

# VARIACIONES EN EL ÉXITO REPRODUCTIVO MATERNO ENTRE LAS INFLORESCENCIAS DE *Salvia verbenaca* (LABIATAE)

Luis Navarro<sup>1</sup>

Laboratorio de Botánica, Facultad de Farmacia, Universidad de Santiago de Compostela, 15706-Santiago de Compostela, España. Fax: 34 - 981 - 594912. E-mail: bvluna@usc.es

## RESUMEN

La agrupación de flores en inflorescencias es una característica común de las plantas y tiene importantes implicaciones en la distribución de los recursos. En este trabajo se estudia si la posición de las inflorescencias en las plantas de *Salvia verbenaca* (Labiatae) afecta al nivel de fructificación, el índice semillas/óvulos y/o el peso de las semillas. En cada planta crecen varias inflorescencias que florecen de manera acrópeta. Los resultados de este estudio muestran que el nivel de fructificación o el índice semillas/óvulos no varían de manera significativa entre las inflorescencias dentro de cada planta. Sin embargo, el peso de las semillas sí difiere de manera significativa ( $p < 0.05$ ) entre inflorescencias, siendo en todos los casos, dentro de cada planta, mayor en las inflorescencias que florecen más tarde en la estación que para las inflorescencias con floración más temprana. Experimentos de suplementación con polen de otras plantas provocan un incremento significativo del peso de las semillas formadas. Por último, las plantas que florecen más tarde en la estación también producen semillas más pesadas que las plantas que florecen al principio de la época de floración. En conclusión los resultados obtenidos en este trabajo muestran que la variación encontrada en el peso de las semillas entre las inflorescencias de las plantas de *Salvia verbenaca* es dependiente de la fuente del polen.

Palabras claves: *Arquitectura floral, distribución de recursos, fructificación, peso semillas, España.*

## INTRODUCCIÓN

La agregación de flores en inflorescencias es una característica común de las plantas que tiene importantes implicaciones funcionales (Willson & Price, 1977; Stephenson, 1979, 1980, 1981; Pyke, 1981; Wyatt, 1982; Watson & Casper, 1984; Holtsford, 1985; Stephenson & Windsor, 1986; Cruzan *et al.*, 1988; Schoen & Dubuc, 1990).

El papel jugado por una inflorescencia en el conjunto de la estrategia reproductiva de la planta puede diferir en función de la posición que dicha inflorescencia tenga en la planta (Stephenson, 1981; Lee, 1988). En muchas especies de plantas, las flores o inflorescencias que florecen primero tienen mayor probabilidad de fructificar que las flores o inflorescencias cuya floración se produce al final de la época de floración. Esto puede ser debido, por ejemplo, a la distribución de la mayoría de los recursos destinados a la reproducción, durante los estadios tempranos del período de floración (ver Ashman & Baker, 1992 y referencias allí citadas). Además de estas ventajas temporales, pueden producirse ventajas espaciales: en algunas especies las inflorescencias proximales tienen una mayor probabilidad de fructificar y/o tienden a producir semillas más pesadas que las inflorescencias distales. Esto podría estar relacionado con un

<sup>1</sup> Dirección actual: Departamento de Biología, Universidad de Puerto Rico: P.O. Box 23360: 00931-3360 San Juan, Puerto Rico.

acceso preferencial a los nutrientes. Este tipo de ventajas espaciales y temporales puede ser relevante entre flores dentro de una inflorescencia o entre inflorescencias dentro de una planta (Lec. 1988; Solomon, 1988; Devlin, 1989; Herrera, 1991; Stephenson, 1992; Ehrlen, 1993; Guitian, 1993; Vaughton, 1993). Hay que tener en cuenta que estos tipos de ventajas, son a menudo, difíciles de discernir, puesto que en muchas especies de plantas las inflorescencias más proximales son también las primeras en abrir.

