

Metodología para estudios palinológicos en Annonaceae y su aplicación en especies del estado de Tabasco, México

Barragán-Cupido, Helen¹
Burelo-Ramos, Carlos Manuel¹
Salvador-Esparza, Rosa María²

¹ Herbario UJAT. División Académica de Ciencias Biológicas
Universidad Juárez Autónoma de Tabasco. Carr. Villahermosa-Cárdenas km. 1.5, entrada
a Bosques de Saloya. Villahermosa, Tabasco, México. carlos.burelo@dacbiol.ujat.mx

² Universidad Popular de la Chontalpa
Carr. Cárdenas-Huimanguillo, km 2.0. Cárdenas, Tabasco, México.

Resumen

Se ha reconocido alto valor taxonómico en los caracteres del polen en la familia Annonaceae, ya que contribuye al reconocimiento de grupos mayores. El análisis del polen en la familia Annonaceae, no puede realizarse usando la metodología tradicional, ya que esta técnica lo daña, debido a que presentan una exina delgada y frágil. Para lograr el análisis de esas estructuras se menciona el uso de baños de hexano. La metodología propuesta consiste en los siguientes pasos: las anteras

de ejemplares herborizados se hidratan (en baño María), se maceran levemente, se centrifugan, se elimina el agua y se colocan en alcohol absoluto, sometidas de nuevo a centrifugación, y se elimina el alcohol añadiéndose hexano, en el cual se dejan por 10 minutos. Posterior a la centrifugación, se elimina el hexano y se agrega alcohol absoluto y glicerina en proporción 1:1. Las series de centrifugación fueron de 4,000 rpm por 10 min. Con esta técnica se logró la observación de granos de polen en microscopio de luz, reconociéndose, polen solitarios y agrupados en tétradas, a los cuales pudimos realizarles observaciones de forma y tamaño, así como de la ornamentación. Asimismo, se realizaron observaciones con el MEB, debido a que el valor taxonómico de los granos de polen a niveles específicos puede ser alto, por lo que lograr la observación de granos donde se puedan observar detalles en ornamentación es de gran importancia, esto es posible lograr siguiendo la metodología propuesta. Proponemos se pruebe su utilidad en otros miembros de las Magnoliales. La descripción de los granos de polen de las especies de Tabasco brinda evidencias que pueden contribuir al esclarecimiento de problemas taxonómico del grupo.

Palabras clave: *Annonaceae*, *polen*, *hexano*

Introducción

La palinología es la ciencia que estudia el palinomorfo contemporáneo o fosilizado, esto incluye el estudio de polen, esporas, orbículos, dinoflagelados y cualquier estructura resistente a ácidos (Bryant, 1990). Es una ciencia interdisciplinaria y reúne conocimientos de las ciencias de la tierra (geología) y de la biología, específicamente de la botánica. El nombre de palinología fue propuesto por Hyde y Williams a mediados del siglo XX, quienes la definieron como la ciencia que se ocupa del estudio del polen y de las esporas. La podemos dividir de acuerdo al objeto y estructura de lo que se estudia en Melisopalinología, se encarga del reconocimiento y clasificación de los granos de polen en mieles; la Actuopalinología utiliza la morfología y aberturas del grano de polen para taxonomía vegetal, la Aeropalinología,

estudio del polen, esporas y otras partículas vivas presentes en el aire (Sánchez-Reyes, 1996).

El término polen procede del latín *pollen-inis*, que significa “polvo muy fino” o “flor de harina” y se utilizó por Linneo por primera vez e incorporó al castellano por Cavanilles (Trigo *et al.*, 2008). Los granos de polen son partículas fecundantes con potencialidad masculina (procedentes de los sacos polínicos en plantas con semilla), necesarios para la reproducción de las plantas superiores, ya que su misión es la de fecundar los óvulos para dar lugar a la formación de semillas y asegurar, así, la continuidad de la especie, ya que que ejercen la función transportadora del gametofito masculino a partir de la parte masculina a la femenina de la flor (Trigo *et al.*, 2008; REMA, 2010).

Los estudios de palinología en Annonaceae son pocos por lo que existe un vacío en este conocimiento, por lo que estudios descriptivos de los granos de polen son de un alto valor para diferentes aspectos del estudio de las Annonaceae: sistemática, taxonomía, biología reproductiva, y en campos como la alergología, paleofitología, entre otras. Aunque existen varios trabajos palinológicos de la familia Annonaceae (Hesse *et al.*, 1985; Su y Saunders, 2003; Chaowasco *et al.*, 2008; Couvreur *et al.*, 2008) en los que se mencionan que los granos de polen en esta familia son frágiles y no soportan la acetólisis tradicional y aunque se mencionan algunos datos de cómo lograr hacer observaciones con el MEB, no establecen una metodología clara. En el presente trabajo planteamos una metodología para lograr las observaciones con microscopio óptico y con el MEB, rescatando lo realizado por los trabajos anteriormente mencionados. Para probar la utilidad de nuestro método utilizamos las 18 especies de Annonaceae reportadas para el estado de Tabasco (Salvador-Esparza, 2005).

Método

Se obtuvieron muestras de los herbarios UJAT, MEXU y XAL de colecciones de anonáceas del estado de Tabasco, de las que se tomaron anteras maduras, las cuales se colocaron en bolsas de papel, posteriormente fueron llevadas al laboratorio. La metodología propuesta consiste en lo

siguiente: las anteras de ejemplares herborizados se hidratan (en baño María), se maceran levemente, se centrifugan, se elimina el agua y se colocan en alcohol absoluto, se someten de nuevo a centrifugación, y se elimina el alcohol añadiendo hexano, en el cual se dejan por 10 minutos, posteriormente se centrifugan, se elimina el hexano y se agrega alcohol absoluto, la muestra se divide en dos tubos. Las series de centrifugación se realizan a 4,000 rpm por 10 minutos.

