

## BIOLÓGÍA REPRODUCTIVA DE *CROTALARIA MICANS* LINK (FABACEAE): ESPECIE COLONIZADORA DE AMPLIA DISTRIBUCIÓN GEOGRÁFICA

### Reproductive biology of *Crotalaria micans* Link (Fabaceae): pioneer species of wide geographical distribution

Soraya VILLALOBOS<sup>1</sup> y Nelson RAMÍREZ<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Instituto Venezolano de Investigaciones Científicas (IVIC).  
Centro de Ecología. Laboratorio de Biología de Organismos.  
Altos de Pipe, carretera Panamericana km 11. Apartado 21827.

Tel: +58 212 5041283 Fax: +58 212 5041088. Venezuela  
svillallo@ivic.ve; villalobos.soraya@gmail.com

<sup>2</sup>Centro de Botánica Tropical, Instituto de Biología  
Experimental, Facultad de Ciencias, Universidad Central  
de Venezuela. Apartado 48312, Caracas 1041A, Venezuela  
nramirez@reaccium.ve

#### RESUMEN

La biología reproductiva de *Crotalaria micans* fue estudiada en áreas perturbadas del remanente de bosque nublado de Altos de Pipe (IVIC), estado Miranda, Venezuela. Las flores abren progresivamente desde las 6:00 h hasta las 10:00 h con una longevidad de cuatro días. El número promedio de flores abiertas por inflorescencia es de 3 (1-6). La secreción de néctar se inicia entre las 14:30 y 15:00 h, el volumen máximo producido es de 1 µl/h. Las flores son visitadas por abejas carpinteras (*Xylocopa* sp.), *Apis mellifera*, y hormigas (*Solenopsis* sp.). La actividad de los visitantes fue diurna y *Xylocopa* sp. estableció contacto directo con el estigma. Más del 50% de la biomasa floral es asignada a la corola y por tanto a la atracción. La relación biomasa reproductiva/biomasa vegetativa fue de 0,28 indicando un desbalance entre el perianto y las partes reproductivas. Los cruces controlados indican que *C. micans* es autógama, sin embargo, las características de inversión de biomasa y la relación Polen/Óvulo sugieren un sistema reproductivo xenógamo. El comportamiento autógamo se explica como una conducta consecuente con la historia de vida de la planta y su supervivencia en ambientes perturbados. La comparación de los rasgos reproductivos de *C. micans* en el área estudiada no difiere de los expresados en un estudio similar realizado previamente en una zona templada suramericana, lo cual indica que la variación geográfica no representa un factor que condicione el comportamiento reproductivo de la especie.

**Palabras clave:** Autocompatibilidad, autogamia, autopolinización, biomasa floral, *Crotalaria*, eficiencia reproductiva, melitofilia, relación Polen/Óvulo

#### ABSTRACT

The reproductive biology of *Crotalaria micans* was studied in disturbed areas of the remainder of cloudy forest of Altos de Pipe (IVIC), Miranda State, Venezuela. The flowers open progressively from the 6:00 h until the 10:00 h with a longevity of four days. The average number of flowers opened by inflorescence were 3 (1-6). The secretion of nectar begins between the 14:30 and 15:00 h, the maximum volume is 1 µl/h. The flowers are visited by

carpenter bees (*Xylocopa* sp.), *Apis mellifera*, and ants (*Solenopsis* sp.). The activity of the visitors occur during the morning and afternoon. *Xylocopa* sp. was the visitor that established direct contact with the stigma. More than 50% of floral biomass is allocated to the corolla, and therefore to attraction. Reproductive/vegetative biomass ratio was 0,28, which indicate an unbalanced biomass allocation between perianth and reproductive parts. However, the characteristics of investment of biomass and the Pollen/Ovule ratio do not coincide with the results of the controlled crossings and they suggest a xenogamous reproductive system. The autogamous behavior is explained as consequent with the history of life of the plant and its survival in perturbed atmospheres. The comparison of the reproductive trait of *C. micans* in the studied area does not differ of the features expressed in a similar study carried out previously in a temperate South American area; this indicates that the geographical variation does not represent a factor that influences the reproductive behavior of the species.

**Key words:** *Crotalaria*, floral biomass, inselfin, melittophyly, Pollen/Ovule ratio, reproductive efficiency, self-compatibility, self-pollination

## INTRODUCCIÓN

Las estrategias reproductivas de plantas colonizadoras, características de los primeros estadios sucesionales, suelen ser variadas y están dirigidas no sólo a reproducirse y dejar descendencia por medio de la elaboración de estructuras reproductivas de bajo costo, sino que tienden a ser autocompatibles y/o autógamas debido a que su supervivencia depende, en gran medida, de las condiciones ambientales (Stebbins 1950; Baker 1955).

La autogamia es uno de los mecanismos que asegura la reproducción en ambientes donde las visitas de los polinizadores son limitadas y no se requiere gran inversión en estructuras de atracción (Richards 1997). En ambientes con condiciones poco apropiadas para la polinización, tales como zonas altamente intervenidas por actividades humanas, es probable que los niveles de autogamia incrementen debido a que el polen propio compite menos con polen externo para la fertilización (Proctor & Yeo 1979). De igual manera, algunas características como la distancia antera-estigma (hercogamia) o la separación temporal entre la liberación del polen y la receptividad del estigma (dicogamia), se ven modificadas hacia el favorecimiento de la autopolinización cuando las plantas permanecen en ambientes cerrados, sin flujo de visitantes florales por mucho tiempo (Schoen & Lloyd 1992). Además de la condición reproductiva estimada por los niveles de entrecruzamiento, Cruden (1977) agrega el concepto de la relación Polen/Óvulo (P/O), como un carácter del sistema de apareamiento que puede estar relacionado con el hábitat. En esta medida, valores altos de la relación P/O sugieren que las plantas tienen un sistema de apareamiento xenógamo obligado y valores bajos de la relación P/O indican que las plantas son autógamas.

