres se encontraban podridas, teniendo una o dos semillas en buen estado.

En la literatura se reporta que las plantas perennes cleistógamas pueden producir secuencialmente o sincrónicamente las flores casmógamas y cleistógamas y si se producen al mismo tiempo, hay un solapamiento en la producción durante todo el periodo de floración. En cambio, las plantas anuales producen primero flores cleistógamas, después se solapa la producción de flores casmógamas y cleistógamas y, ocasionalmente, se tiene un periodo de flores cleistógamas nuevamente (Oakley *et al.*, 2007). La fenología de *C. biloba* concuerda con una planta perenne, ya que la producción de flores casmógamas y cleistógamas comienza al mismo tiempo y hay un solapamiento durante todo el periodo de floración; sin embargo, en *C. biloba* se presentaron picos de floración para las flores casmógamas y cleistógamas (Figura 8), como se presentan en *Viola pubescens* y *Glycine clandestina*, especies perennes con floración secuencial. En estas especies se presenta primero un pico de flores

casmógamas y al iniciar el decremento de éstas comienza el pico de las flores cleistógamas, por lo que al final de la floración hay una mayor cantidad de flores cleistógamas (Culley, 2002; Hempel, 2004).

Morfología

La cleistogamia que se presenta en *Cologania biloba* es verdadera, ya que las flores cleistógamas tienen diferencias morfológicas que no son arrestos en el desarrollo sino cambios drásticos de morfología como la reducción de anteras y la ausencia de corola (Figura 4), esto permite sugerir que las flores casmógamas y cleistógamas provienen de vías de desarrollo diferentes, por lo que su producción está determinada genéticamente (Lord, 1981).

La ausencia de corola también se presenta en especies con flores cleistógamas subterráneas y aéreas como en *Macroptilium arenarium*, *Trifolium polymorphum*, y *Vicia amphicarpa*. Además, las flores cleistógamas de *C. biloba* comparten otras características morfológicas con las flores cleistógamas de estas especies, como lo son el engrosamiento del cáliz en forma de capuchón, una reducción en el número de anteras, en este caso se reduce de 7 anteras en flores casmógamas a 2 o 3 en flores cleistógamas, y el desarrollo de las anteras se da logrando un íntimo contacto entre éstas y el estigma (Trapp y Hendrix, 1988; Speroni e Izaguirre, 2003; Gotelli *et al.*, 2006), la morfología de las flores cleistógamas favorece la autopolinización; sin embargo, la morfología de las flores casmógamas no la impide (Figura 10-14).

Por lo que se refiere a las flores casmógamas de *C. biloba*, éstas son flores cleistógamas pre-antesis según la clasificación de Lord (1981), ya que son flores morfológicamente diferentes de las cleistógamas pero sus anteras son dehiscentes antes de la antesis. Además, se observaron tubos polínicos creciendo en los pistilos de los botones florales. Otras especies que presentan cleistogamia pre-antesis son *Macroptilium arenarium* y *Macroptilium fraternarium* que también presentan polen germinado en el estigma, tubos polínicos y fecundación en estados de pre-antesis (Drewes y Hoc, 2000; Gotelli *et al.*, 2006). Se sugiere que la falta de un vector eficiente para *C. biloba* es una causa de la autopolinización en botones florales casmógamos; como se reportó para otra especie cleistógama, *Viola pubescens*, que durante los dos años de monitoreo sólo se registró la visita de un polinizador en la población por lo que tampoco tiene un polinizador eficiente; sin embargo, esta planta tiene como estrategia la autopolinización tardía (Culley, 2002).