Para observaciones bajo el microscopio de luz se toma uno de los tubos y se añade glicerina en la misma proporción del alcohol que contenga el tubo. De este tubo se sustrajeron muestras con las cuales se realizaron preparaciones permanentes, que forman parte de la colección palinológica del Herbario UJAT. Realizándose observaciones a varias magnificaciones. Para las observaciones con el MEB, se tomaron muestras del segundo polen, sometidos a punto crítico y sometidos a un baño de oro-paladio, llevados con el MEB, donde se realizaron observaciones a varias magnificaciones.

Resultados

La metodología que utilizamos nos permitió observar granos de polen en tétradas (figuras 1 y 5) y monadas (figuras 3 y 6) en las especies estudiadas, asimismo se pudo describir la superficie de los granos: pudimos reconocer especies de polen trabeculado (figura 2) y especies con polen rugoso (figura 4) esto principalmente observable con el MEB. Es de notarse que la metodología empleada provoca que muchos de los granos de polen sufran cambios en su tamaño, ya que se observan granos de polen comprimidos (ponchados) lo cual no nos permite realizar medidas de las longitudes polares y ecuatoriales.



Figura 1. Tétradas en *Annona cherimola*

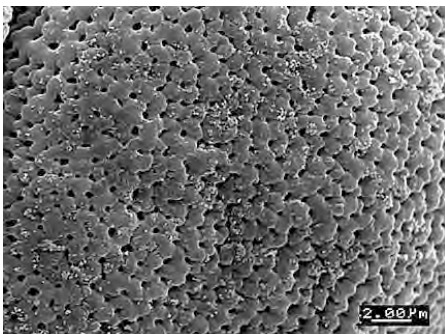


Figura 2. Superficie trabeculada en *A. cherimola*



Figura 3. Monadas en *Desmopsis trunciflora*

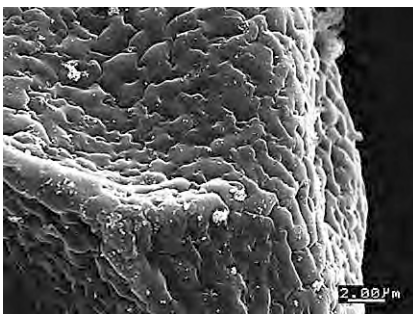


Figura 4. Superficie rugosa en *D. trunciflora*



Figura 5. Tétradas en *A. squamosa*, vista al microscopio de luz



Figura 6. Monada de *Guatteria amplifolia*, vista al microscopio de luz.

Conclusión

La acetolisis ácida (Erdman, 1960) utilizada en la mayoría de los trabajos palinológicos que se realizan, ha demostrado su inutilidad en las Annonaceae, debido a que la superficie de los granos de polen de esta familia es débil al efecto de los ácidos, por lo que la metodología que aquí proponemos es una buena opción si lo que se pretende observar son la conformación y ornamentación de los granos de polen. No así, si lo que pretendemos es hacer medidas de tamaño de estos granos de polen.

Consideramos que la metodología que proponemos permitirá identificar caracteres que pueden ser utilizados en cuestiones taxonómicas de la familia, así como para la identificación de granos de polen provenientes de sedimentos, aire y mieles.

Agradecimientos

A la División Académica de Ciencias Biológicas (UJAT), por el apoyo otorgado.

Referencias

- Bryant, V.M.J., Jones, J.G. and Mildenhall, D.C. 1990. Forensic palynology in the United States of América. *Palynology*. 14: 193-208.
- Chaowasko, T., Mols, J., Raymond, W.J.M. and Van Der Ham, B.J. 2008. Pollen morphology of *Miliusa* and relatives (*Annonaceae*). *Grana*. 47: 175-184.
- Couvreur, T.L.P., Botermans, M., Van Heuven, B.J. and Van Der Ham, R.W. J.M. 2008. Pollen morphology between the *Monodora* clade, a diverse group of five African *Annonaceae* genera. *Grana*. 47: 185-210.
- Erdtman, G. 1960. The acetolysis method. *Swensk. Bot. Tidskrift*. 54 (4): 561-564.
- Gutiérrez, M., Sáenz, C., Aránguez, E. y Ordóñez, J.M. 2001. Polen atmosférico en la comunidad de Madrid. Documentos Técnicos de Salud Pública 70. Madrid, España. 204 pp.
- Hesse, M., Morawetz, W. and Ehrendorfer, F. 1985. Pollen ultrastructure and systematic affinities of *Anaxagorea* (*Annonaceae*). *Pl. Syst. Evol.* 148: 253-285.

- Salvador E., R.M. 2005. Estudio taxonómico florístico de la familia Anonaceae en el estado de Tabasco, México. Tesis de Licenciatura. Universidad Juárez Autónoma de Tabasco. México.
- Sánchez Reyes, E. 2004. Estudio aeropalinológico de la ciudad de Salamanca durante el año 1996. Tesis de Licenciatura. Universidad de Salamanca. España.
- Trigo, M.M., Jato, V., Fernández, D. y Galán, C. (Coordinadoras). 2008. Atlas aeropalinológico de España. Red Española de Aerobiología. Universidad de León. 177 pp.
- www.atmosfera.unam.mx/rema/polen.html accesado septiembre de 2010.
- Yvonne C. F. Su, Richard, M. and Saunders, K. 2003. Pollen structure, tetrad cohesion and pollen-connecting threads in *Pseuduvaria* (Anonaceae). *Botanical Journal of the Linnean Society*. 143: 169-78.