Otro aspecto asociado al tipo de sistema reproductivo que presenta una especie es su relación con la eficiencia reproductiva, medida en la capacidad de producción de frutos (Sutherland & Delph 1984). Dentro de las variables que están asociadas a la producción de frutos y semillas, la compatibilidad es el primer fac-

tor que controla la proporción de frutos en una planta (Sutherland 1986). Plantas autocompatibles suelen tener alto nivel de producción de frutos, frente a plantas autoincompatibles.

*Crotalaria micans* Link (Fabaceae) es una especie colonizadora de zonas perturbadas, especialmente de laderas y bordes de caminos, que se caracteriza por mantenerse en estos ambientes a pesar de las constantes perturbaciones a las que son sometidas sus poblaciones (Etcheverry *et al.* 2003; S.Villalobos, obs. pers.). Pocos estudios han logrado mostrar las diferentes estrategias que emplean estas plantas pioneras y los efectos que ejercen naturalmente sobre los ecosistemas. Sin embargo, los estudios de la biología reproductiva de algunas especies de *Crotalaria* muestran gran diversidad de estrategias reproductivas utilizadas (Yanagizawa & Gottsberger 1983; Etcheverry 2001a, b).

Muchos atributos morfológicos y reproductivos de especies de amplia distribución suelen variar dependiendo de las características de la zona donde se encuentren (Richards 1997). Etcheverry *et al.* (2003) estudiaron en Argentina los aspectos reproductivos de *Crotalaria micans* en poblaciones que habitan en la ribera de los ríos y son frecuentemente desplazadas por inundaciones o por otras especies, es decir, que las poblaciones están sometidas a un ambiente totalmente extremo e impredecible. En consecuencia, una interrogante en este trabajo fue ¿Es posible que las estrategias reproductivas de *C. micans* en regiones templadas con condiciones de supervivencia menos favorables muestren alguna diferencia con relación a las condiciones de perturbación ambiental en la zona ecuatorial?

De acuerdo a lo anterior, el presente trabajo evalúa la biología reproductiva de *Crotalaria micans* y compara diferentes rasgos reproductivos de esta especie en condiciones contrastantes. Específicamente, se estudió la biología floral, los mecanismos de polinización, el sistema de entrecruzamiento que incluyó asignación de biomasa a las estructuras florales y relación P/O, y la fecundidad relativa, como una expresión de la efectividad de los atributos reproductivos señalados. La caracterización de estos atributos está dirigida a resolver las siguientes preguntas: ¿Cuáles son los caracteres reproductivos que limitan y promueven la producción de frutos y semillas? ¿Cuáles son los polinizadores efectivos que presenta la especie? ¿Existen variaciones en los rasgos reproductivos de *Crotalaria micans* de acuerdo a su distribución geográfica?

## MATERIALES Y MÉTODOS

### Especie y área de estudio

*Crotalaria micans* Link es un sufrútice nativo de América del Sur que habita zonas perturbadas, especialmente borde de caminos y riberas de ríos. Las plantas pueden alcanzar de 2,5 a 3 m de altura. Las inflorescencias son multifloras y racemosas. Las flores tienen corola amarilla, 10 estambres monadelfos con anteras dimórficas: cinco largas y basifijas alternas con cinco cortas y dorsifijas. Actualmente esta especie está distribuida en 70 países de los cinco continentes (ILDIS 2008).

El estudio se llevó a cabo entre los meses de octubre de 2007 y febrero de 2008, en una población natural ubicada en un bosque tropical húmedo premontano (Ewel & Madriz 1968) en los predios del Instituto Venezolano de Investigaciones Científicas (IVIC) (10°20' N, 66°55' O), Altos de Pipe, situado en un brazo interno de la cordillera de la Costa en el norte de Venezuela a 1747 m snm. La temperatura media mensual es 17,5°C y la precipitación 1100 mm anuales. La población estudiada comprende un total de 30 individuos, de los cuales 10 se encontraban en estado reproductivo durante la realización de esta investigación.

### **Biología floral**

El número de flores abiertas por inflorescencia por día se determinó en 20 inflorescencias provenientes de 10 individuos diferentes durante tres días de observación. La hora de apertura floral fue establecida en intervalos de 30 min por 12 h continuas de observación. Un total de 20 flores con menos de 24 h de antesis se colectaron para determinar las características morfométricas. Cien flores adicionales fueron preservadas en etanol (70%) para determinar la biomasa floral asignada a cada verticilo en 20 repeticiones.

Las características organolépticas de las flores (olor, color y forma) fueron descritas en campo con material fresco. Mediante un calibrador digital se determinaron las dimensiones de los verticilos florales, largo-ancho de los pétalos y del cáliz y la distancia antera-estigma (hercogamia).

La antesis y la longevidad floral se evaluaron en 15 inflorescencias. En cada una de ellas se descartaron los frutos, flores abiertas y/o viejas. Las yemas que estaban próximas a abrir se aislaron en una bolsa de polinización. Al siguiente día, a partir de las 3 h se observó la antesis floral. El registro de la longevidad floral se hizo mediante observaciones diarias de las flores en antesis durante cinco días consecutivos.