Para el caso de las anteras de *C. biloba*, en ambos tipos de flores, se observaron anteras tetraesporangiadas, que presentan epidermis, endotecio y estrato parietal. No se observó el tapetum, ya que en ambos casos el polen uninucleado ya estaba completamente formado desde las etapas más tempranas. Para las anteras de las flores casmógamas, se observó una dehiscencia longitudinal, mientras que en las anteras de las flores cleistógamas no se observó una línea de dehiscencia clara; sin embargo, en los cortes histológicos se notó un adelgazamiento de la pared de la antera formando un poro en las últimas etapas del desarrollo; no obstante, el polen que se observó en estas etapas se encuentra deformado (Figuras 12 y 16). En la literatura se reporta el caso de *Macroptilium arenarium* donde las flores cleistógamas tampoco

presentan dehiscencia. Además, tampoco se encontraron tubos polínicos en los estigmas, sugiriendo que la formación de frutos es por apomixis. Al compararlo con *C. biloba*, se encontró que en las flores cleistógamas sí se encontraron tubos polínicos en los estilos y ovarios (Figura 15) (Gotelli *et al.*, 2006).

Cabe mencionar que Flores (2013) reporta para el género *Cologania* que las flores casmógamas del género *Cologania* presentan diez anteras diadelfas siendo este número el único reportado para el género. No obstante, de acuerdo a las observaciones de este trabajo la población de la REPSA presentó siete anteras, siendo este el primer registro de una reducción en el número de anteras de una población de *Cologania*. Los estambres se presentan como seis fusionados y uno libre. La reducción en el número de estambres en Papilionoideae también ha sido reportada para otras especies como *Abrus precatorius*, donde la reducción es en el verticilo interno dando lugar a nueve anteras (Prenner, 2013). Otro ejemplo es *Dalea candida* donde la reducción es más drástica ya que solamente presenta cinco anteras reduciendo completamente el verticilo interno (McMahon y Hufford, 2002). Sin embargo para el caso de *C. biloba* no es posible señalar en que verticilo se está dando la reducción de anteras.

Comparación de óvulos, granos de polen, frutos y semillas

La diferencia en la producción de óvulos entre flores casmógamas y cleistógamas que se encontró en *C. biloba* concuerda con lo reportado para *Impatiens capensis*, otra especie cleistógama. En ambas, la producción de óvulos en las flores casmógamas es el doble que en las flores cleistógamas (Cuadro 6). Esta disminución es una manera de

reducir el costo de producción de las flores cleistógamas y de igual manera producir semillas viables (Lu, 2002).

La diferencia entre el número de granos de polen de flores casmógamas y clesitógamas se debe a la morfología de cada una, las casmógamas presentan siete anteras y las cleistógamas de dos a tres anteras y reducidas, haciendo que el número de granos de polen sea cuatro veces menos en las flores cleistógamas (Cuadro 6, Figura 17-B); sin embargo, la posición de los órganos sexuales asegura la autopolinización. La diferencia en el largo de la vaina se debe a la cantidad de semillas que se producen en cada una, relacionado con el número de óvulos. De igual manera, las flores casmógamas producen el doble de semillas que las flores cleistógamas.

En las plantas cleistógamas con flores aéreas, como lo es *C. biloba*, no se presentan diferencias morfológicas en el largo de las legumbres, ni en el peso de la semilla, ni en la capa externa de la semilla por lo que se presume que la dispersión de los dos tipos de semillas debe ser similar (Figura 17) (Culley, 2002; Baskin y Baskin, 2017).

Germinación de semillas casmógamas y cleistógamas

Las semillas casmógamas y cleistógamas en *Cologania biloba* no presentan diferencias en su morfología ni en el tipo de germinación. En los porcentajes de germinación se observó que las semillas casmógamas de 2016 y las cleistógamas de 2017 tuvieron un mejor porcentaje de germinación que las otras semillas; sin embargo, no se encontró una diferencia significativa en los porcentajes de germinación de las semillas casmógamas y cleistógamas. Esto concuerda con lo reportado por Oakley *et al.* (2007) y