En el trabajo que aquí se presenta, se ha estudiado la biología floral de *Salvia verbenaca* (Labiatae) con la intención de hallar respuestas a las siguientes preguntas: 1. ¿Difieren el nivel de fructificación, el índice semillas/óvulos y/o el peso de las semillas entre las inflorescencias dentro de una misma planta?; 2. ¿El origen de la fuente de polen tiene algún efecto en el éxito reproductivo materno de las plantas? y 3. ¿El momento de apertura floral tiene algún efecto sobre estas variables reproductivas? Para investigar estas cuestiones, se calculó el nivel de fructificación, el índice semillas/óvulos y el peso de las semillas en inflorescencias de diferente posición dentro de una planta, entre inflorescencias suplementadas con polen ajeno y una muestra control de la población y entre las inflorescencias de plantas cuya apertura se produjo al inicio o al final de la época de floración de esta especie en el área de estudio.

*La planta.* *Salvia verbenaca* L. (Labiatae) es una planta herbácea bianual, de 30-60 cm. con flores de 1cm de longitud aproximadamente, de color malva-azulado, dispuestas en espiga de verticilastros axiales. Cada planta tiene entre 8 y 14 verticilastros y en cada uno de ellos se encuentran generalmente 6 flores. Estas tienen un cáliz verde, de 6-8 mm, que encierra una corola de 6-10 mm. La floración dentro de cada planta es asincrónica y sigue un orden progresivo ascendente. Los frutos son núculas, y producen entre 1 y 4 semillas. La floración comienza a mediados de abril y termina a finales de mayo. La fructificación se prolonga durante un periodo de dos semanas aproximadamente después de marchita la flor, comenzando, a partir de este momento, a caer las semillas. Son polinizadas por abejas (*Apis mellifera*) y bombylidos (*Bombylius major*) mayoritariamente (Navarro, datos sin publicar) y producen entre 0.6 y 1.5  $\mu$ l de néctar al día (Petanidou & Vokou, 1993). Las plantas se encuentran en pendientes pedregosas, pastos y bordes de caminos.

## ÁREA DE ESTUDIO

El estudio fue llevado a cabo en la primavera de 1993 en la población de Vilardesilva, en la región del Bierzo, en el noroeste de España, en una área caracterizada por un mosaico de hábitats que incluye campos cultivados, pequeñas aldeas, paredones calizos, encinares (*Quercus rotundifolia*, *Arbutus unedo* y *Quercus suber*) y comunidades de arbustos de tipo Mediterráneo dominadas por *Cistus ladanifer* en los suelos silíceos o *Cytisus* spp. y Rosaceae espinosas en suelos calcáreos. La población estudiada ocupa comunidades de pastizales calcáreos a una altitud de 600 m. El clima en este área es típicamente Mediterráneo.

## MÉTODOS

*Variación intra-planta.* La segunda semana de abril se marcaron 10 plantas con etiquetas plásticas. En ellas, posteriormente se determinó el nivel de fructificación, el índice semillas/óvulos y el peso de las semillas para cada una de las inflorescencias en cada planta. Todas las plantas elegidas fueron de un tamaño similar (30-40 cm).

*Efecto de la fuente de polen.* En cuatro plantas elegidas al azar en la población se polinizaron de manera manual, con polen de otras plantas, todas las flores en cada una de sus inflorescencias. Simultáneamente se embolizaron otras cuatro plantas con tela mosquitera para

impedir el acceso de los polinizadores a las flores. Las bolsas se mantuvieron hasta la senescencia de la última flor en cada planta. Finalmente se seleccionaron 10 plantas control (próximas a las plantas sometidas a tratamientos), a las cuales no se realizó ninguna modificación. Con los datos obtenidos se calculó el nivel de fructificación, el índice semillas/óvulos y el peso de las semillas para cada uno de los grupos experimentales (plantas embolsadas y polinizadas de forma manual con polen ajeno) y el control.