### **Secreción de néctar**

La secreción de néctar se midió en 20 flores durante tres días. Las flores fueron previamente aisladas en bolsas de tela en estado de botones próximos a abrir. El volumen secretado se midió en intervalos de una hora a partir del momento de la antesis. El néctar se extrajo mediante la inserción de un microcapilar en la cámara nectarial formada por el cáliz, la columna de estambres y los pétalos.

### **Relación Polen/Óvulo y polinización**

La relación Polen/Óvulo se estimó de acuerdo al método propuesto por Lloyd (1965). El número de granos de polen por antera se determinó mediante el uso de cámaras de Neubauer con volúmenes conocidos de dilución, en tres preparaciones con cinco anteras de flores de diferentes individuos. Por cada preparación se contó el número total de granos presente en cinco alícuotas. Posteriormente se estableció el número de granos de polen por antera como el promedio de las tres preparaciones. El número de granos de polen por flor se obtuvo multiplicando el número de

granos de polen por antera por el número de anteras por flor. Este procedimiento se aplicó para los dos tipos de anteras que presenta la flor de *C. micans*. La relación P/O se estableció dividiendo el número promedio de granos de polen por flor entre el número promedio de óvulos por flor.

La carga de polen depositada en el estigma se midió en 20 estigmas colectados 12 h después de la antesis. Se tiñeron con solución de azul de anilina en lactofenol y se observaron al microscopio óptico. Se registró el número de granos de polen sobre el estigma y el número de tubos polínicos desarrollados.

### **Visitantes florales y modelos de visitas**

El comportamiento de los visitantes florales se registró durante 12 h diarias en tres días de observación con intervalos de una hora. Todos los visitantes fueron colectados y preservados para su posterior identificación. La distinción entre agentes visitantes y polinizadores se hizo de acuerdo con los criterios descritos por Ramírez (2004): presencia y abundancia de polen transportado, parte del cuerpo donde se transporta y su orientación con respecto a los órganos sexuales de la flor durante el proceso de polinización, posibilidades de transferencia de polen al estigma, relación tamaño flor-visitante y abundancia relativa del agente visitante.

### **Biomasa floral**

Se disectaron 20 flores y se separaron en verticilos vegetativos (cáliz y corola), femeninos (gineceo) y masculinos (androceo). Las partes florales se secaron y llevaron hasta peso constante en una estufa a 40°C durante aproximadamente 20 días. El peso de la biomasa seca se determinó en una balanza analítica (resolución 0,01 mg). La inversión de biomasa sexual se calculó mediante las relaciones: biomasa androceo/biomasa gineceo y biomasa de partes sexuales/biomasa de soporte (Schoen 1982).

### **Estrategia reproductiva**

El sistema reproductivo fue establecido de acuerdo con los métodos propuestos por Ruiz-Zapata & Arroyo (1978) y Sobrevila & Arroyo (1982) que incluyeron:

1. Polinización automática, donde las flores se aislaron en estado de yema hasta la formación de frutos y semillas.
2. Polinización manual (autocompatibilidad), las flores se aislaron en estado de yema y luego fueron polinizadas manualmente colocando parte de su propio polen sobre el estigma receptivo.
3. Polinización cruzada, las flores fueron emasculadas en estado de yema (dos días antes de la antesis debido a que la dehiscencia de las anteras ocurre un día antes de la apertura de la flor) y polinizadas con polen de otros individuos de la población.
4. Agamospermia, las flores fueron emasculadas en estado de yema y aisladas para establecer la posible producción de frutos. Para el aislamiento de las yemas se utilizaron bolsas de tela con poros menores de 0,1 mm. Adicionalmente se aplicó goma sintética (Tanglefoot Co., Grand Rapids, MI, USA) sobre la base de las ramas

que portaban las inflorescencias, con el fin de aislar completamente los ensayos. Se cuantificó el número de frutos y semillas producidos en cada cruce.

El índice de autogamia o capacidad de autopolinización (IA) y el índice de autoincompatibilidad (ISI) fueron calculados a nivel de fruto y de semilla comparando frutos producidos por flor y número de semillas producidas por óvulo, respectivamente. La cantidad de semillas por óvulo fue determinada por el número total de semillas producidas dividido entre el número total de óvulos en la muestra (óvulos promedio por flor por el número de flores en la muestra) (Jaimes & Ramírez 1999). De acuerdo con Ruiz-Zapata & Arroyo (1978), el valor se establece por la relación fruto/flor obtenida por polinización automática dividida entre la relación fruto/flor por autopolinización manual. Como una forma de contrastar este índice, adicionalmente se estimó la autogamia por el método propuesto por Lloyd & Schoen (1992) que calcula la relación fruto/flor por polinización automática dividida entre la relación fruto/flor por polinización cruzada. El índice de autoincompatibilidad (ISI) mide la relación de incompatibilidad genética mediante la relación fruto/flor por autopolinización manual por la relación fruto/flor por polinización cruzada. Las especies autocompatibles y autógamas tienen valores de ISI e IA igual a uno. Las autoincompatibles tienen valores de cero y las parcialmente compatibles tienen valores entre 0 y 1 (Ruiz-Zapata & Arroyo 1978).