Baskin y Baskin (2017), donde dos tercios de las especies cleistógamas que se revisaron, entre ellas *Lespedeza virginica*, *Amphicarpaea bracteata*, *Viola pubescens* e *Impatiens capensis*, no presentan una diferencia en la capacidad de germinación entre semillas casmógamas y cleistógamas. No obstante, las semillas casmógamas de 2016 germinaron mejor que las semillas de 2017 y las semillas cleistógamas de 2017 germinaron mejor que las semillas de 2016. Esto puede atribuirse a factores climáticos, como la cantidad de lluvia, la cantidad de luz y el suelo, factores que afectan la viabilidad, la formación de las semillas y la latencia. *C. biloba* presentó un porcentaje de germinación en semillas de flores casmógamas y cleistógamas de más del 90%. Si comparamos este porcentaje de germinación con el de *V. pubescens*, que alcanza un máximo del 20% reportado por Culley (2002), se puede demostrar que el sistema de cleistogamia/casmogamia de *C. biloba* en la REPSA es un sistema eficiente de germinación.

Los resultados obtenidos en *Cologania biloba* con respecto al porcentaje de la germinación de las semillas y sobrevivencia de las plántulas casmógamas y cleistógamas, no se encontró una diferencia en la adecuación de la descendencia, lo cual hace de las flores cleistógamas, flores que son energéticamente menos costosas e igual de eficientes que las flores casmógamas; esto concuerda con lo reportado por Oakley *et al.* (2007).

Implicaciones de la cleistogamia en *C. biloba*

Las estrategias dimórficas para la reproducción son comunes en plantas, y se consideran evolutivamente estables. La cleistogamia se ha visto como una manera de aumentar la adecuación de un individuo ya que aumenta la fertilidad y garantiza el dejar descendencia. Desde este punto de vista la cleistogamia es una adaptación a ambientes heterogéneos, donde se garantiza la reproducción, sin importar si las condiciones ambientales son adecuadas (Lloyd, 1983). Para *C. biloba* esta estrategia dimórfica funciona en el ambiente heterogéneo de la REPSA, ya que durante los dos años de este estudio aseguró la producción de semillas y al no encontrar una diferencia en la germinación entre estas, cualquier semilla puede ser viable para establecer la siguiente generación.

Las flores cleistógamas son menos costosas energéticamente para la planta y aseguran la descendencia; sin embargo, el invertir en las flores casmógamas evita la depresión por endogamia (Lloyd, 1979). La autogamia que se da en la población de *C. biloba* afecta la estructura genética, generando una mayor cantidad de homocigosis, esto aunado a la posible ausencia de flujo génico con otras poblaciones hará que en cada población se fijen alelos diferentes. El sistema de cleistogamia para las plantas parece ser eficiente en purgar los alelos deletéreos a través de la autofecundación, ya que en plantas cleistógamas el sistema al parecer ha evolucionado en diferentes dicotiledóneas (Culley y Klooster 2007). Como consecuencia, la endogamia aumenta la producción de homócigos por lo que cada vez que un alelo deletéreo aparece es eliminado rápidamente de la población. Esto es determinado por varios factores, como el grado de dominancia de los alelos, interacciones entre los loci, la distribución de las mutaciones,

el sistema de apareamiento y la historia evolutiva de la especie; además, la selección debe estar actuando sobre estos alelos deletéreos para reducir la carga génica, haciendo imperceptible la depresión por endogamia, ya que solamente presentarán una baja adecuación los genotipos portadores del alelo desventajoso cuando éste recién haya surgido en la población. No obstante, los sistemas que presentan la posibilidad de tener fecundación cruzada y de autofecundarse son aún un enigma, ya que no presentan una tendencia clara hacia ser sistemas completamente cruzados o completamente autógamos. Esto se observa con *C. biloba* y la descripción fenotípica de este trabajo muestra como resultado una población autógama; sin embargo, un futuro estudio sobre la estructura genética de la población de la REPSA podría brindarnos más información sobre estos sistemas (Byers y Wallers, 1999; Hedrick, 1999; Oakley *et al.*, 2007).