*Variaciones estacionales.* Para examinar el efecto del periodo de floración en el éxito reproductivo materno se definieron dos subperiodos en la época de floración de esta especie de cuatro semanas cada uno. Así, se marcaron cinco plantas cuya antesis se produjo durante la segunda quincena de abril de 1993 (en adelante se denominarán "*plantas tempranas*") y otras cinco cuya floración comenzó un mes más tarde ("*plantas tardías*"). Transcurrido el tiempo necesario en cada uno de los dos subperiodos se calcularon las mismas variables reproductivas que en los experimentos anteriores y se compararon los resultados obtenidos en cada uno de los grupos.

En todos los casos los frutos fueron recolectados periódicamente, aproximadamente dos semanas después de la senescencia de cada flor. Tras contar el número de semillas que contenía cada fruto, éstas fueron pesadas en una balanza de precisión. El índice semillas/óvulos es fácil de determinar en esta especie puesto que los óvulos no fertilizados quedan claramente visibles en el fruto.

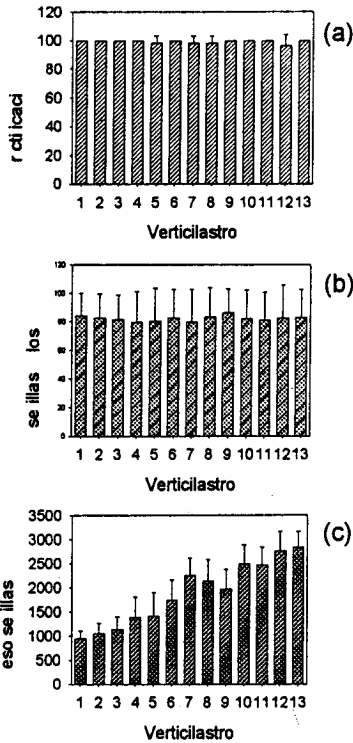
*Análisis estadístico.* Un análisis de concordancia de Kendall se utilizó para examinar si los valores de las variables analizadas variaban de forma progresiva en los diferentes pisos de las plantas. Para comprobar si la energía que la planta destina a cada verticilastro, en forma de peso de semillas es diferente entre los pisos se realizó un análisis de t-Student, comparando los sumatorios del peso de las semillas formadas en los dos primeros pisos de cada planta, con el de los dos últimos pisos de cada una de ellas.

Las posibles diferencias existentes entre las plantas *tempranas* y *tardías* en la estación y entre las plantas suplementadas con nutrientes y el control de la población, se evaluaron mediante un análisis de varianza paramétrico (ANOVA). El efecto de la polinización suplementaria y el embolsado de las plantas en el nivel de fructificación fue evaluado con la ayuda de un test U de Mann-Whitney. En el resto de los casos los porcentajes de niveles de fructificación y los índices semillas/óvulos fueron sometidos a una transformación arcoseno antes de realizar los análisis paramétricos.

## RESULTADOS

*Variaciones intra-plantas.* Ni el nivel de fructificación ( $F = 0.99$ , d.f. = 13, n.s.), ni el índice semillas/óvulos ( $F = 0.94$ , d.f. = 13, n.s.) difieren de manera significativa entre los diferentes pisos. Contrariamente, el peso medio de las semillas formadas en condiciones naturales sí que difiere entre los pisos ( $F = 49.2$ , d.f. = 13,  $p < 0.001$ ). Además el peso medio de las semillas aumenta de manera progresiva desde los pisos inferiores hasta los superiores ( $X^2 r = 0.862$ ;  $p = 0.0001$ ), siendo significativamente más pesadas las semillas formadas en los dos pisos superiores, los últimos en florecer, que las de los dos inferiores ( $T = -7.011$ , d.f. = 38,  $p < 0.001$ ) (Fig. 1).

*Efecto de la fuente de polen.* El nivel de fructificación fue alto en todos los grupos experimentales (plantas polinizadas suplementariamente, embolsadas y control; Tabla 1), aunque en las plantas embolsadas el nivel de fructificación fue ligeramente inferior al de las plantas control ( $U = 1.0$ , d.f. = 1,  $p < 0.05$ ). El índice semillas/óvulos fue elevado y similar en todos los grupos ( $F = 2.3$ , d.f. = 2, n.s.). Sin embargo el peso medio de las semillas producidas tras polinizar a las plantas con polen ajeno de manera manual fue significativamente mayor que el de las semillas de las plantas control o embolsadas ( $F = 10.8$ , d.f. = 2,  $p < 0.001$ ).