### **Eficiencia reproductiva**

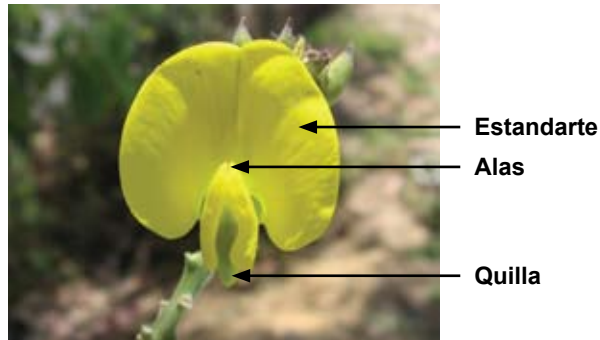
Los niveles de eficiencia reproductiva natural se analizaron de acuerdo con los métodos propuestos por Ramírez (1992). El número de flores por inflorescencia y el número de frutos por infrutescencia se cuantificaron en 100 inflorescencias e infrutescencias, respectivamente. La relación entre fruto/infrutescencia y flor/inflorescencia aporta una medida de la producción de frutos. El número de óvulos por flor se estableció en 100 flores tomadas al azar en diferentes individuos y el número de semillas totales y abortadas por fruto se determinó en 100 frutos maduros. La relación entre el número total de semillas/fruto y óvulos/flor aporta una medida de la producción de semillas/óvulo. El reconocimiento de las semillas abortadas se hizo porque éstas presentaban tamaño reducido, apariencia aplanada y color marrón-rojizo. La fracción de semillas abortadas por fruto se estableció dividiendo el número promedio de semillas abortadas por fruto entre el número promedio de semillas totales por fruto. La fecundidad relativa se determinó de acuerdo a la siguiente fracción (Ramírez 1992):

$$\text{Fecundidad relativa} = \frac{(\text{semillas totales/fruto} - \text{semillas abortadas/fruto}) \times \text{fruto/infrutescencia}}{\text{óvulos/flor} \times \text{flores/inflorescencia}}$$

## RESULTADOS

### Biología floral

Las flores de *Crotalaria micans* son amarillas, zigomorfas, tipo bandera (Papilionidae) (Leppik 1977), con un ala-quilla en la parte basal, un pétalo amplio en la parte opuesta-superior (estandarte) y dos pétalos angostos (alas) insertos a los lados de la quilla (Fig. 1). Los pétalos son libres entre sí. El estandarte es erecto, ovado, más ancho que largo (1,35 x 2,01 cm) y con pequeñas manchas lineares negras concentradas en el centro. La quilla (1,94 cm de largo) tiene forma triangular, curva y angosta, de consistencia dura. Los dos pétalos laterales o alas (1,51 cm de largo) forman un pequeño ángulo que cubre la quilla y permanecen en posición cerrada hasta la visita del polinizador. Una vez que el polinizador se posa sobre la flor, las alas se separan exponiendo abiertamente la quilla. Los rasgos florales de *C. micans* se muestran en la Tabla 1.



**Fig. 1.** Flor de *Crotalaria micans* en anthesis.

**Tabla 1.** Rasgos florales de *Crotalaria micans*.

Carácter	n	Rango	$\bar{X}$ (DE)
Largo de la corola (cm)	20	1,7 - 2,2	1,95 (6,36)
Estandarte		1,20 - 1,87	1,35 (0,87)
Quilla		1,102 - 12,9	1,94 (0,55)
Alas		1,3 - 1,7	1,51 (1,84)
Hercogamia (mm)	20	0,72 - 2,77	1,50 (0,74)
Nº de anteras por flor	20	10	-
Grandes		5	
Pequeñas		5	
Nº granos de polen por antera	5		-
Grandes		18 234	
Pequeñas		4 720	
Nº granos de polen por flor	-	114 770	-

n = tamaño de la muestra

La flor presenta dos tipos de estambres, cinco cortos con anteras pequeñas (1,08 mm) y cinco largos con anteras grandes (4,0 mm), connados e insertos en la quilla. El cáliz es persistente, color verde, gamosépalo (1,21 cm). El ovario es de color verde, pubescente y está sostenido por un ginóforo corto (0,15 cm). El estilo es pubescente y hace una curvatura formando un ángulo de 90° con el ovario. El estigma es capitado y presenta abundantes tricomas que se hidratan y elevan cuando está receptivo. La longitud del eje de la inflorescencia varía de 9 a 25 cm. Todas las medidas anteriores reflejan el largo de las estructuras. El número de flores abiertas en la inflorescencia oscila de 1 a 3. Solamente abre una flor por día/inflorescencia, así el eje puede exhibir hasta tres flores en antesis con edades diferentes. La antesis se inicia al amanecer, a las 6:00 h se produce una leve apertura de las alas y el estandarte que es modificada a lo largo de las tres horas siguientes. La flor exhibe el estandarte completamente expandido a las 10:00 h. Las alas permanecen abrazando la quilla y solamente son separadas de ésta después de la visita del polinizador.

Las anteras grandes se hacen dehiscentes un día antes de la antesis floral, mientras que las anteras pequeñas liberan el polen a partir del primer día de antesis. El estigma se hace receptivo a partir del segundo día de antesis. Este comportamiento corresponde a un mecanismo de dicogamia, específicamente protandria, donde hay separación temporal de polen maduro y estigma receptivo.

Después de la antesis las flores permanecen abiertas durante cuatro días, al cabo de los cuales los pétalos cambian de color tornándose amarillo-rojizos y desprendiéndose al sexto día de haberse iniciado la antesis.