Cole y Bisboer (1992) reportan que en poblaciones de plantas cleistógamas ocurren dos fenómenos. Se pueden fijar alelos diferentes generando diferenciación entre las poblaciones o se puede fijar el mismo alelo en la mayoría de los loci haciendo uniformes las poblaciones. Para el género *Lespedeza* se han descrito estos dos fenómenos en dos especies cleistógamas. En *Lespedeza leptostachya* se ha descrito que sus poblaciones son uniformes, por lo tanto, son susceptibles a cualquier factor extrínseco como depredadores, temperatura, plagas, entre otros. En cambio, para *Lespedeza capitata*, se ha descrito que por su amplia distribución, cada población se está diferenciando genéticamente, aunque se registró un flujo génico a través de las flores casmógamas entre poblaciones lejanas. En el caso de la población de la REPSA de *C. biloba* se observó que durante los dos años de observaciones toda la población se comportó

como cleistógama, ya que no se observaron polinizadores y las flores casmógamas son flores cleistógamas pre-antesis. Esto no implica que no haya la posibilidad de la existencia de algún vector que las polinice. En la población de *C. biloba* de la REPSA se observó un sistema estable, por lo que se sugiere que la purga de alelos deletéreos es eficiente para evitar la depresión por endogamia. La población parece encontrarse uniforme; sin embargo, con este estudio descriptivo no es posible afirmar cómo se encuentra la estructura genética de la población.

CONCLUSIONES

1. La proporción de flores casmógamas y cleistógamas difieren entre el 2016 y 2017 porque los factores ambientales son determinantes en su proporción.
2. Existe un patrón de floración donde las flores casmógamas y cleistógamas aparecen al mismo tiempo, pero tienen picos de floración en momentos diferentes durante el periodo.
3. Las flores casmógamas y cleistógamas presentan diferencias morfológicas, la morfología de las flores cleistógamas favorece la autopolinización y la morfología de las flores casmógamas no la impide.
4. La población de *Cologania biloba* en la REPSA es el primer registro de flores con 7 anteras.
5. Las flores casmógamas son flores cleistógamas pre-antesis.
6. Se encontró una diferencia en la producción de óvulos, granos de polen, semillas y la longitud de la legumbre entre flores casmógamas y cleistógamas

7. No se encontró una diferencia en el peso, tamaño y porcentaje de germinación de las semillas entre flores casmógamas y cleistógamas.

PERSPECTIVAS

A partir de los resultados obtenidos en el presente trabajo, se considera que se deben realizar estudios sobre la polinización de esta especie para determinar si existe o no un vector eficiente para la polinización cruzada de las flores casmógamas, además de conocer la estructura genética de la población para determinar el efecto que ha tenido la endogamia. De igual manera conocer el desarrollo embriológico de ambos tipos de flores para reconocer semejanzas y diferencias durante la formación de los óvulos y granos de polen así como determinar la manera en que los granos de polen de flores cleistógamas llegan al estigma.

BIBLIOGRAFÍA

- Baskin J. y C. Baskin. 2017. Seed germination in cleistogamous species: theoretical considerations and a literature survey of experimental results. *Seed Science Research* (2017) 1-15. DOI: 10.1017/S0960258517000058.
- Byer D.L. y D.M. Waller. 1999. Do plant populations purge their genetic load? Effects of population size and mating history on inbreeding depression. *Annual Review of Ecology and Systematics* 30:479-513.
- Carrillo A. R. Q., J. F. E. Quiroz, C. R. M. Nieto y J. L. Miranda. 2010. Apomixis y su importancia en la selección y mejoramiento de gramíneas forrajeras tropicales. Revisión. *Revista Mexicana De Ciencias Pecuarias*, 1(1): 25–42.
- Castillo-Argüero S., Y. Martínez-Orea, M.A. Romero-Romero, P. Guadarrama-Chávez, O. Núñez-Castillo, I. Sánchez-Gallén y J.A. Meave. 2007. *La Reserva Ecológica del*

Pedregal de San Ángel: aspectos florísticos y ecológicos. Departamento de Ecología y Recursos Naturales, Facultad de Ciencias, UNAM, México, D.F. 294 pp.