**Fig. 1.** Nivel de fructificación (a), porcentaje de semillas/óvulos (b) y peso medio de las semillas (c) en las inflorescencias de *Salvia verbenaca* donde la numeración de los pisos representa todo el gradiente de verticilastros de la planta desde el verticilastro inferior o proximal (piso 1) hasta el verticilastro superior o distal (piso 13). En todos los casos los valores se representan como media  $\pm$  desviación estándar.

**Tabla 1.** Valores (media  $\pm$  s.d.) del nivel de fructificación, índice semillas/óvulos y peso de las semillas obtenidos en los tratamientos de embolsado, polinización suplementaria y control de la población en *Salvia verbenaca* (entre paréntesis se presentan los tamaños de muestra). Los superíndices representan los resultados de la Prueba de Tukey, e indican que las medias no son significativamente diferentes de otras que tienen el mismo índice.

Tratamiento	Fructificación (%)	Semillas/óvulos (%)	Peso semillas ( $\mu$ g)
Embolsadas	94,2 $\pm$ 4,5 (194)	83,5 $\pm$ 21,4 (194) <sup>a</sup>	1718 $\pm$ 634 (120) <sup>b</sup>
Suplementadas	96,0 $\pm$ 2,0 (227)	78,7 $\pm$ 26,9 (227) <sup>a</sup>	2071 $\pm$ 481 (120) <sup>c</sup>
Control 1993	99,4 $\pm$ 0,8 (237)	82,6 $\pm$ 19,5 (237) <sup>a</sup>	1787 $\pm$ 690 (2140) <sup>b</sup>

*Variaciones estacionales.* El peso medio de las semillas producidas en el segundo subperíodo de la época de floración de *Salvia verbenaca* ("plantas tardías") fue significativamente mayor al de las semillas formadas en el primer subperíodo ("plantas tempranas") ( $F = 53$ , d.f. = 1,  $p < 0.001$ ), aunque el nivel de fructificación ( $F = 0.03$ , d.f. = 1, n.s.) y el índice semillas/óvulos ( $F = 0.71$ , d.f. = 1, n.s.) se mantuvieron constantes entre los dos grupos (Fig. 2).

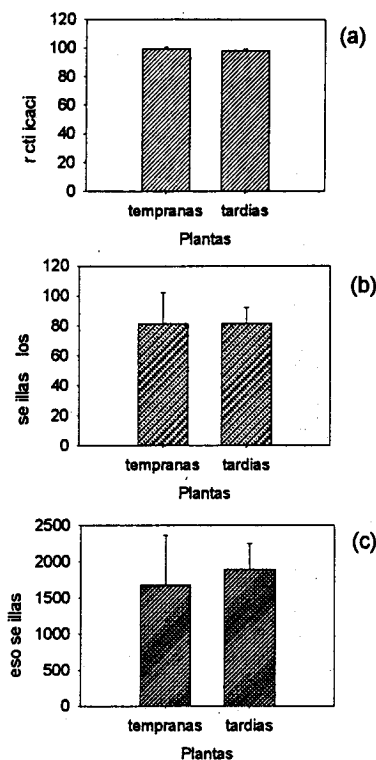


Fig. 2. Nivel de fructificación (a), porcentaje de semillas/óvulos (b) y peso medio de las semillas (c) en las inflorescencias de *Salvia verbenaca* en función del período de floración (tempranas = plantas que florecen al comienzo de la estación; tardías = plantas que florecen al final de la estación. Para más información ver métodos. En todos los casos los valores se representan como media  $\pm$  desviación estándar.