### Secreción de néctar

Durante el primer día de antesis floral, la secreción de néctar se inicia entre las 14:30-15:00 h. Su máximo de producción ocurre entre las 15:00-15:30 h. En los dos días siguientes, el volumen de néctar producido entre las 6:00 y 7:00 h es de 1  $\mu\text{l}$ , descendiendo la producción a 0,5  $\mu\text{l/h}$  en las ocho horas siguientes (Fig. 2).

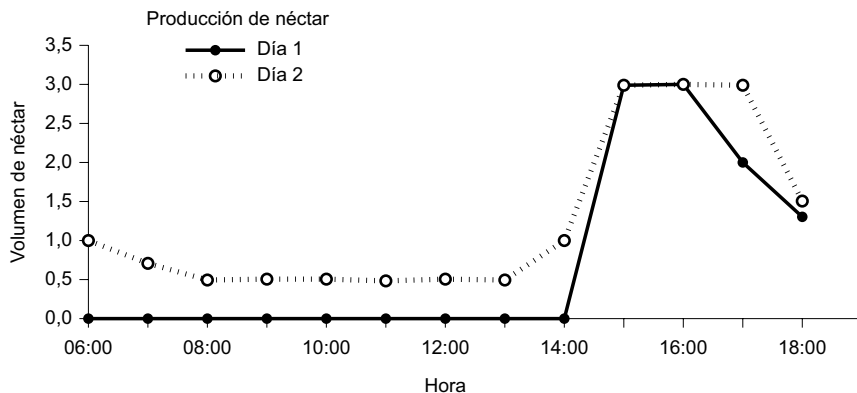


Fig. 2. Volumen de néctar producido en intervalos de una hora durante el primer y segundo día de antesis.



### **Relación Polen/Óvulo y polinización**

Las anteras presentan dehiscencia longitudinal. Las grandes liberan polen 24 horas antes de la antesis y producen 18 234 granos por antera. Las anteras pequeñas se hacen dehiscentes un día después de la antesis y producen 4720 granos por antera. En total se producen 114 770 granos de polen por flor. La relación P/O es de 6547,042. El promedio de óvulos por flor es 17,53.

La carga de polen que llega al estigma es de 50 granos en promedio. Sin embargo, sobre el estilo suelen depositarse grandes masas de polen con un promedio de 425 granos, que son retenidas por las vellosidades. El crecimiento de tubos polínicos se observó solamente en cinco flores, con un promedio de 10 granos germinando sobre el estigma.

### **Visitantes florales y modelos de visitas**

*Crotalaria micans* presenta polinización diurna. Las flores son visitadas por *Apis mellifera*, hormigas del género *Solenopsis* y por una especie de abeja carpintera del género *Xylocopa*. Las hormigas recorren el pedicelo y el cáliz para extraer el néctar de las glándulas extraflorales, sin establecer contacto con las estructuras reproductivas. El tiempo de permanencia en cada flor es de cinco min en promedio, aun cuando están siempre presentes en la planta en un número máximo de cuatro hormigas.

*Apis mellifera* se posa inicialmente sobre el pedicelo de la flor y extrae néctar de las glándulas extraflorales. Luego rodea el cáliz y entra en la cámara de deposición del néctar formada entre el cáliz y la quilla. La abeja introduce su probóscide y toma el néctar. Generalmente, el cuerpo no entra en contacto con las anteras, salvo en algunos casos donde puede coleccionar polen en las patas. Sin embargo, las posibilidades de que este polen se deposite sobre el estigma son prácticamente nulas ya que el gineceo está protegido por la quilla y el estigma sale de ésta sólo si le aplica una fuerza que provoque su salida. *A. mellifera* extrae suavemente el néctar probablemente debido al tamaño de esta abeja y a la forma del cuerpo delgado y aplanado. El tiempo de permanencia en cada la flor es de dos min.

*Xylocopa* sp. establece contacto directo con el androceo y el gineceo de la flor. La abeja se posa sobre la quilla e introduce su probóscide en el canal que ésta forma con el cáliz para extraer el néctar. Durante esta actividad, la abeja mueve la flor provocando la apertura de los pétalos y su posición garantiza el depósito de polen sobre la placa dorsal del tórax (mesonoto) y las patas traseras. Durante este movimiento, el estigma sale de la quilla y hace contacto con la parte ventral del insecto, especialmente en la zona de inserción de las patas en la cual transporta el polen. El tiempo de permanencia de la abeja sobre la flor es de 50 s en promedio. El tiempo de permanencia en la planta depende del número de flores en antesis que encuentre. *Xylocopa* sp. visita todas las flores abiertas en la planta, no así las flores que presenten los pétalos totalmente abiertos, como señal de que ya fue visitada. El mayor número de visitas ocurre por las mañanas entre las 8:00 y 9:30 h y por la tarde entre las 14:30 y 16:00 h.

### Biomasa floral

En *C. micans* más del 50% de la biomasa floral corresponde a la corola (Tabla 2). La relación entre la inversión biomasa reproductiva y biomasa vegetativa (perianto) fue 0,28, lo cual indica alta inversión en la biomasa vegetativa. La biomasa androceo/gineceo fue 1,35 y la biomasa androceo/biomasa reproductiva fue 0,57. La relación androceo/gineceo muestra que la inversión en estructuras masculinas es mayor respecto a la inversión en estructuras femeninas.