Cole C.T. y D. Biesboer. 1992. Monomorphism, reduced gene flow and cleistogamy in rare and common species of *Lespedeza* (Fabaceae). *American Journal of Botany* 79(5):567-575. DOI: 10.1002/j.1537-2197.1992.tb14594.x

Cruden R.W. 1977. Pollen-Ovule Ratios: A conservative indicator of breeding systems in flowering plants. *Evolution* 31(1): 32-46.

Culley T.M. 2000. The reproductive biology. Mating system and genetic consequences of chasmogamous and cleistogamous flower production in Violets (*Viola*). Tesis de Doctorado en Filosofía. Programa de Evolución, Ecología y Biología de Organismos, Universidad del Estado de Ohio. Estados Unidos, Ohio. 114 pp.

Culley T.M. 2002. Reproductive biology and delayed selfing in *Viola pubescens* (Violaceae), an understory herb with chasmogamous and cleistogamous Flowers. *International Journal of Plant Sciences* 163(1): 113-122. DOI: 10.1086/324180

Culley T. M. y M.R. Klooster. 2007. The cleistogamous breeding system: A review of its frequency, evolution and ecology in angiosperms. *The Botanical Review* 73(1):1-30.

Darwin C. R. 1877. The different forms of flowers on plants of the same species. John Murray, London. Reprint, 1986. University of Chicago press, Chicago, Illinois.

Drewes S. y P. Hoc. 2000. Morfología y desarrollo de flores cleistógamas en *Macroptilium fraternum* (Fabaceae). *Kurtiziana* 28(2): 229-238.

Flores G. 2013. Análisis taxonómico del género *Cologania* (Leguminosae). Tesis de Maestría en Ciencias (Biología). Posgrado en Ciencias Biológicas, Facultad de Ciencias, Universidad Nacional Autónoma de México. México, D.F. 213 pp.

Gallardo R., E. Domínguez y J.M. Muñoz. 1993. The heterochronic origin of the cleistogamous flower in *Astragalus cymbicarpos* (Fabaceae). *American Journal of Botany* 80(7): 814-823.

Gotelli M., B. Galatii y P. Hoc. 2006. Embryology of *Macroptilium arenarium* (Leguminosae). *Australian Journal of Botany* 54: 531-542.

Hedrick P. 1999. *Genetics of population*. 2ª Ed. Jones and Bartlett Publishers. Estados Unidos 553 pp.

Hoc P., S. Drewes y M.T. Amela. 2003. Biología floral, sistema reproductivo y éxito reproductivo de *Macroptilium fraternum* (Fabaceae). *Revista de Biología Tropical* 51(2): 369-380.