**Tabla 2.** Biomasa seca de verticilos florales, de frutos y semillas de *Crotalaria micans*.

Carácter	n	$\bar{X}$ (DE)
Biomasa androceo	20	2,63 (0,37)
Biomasa gineceo	20	1,94 (0,41)
Biomasa vegetativa	20	16,25 (1,78)
Cáliz		3,62 (0,47)
Corola		12,06 (1,63)
Biomasa fruto	20	0,64 (0,09)
Biomasa semillas	20	0,015 (0,001)
Relación androceo/gineceo	-	1,35
Relación biomasa reproductiva/biomasa vegetativa	-	0,28

### Estrategia reproductiva

Los resultados de los cruces controlados muestran que *Crotalaria micans*, en general, produce alto porcentaje de frutos en todas las pruebas aplicadas. Sin embargo, el porcentaje de frutos en las pruebas de polinización cruzada es ligeramente mayor que el obtenido en las de polinización automática y polinización natural (Tabla 3). Los índices de autogamia a nivel de fruto (1,1) y a nivel de semilla (1,2) muestran que la especie es autógama, de acuerdo con los criterios de Ruiz Zapata & Arroyo (1978) y Sobrevila & Arroyo (1982). Este resultado es corroborado por los valores obtenidos bajo el criterio de autogamia propuesto por Lloyd & Schoen (1992) a nivel de fruto (1,1) y a nivel de semilla (0,9) que de igual manera corresponden a condiciones autógamas.

**Tabla 3.** Proporción de frutos y semillas obtenidos en los cruces controlados de polinización (n = 10).

Tipo de prueba	Nº flores	Frutos formados		Semillas formadas*	
		n	(%)	n	(%)
Polinización automática	100	29	29	394	22,47
Autofertilización manual	50	13	26	169	19,28
Polinización cruzada	50	20	40	300	34,22
Agamospermia	150	0		0	

\* Cálculo basado en el número de óvulos presentes en el total de flores examinadas.

El índice de incompatibilidad genética a nivel de fruto (0,7) no mostró mayor diferencia frente al estimado a nivel de semilla (0,6). Ambos indican la auto-compatibilidad genética de la especie.

### Eficiencia reproductiva

El número de flores por inflorescencia varía desde 5 hasta 45 con un promedio de 20,5 y el número de frutos por infrutescencia oscila de 1 a 12, con un promedio de 8. De acuerdo a estos valores la producción de frutos fue 0,39 (Tabla 4). El número promedio de semillas por fruto fue 14,13 con una masa promedio por semillas de 0,015 gr.

De acuerdo al promedio de óvulos por flor, la fecundidad relativa o producción de semillas por óvulo por inflorescencia fue baja (28,3 %). El número promedio de semillas abortadas fue 1,4 y el promedio de óvulos abortados fue 2.

**Tabla 4.** Eficiencia reproductiva natural de *Crotalaria micans*.

Carácter	n	Rango	$\bar{X}$ (DE)
Nº de flores por inflorescencia	100	5-45	20,5 (8,22)
Nº de frutos por infrutescencia	100	1-12	8 (4,5)
Producción de frutos	-	0,39	-
Nº de semillas por fruto	100	14-21	14,13 (1,05)
Nº de semillas abortadas	50	1-3	1,4 (3,10)
Nº de semillas abortadas por fruto	-	2-5	2,83 (0,09)
Nº de óvulos por flor	100	14-21	17,53 (1,59)

## DISCUSIÓN

Las flores de *Crotalaria micans* responden al síndrome de polinización por abejas (melitofilia) (Faegri & van der Pijl 1979). El color, la inserción de los verticilos y la disponibilidad de néctar, son características que indican la atracción y el ofrecimiento de recompensa a estos organismos. Además, estudios previos muestran que otras especies de *Crotalaria* son polinizadas por abejas melíferas (Lemus-Jiménez & Ramírez 2003).

Pocos visitantes florales fueron registrados en las observaciones, la mayoría de éstos se acercaba a consumir néctar pero no establecían contacto con las estructuras sexuales de la flor. La baja frecuencia de visitantes puede atender a las características de la zona donde se desarrollan las plantas que en su mayoría son terrenos de borde de caminos. Aunque en este trabajo no se evaluó la efectividad del polinizador, se considera que *Xylocopa* sp. es el polinizador efectivo de la especie. Estas abejas establecen contacto con el estigma cuando aplican la fuerza necesaria para abrir los verticilos florales y tomar el néctar, además el tamaño del cuerpo (2,8 cm) es proporcional al tamaño de la flor. Durante la visita, el estigma hace contacto con el abdomen y el primer segmento de las patas posteriores

donde se deposita el polen. En contraste, Etcheverry *et al.* (2003) consideran que una especie de *Xylocopa* que visita las flores de *C. micans* en Argentina no es el polinizador efectivo. Sin embargo, en el presente estudio, las evidencias morfológicas florales y el comportamiento de esta abeja permiten catalogarla como su más eficiente polinizador.

Los resultados de los cruces controlados indican que *Crotalaria micans* es una especie autocompatible y autógena. Sin embargo, la inversión de biomasa, en particular la alta asignación en estructuras de atracción y una inversión relativamente mayor en el androceo comparado con el gineceo, sugieren un sistema reproductivo alógamo, propio de una planta xenógama (Cruden 1977). Se sabe que la inversión por flor tiende a decrecer con el incremento de la autofertilización (Cruden & Lyon 1985; Sato & Yahara 1999) y la condición autógena sugiere mayor inversión en estructuras femeninas.