- Hempel A. 2004. Advantages of chasmogamy and cleistogamy in a perennial *Glycine clandestina* Wendl. (Fabaceae). Tesis para doctorado en Filosofía de la Universidad Nacional Australiana. Canberra, Australia. 197 pp.
- Lloyd, D.G. 1979. Some reproductive factors affecting the selection of self-fertilisation in plants. *American Naturalist* 113: 67-79.
- Lloyd, D.G. 1983. Variation strategies of plants in heterogeneous environments. *Biological Journal of Linnean Society* 21: 257-285.
- López Ma. D. L., J. Márquez y G. Murguía. 2005. Técnicas para el estudio del desarrollo en angiospermas 2ª Ed. Facultad de Ciencias, UNAM. México. 178 pp.
- Lord E.M. 1981. Cleistogamy: A tool for the study of floral morphogenesis, function and evolution. *The Botanical Review* 47(4): 421-449.
- Lovey R.J, P. Perissé, C. Vieyra, y J.C. Coraglio. 2010. Seed, germination and seedling characterization of *Cologania broussonetii* (Balb.) DC. *Phyton* 79(1):5-10.
- LPWG. 2017. A new subfamily classification of the Leguminosae based on a taxonomically comprehensive phylogeny – The Legume Phylogeny Working Group (LPWG). *Taxon* 66(1): 44-77. DOI: 10.12705/661.3
- Lu Y. 2002. Why is cleistogamy a selected reproductive strategy in *Impatiens capensis* (Balsaminaceae)? *Biological Journal of Linnean Society* 75: 543–553.
- Massinga R., K. Al-kathib, P. Amand y J. Miller. 2005. Relative fitness of imazamox-resistant common sunflower and prairie sunflower. *Weed Science* 53(2):166-174.
- McMahon M. y L. Hufford. 2002. Developmental morphology and structural homology of corolla-androecium synorganization in the tribe Amorpeae (Fabaceae: Papilionoideae). *American Journal of Botany* 89(12): 1884-1898.
- Mori T., H. Kuroiwa, T. Higashiyama y T. Kuroiwa. 2006. Generative Cell Specific 1 is essential for angiosperm fertilization. *Nature Cell Biology* 8(1): 64-71.
- Oakley C., K.S. Mourichi y A. Winn. 2007. The maintenance of outcrossing in predominantly selfing species: Ideas and evidence from cleistogamous species. *Annual Review of Ecology, Evolution and Systematics* 30: 437-457. DOI: 10.1146/annurev.ecolsys.38.091206.095654
- Prenner, G. 2013. Flower development in *Abrus precatorius* (Leguminosae: Papilionoideae: Abreae) and a review of androecial characters in Papilionoideae. *South African Journal of Botany* 89: 210-218.
- Rodríguez-Riaño T., A. Ortega-Olivencia y J.A. Devesa. 1999. Biología floral en Fabaceae. En: Monografías del Real Jardín Botánico CSIC, Tomo 16. Madrid, España.

Rzedowski, J. 1954. Vegetación del Pedregal de San Ángel (Distrito Federal, México). *Anales de la Escuela Nacional de Ciencias Biológicas* 8 (1-2):59-129.

Rzedowski G.C. y J. Rzedowski. 2001. Flora fanerogámica del Valle de México. 2ª Ed. Instituto de Ecología y Comisión Nacional para el Conocimiento de la biodiversidad. Pátzcuaro, Michoacán, México. 1341 pp.

Sousa S., M.R. Medina, L.G. Andrade y M.L. Rico. 2004. Leguminosas. En: A. García-Mendoza, M.J. Ordóñez y M. Briones-Salas (eds.). Biodiversidad de Oaxaca. Instituto de Biología, Universidad Nacional Autónoma de México Fondo Oaxaqueño para la Conservación de la Naturaleza - World Wildlife Fund. México, D.F. pp. 249-269.

Speroni G. y P. Izaguirre. 2003. Características biológicas de la leguminosa nativa promisoramente forrajera *Trifolium polymorphum* Poir. (Fabaceae-Faboide). *Agrociencia* 7(1): 68-76.

Trapp E.J. y S.D. Hendrix. 1988. Consequences of a mixed reproductive system in the Hog Peanut, *Amphicarpaea bracteata* (Fabaceae). *Oecologia* 75(2):285-290.

Turner B.L. 1992. Taxonomic overview of the genus *Cologania* (Fabaceae, Phaseoleae). *Phytologia* 73(4): 281-301.

Valiente-Banuet, A. y G. E. Luna. 1990. Una lista florística actualizada para la Reserva del Pedregal de San Ángel, México, D.F. *Acta Botánica Mexicana* 9:13-30.