La inversión en biomasa vegetativa hace suponer mayor dependencia a la atracción de polinizadores (Cruden & Lyon 1985). La alta inversión de biomasa en la corola es asociada con la atracción que ésta ejerce en los polinizadores. Aparentemente, las estructuras florales de atracción representan alta presión selectiva en el proceso de polinización (Antos & Allen 1994). Bajo la condición de autogamia sugerida por los cruces controlados realizados se podría esperar menor inversión en las estructuras de atracción en la parte vegetativa. Sin embargo, *C. micans* invierte aproximadamente tres veces más biomasa en estructuras vegetativas que en las reproductivas, lo que podría explicar la diferencia observada con los resultados obtenidos de los cruces experimentales. La alta inversión de biomasa floral y relación P/O podría estar asociada a un sistema de apareamiento mixto.

Etcheverry *et al.* (2003) señalan sistema de apareamiento mixto para las poblaciones argentinas como un comportamiento consecuente con la historia de vida de la planta y su supervivencia en ambientes perturbados. Este sistema de reproducción también se ha encontrado en otras especies de plantas (Stewart *et al.* 1996; Raimúndez & Ramírez 1998; Barrios & Ramírez 2008) e implica la posibilidad de entrecruzamiento en caso de que los agentes polinizadores permanezcan en la zona o sucesos de autopolinización en ausencia de éstos. Esta condición explica la alta inversión en estructuras masculinas y de atracción.

Sutherland & Delph (1984) proponen que las especies autocompatibles autógenas tienden a producir altas cantidades de frutos y semillas ya que al no ser indispensable recibir polen externo para la fecundación, estas especies invierten pocos recursos en estructuras de atracción con altas y nutritivas recompensas. En el presente estudio, a pesar de que el número de flores por inflorescencia es alto, el número de frutos formados por infrutescencia resulta considerablemente bajo. Este desfase es posiblemente debido a los abortos observados durante el tiempo de estudio. Las flores frecuentemente abortan uno o dos días después de la antesis y posiblemente sea una estrategia de aborto selectivo donde la planta puede seleccionar y madurar sólo frutos de alta calidad, en función de los recursos maternos disponibles para la progenie (Stephenson 1981; Sutherland & Delph 1984). En

efecto, la fecundidad relativa calculada a partir de la relación semillas formadas por óvulo por flor en *C. micans* resultó baja. Otra posible explicación para esta baja producción de frutos es la presión de herbivoría a la que están expuestas las yemas florales. Durante el ejercicio de emasculación, se observó gran número de yemas atacadas por larvas de una especie de díptero. La larva consume la totalidad de las anteras y parte del ovario, lo que elimina las posibilidades de desarrollo de frutos y probablemente aumenta el aborto de flores.

Aunque *C. micans* no está sometida a condiciones extremas de estaciones climáticas o de inundación, su comportamiento reproductivo sigue las mismas pautas que las expresadas en ambientes con perturbaciones extremas. Sin embargo, las estrategias asumidas por las flores para garantizar la fecundación parecen ser más complejas en las plantas argentinas que las estudiadas en este trabajo. Etcheverry *et al.* (2003) describen tres fases por las cuales pasan las flores desde unas horas antes de la antesis hasta la senescencia del perianto: 1. Fase masculina, con la apertura precoz de las anteras. 2. Fase femenina, cuando el estigma se hace receptivo. 3. Fase autógama, donde las anteras se ubican alrededor del estigma y propician la deposición espontánea de polen (autogamia tardía). Las fases masculina y femenina de la flor (fases 1 y 2) se detectaron en la población venezolana estudiada. La fase 3 no fue precisada durante estas observaciones.

Otra diferencia encontrada con las poblaciones de Argentina corresponde a los valores de la producción de semillas en los cruces controlados. En este estudio los valores se mantienen por debajo de 35% de semillas producidas, mientras que para las plantas argentinas está por debajo de 75%. Posiblemente, la fase de deposición espontánea de polen sobre el estigma en la población argentina y la ausencia de esta fase en la población estudiada explica la mayor producción de semillas.

En definitiva, *Crotalaria micans* es una especie autocompatible. Sin embargo, en los ensayos realizados en esta investigación, la mayor producción de frutos por polinización cruzada comparada con la obtenida por polinización automática muestra una leve tendencia al entrecruzamiento. Es probable que la población examinada esté pasando por un proceso de transición a una mayor adaptación a la autogamia que le permita garantizar la reproducción, con el alcance del mecanismo de deposición espontánea del polen sobre el estigma, reportado por Etcheverry *et al.* (2003).

Finalmente, a pesar de la separación geográfica, esta especie presenta rasgos altamente conservados en su sistema reproductivo, característica que podría estar dirigiendo en gran medida el éxito en la colonización y permanencia en hábitats perturbados.

## AGRADECIMIENTOS

Los autores expresan sus agradecimientos a Isbel Herrera y Mayrene Colmenares por su colaboración en el trabajo de campo. A Jafet-M. Nassar por sus valiosas sugerencias y por la facilitación de implementos de laboratorio. A Daniel Larrea y

tres árbitros anónimos por sus comentarios del manuscrito.

Este trabajo forma parte del ejercicio experimental de la asignatura Biología Reproductiva de Plantas Angiospermas del postgrado en Botánica de la Universidad Central de Venezuela.

## BIBLIOGRAFÍA

- Antos, J.A. & G.A. Allen. 1994. Biomass allocation among reproductive structures in the dioecious shrub *Oemleria ceraciformis* - a functional interpretation. *J. Ecol.* 82: 21-29.
- Baker, H.G. 1955. Self-compatibility and establishment after "long-distance" dispersal. *Evolution* 9: 347-348.
- Barrios, Y. & N. Ramírez. 2008. Depresión por exogamia y biología reproductiva de *Nymphaea ampla* (Salisb.) DC. (Nymphaeaceae). *Acta Bot. Venez.* 31(2): 539-556.
- Cruden, R. 1977. Pollen-Ovule ratios: a conservative indicator of breeding system in flowering plants. *Evolution* 31: 32-46.
- Cruden, R.W. & D.L. Lyon. 1985. Patterns of biomass allocation to male and female functions in plants with different mating systems. *Oecologia* 66: 299-306.
- Etcheverry, A.V. 2001a. The role of pollinators and pattern of fruit production in *Crotalaria micans* (Fabaceae: Papilionoideae). *Acta Hort.* 561: 349-353.
- Etcheverry, A.V. 2001b. Role of staminal growth in delayed self-pollination of *Crotalaria stipularia* (Fabaceae: Papilionoideae). *Beitr. Biol. Pflanzen.* 72: 215-228.
- Etcheverry, A.V., J.J. Protomastro & C. Westerkamp. 2003. Delayed autonomous self-pollination in the colonizer *Crotalaria micans* (Fabaceae: Papilionoideae): structural and functional aspects. *Pl. Syst. Evol.* 239: 15-28.
- Ewel, J.J. & A. Madriz. 1968. *Zonas de vida de Venezuela*. Memorias explicativas sobre el mapa ecológico. Fondo Nacional de Investigaciones Agropecuarias, Ed. Caracas.
- Faegri, K. & L. van der Pijl. 1979. *The principles of pollination ecology*. Oxford. Pergamon Press, Oxford.
- ILDIS. 2008. International Legume Database & Information Service. <http://www.ildis.org/>
- Jaimés, I. & N. Ramírez. 1999. Breeding systems in a secondary deciduous forest in Venezuela: the importance of life form, habitat, and pollination specificity. *Pl. Syst. Evol.* 215: 23-36.
- Leppik, E. 1977. *Floral evolution in relation to pollination ecology*. Today & Tomorrow's Printers and Publishers, New Delhi.
- Lemus-Jiménez, L.J. & N. Ramírez. 2003. Polinización y polinizadores de algunas especies en la planicie costera de Paraguaná, estado Falcón, Venezuela. *Acta Ci. Venez.* 54: 235-246.

- Lloyd, D.G. 1965. Evolution of self-compatibility and racial differentiation in *Leavenworthia* (Cruciferae). *Contr. Gray Herb.* 195: 3-134.
- Lloyd, D.G. & D.J. Schoen. 1992. Self and cross-fertilization in plants. I. Functional dimensions. *Int. J. Plant Sci.* 153: 358-369.
- Proctor, M. & P. Yeo. 1979. *The pollination of flowering plants*. Williams Collins Sons & Co. Ltd. London.
- Raimúndez, E. & N. Ramírez. 1998. Estrategia reproductiva de una hierba perenne: *Hypoxis decumbens* (Hypoxidaceae). *Revista Biol. Trop.* 46(3): 555-565.
- Ramírez, N. 1992. Las características de las estructuras reproductivas, niveles de aborto y semillas producidas. *Acta Ci. Venez.* 43: 167-177.
- Ramírez, N. 2004. Ecology of pollination in a tropical Venezuelan savanna. *Pl. Ecol.* 173: 171-189.
- Richards, A.J. 1997. *Plant breeding systems*. Chapman & Hall, London.
- Ruiz-Zapata, T. & M.K. Arroyo. 1978. Plant reproductive ecology of a secondary deciduous tropical forest in Venezuela. *Biotropica* 10: 221-230.
- Sato, H. & T. Yahara. 1999. Trade-off between flower number and investment to a flower in selfing and outcrossing varieties of *Impatiens hypophylla* (Balsaminaceae). *Amer. J. Bot.* 86: 1699-1707.
- Schoen, D.J. 1982. Male reproductive effort and breeding system in a hermaphrodite plant. *Oecologia* 53: 255-257.
- Schoen, D.J. & D.G. Lloyd. 1992. Self-fertilization and cross-fertilization in plants. III. Methods for studying modes and functional aspects of self-fertilization. *Int. J. Pl. Sci.* 153: 381-393.
- Sobrevila, C. & M.K. Arroyo. 1982. Breeding system in a montane tropical cloud forest in Venezuela. *Pl. Syst. Evol.* 140: 19-37.
- Stebbins, G.L. 1950. *Variation and evolution in plants*. Columbia University Press, New York.
- Stephenson, A.G. 1981. Flower and fruit abortion: proximate causes and ultimate functions. *Ann. Rev. Ecol. Syst.* 12: 253-279.
- Stewart, H.M., S.C. Stewart & J.M. Canne-Hilliker. 1996. Mixed mating system in *Agalinis neoscotica* (Scrophulariaceae) with bud pollination and delayed pollen germination. *Int. J. Plant Sci.* 157: 501-508.
- Sutherland, S. 1986. Patterns of fruit set: What controls fruit-flower ratios in plant? *Evolution* 40: 117-128.
- Sutherland, S. & L.F. Delph. 1984. On the importance of male fitness in plants: pattern of fruit set. *Ecology* 65: 1093-1104.
- Yanagizawa, Y. & G. Gottsberger. 1983. Competição entre *Distictella elongata* (Bignoniaceae) e *Crotalaria anagyroides* (Fabaceae) com relação as abelhas polinizadoras no Cerrado de Botucatu, Estado de Sao Paulo, Brasil. *Portug. Acta Biol. (A)* 17: 149-166.