## DISCUSIÓN

Los resultados obtenidos muestran que el peso de las semillas se ve afectado por la posición de la inflorescencia en el orden de floración de cada planta, variando hasta por un factor de tres entre las inflorescencias basales (primera en florecer) y distales (últimas en florecer). Por

otro lado el peso medio de las semillas también varía en función del momento de floración de la planta, siendo mayor en las plantas de floración tardía.

Numerosos trabajos se han ocupado de estudiar las variaciones en el éxito reproductivo dentro de cada planta. Habitualmente, las diferencias encontradas han sido atribuidas a limitaciones de recursos, limitación de polen y/o a la fuente del polen (ver revisión en Navarro, 1997).

Cuando los recursos para la reproducción están limitados, dos factores que pueden influenciar la producción de frutos son la localización de la flor o inflorescencia dentro de la planta y el momento de inicio de cada fruto. Solomon (1988) y Lee (1988) han sugerido que la competición de las flores intra-planta por los recursos, explica una mejor producción de semillas en los frutos formados antes o localizados más próximos a la fuente de nutrientes y fotosintatos. Así, las flores que se encuentren en posiciones proximales en las plantas, a menudo producen más semillas o semillas más pesadas que las flores de posición distal, puesto que las primeras se encuentran más próximas a las fuentes de recursos (Stephenson, 1981; Wyatt, 1982; Lee, 1988; Cavers & Steel, 1984; Solomon, 1988). Sin embargo, dos razones apuntan a que en *Salvia verbenaca* la variación encontrada en el peso de las semillas no es debida a limitación de recursos: 1. las flores más próximas a las fuentes de nutrientes son las que producen semillas más ligeras; 2. experimentos de adición de nutrientes (datos del autor sin publicar) no muestran efectos diferentes de los observados en condiciones naturales.

Hay numerosas referencias de especies cuya producción de semillas y/o peso de las semillas esté influenciado por la fuente del polen que reciben sus óvulos (Schemske & Pautler, 1984; Galen *et al.*, 1985; Marshall & Ellstrand, 1986; Stephenson & Windsor, 1986; Redmond *et al.*, 1989; Thompson & Pellmyr, 1989; Johnston, 1992; Montalvo, 1992). Un incremento en la variabilidad genética entre los granos de polen depositados en el estigma puede originar competición entre ellos o el aborto selectivo de las semillas, incrementando de esta manera la calidad de las semillas (Lee, 1988).

En *Salvia verbenaca* el número de semillas formadas en cada fruto no se ve influenciado por limitaciones de polen, puesto que al suplementarlas, el número de semillas formadas no aumenta, sin embargo, la fecundación de óvulos con polen externo produce semillas más pesadas. Diferencias genéticas entre los granos de polen pueden originar competición entre ellos, provocando de esta manera que la fertilización no sea aleatoria (Snow, 1986; Mulcahy & Mulcahy, 1987; Schlichting *et al.*, 1990). Esta competición provoca que sólo los granos de polen más vigorosos consigan fertilizar el óvulo. En este sentido, varios estudios han mostrado una correlación positiva entre la capacidad competitiva de los granos de polen y su eficacia en la descendencia (evaluada como peso medio de semillas o plántulas, índice de germinación de las semillas o crecimiento de las plántulas (Hormaza & Herrero, 1994).

Así pues, sobre la base de los resultados obtenidos en los experimentos de polinización suplementaria con polen externo, en los que el peso de las semillas aumentaba significativamente, se puede sugerir que en el caso de *Salvia verbenaca* existe una limitación de polinizadores durante el primer subperíodo de la floración en el área de estudio, por lo que la planta se ve obligada a reproducirse de forma autógena, al menos durante la floración de los primeros pisos. A medida que transcurre la época de floración, y debido a un incremento en la presencia de polinizadores, irían aumentando los cruces de polen entre plantas, favoreciendo de esta manera la producción de semillas más pesadas. Esta suposición se ve apoyada por el hecho de que el peso de las semillas formadas en las plantas que florecieron en mayo ("*plantas tardías*") fue significativamente superior al de las semillas formadas en las plantas que comenzaron a florecer en abril ("*plantas tempranas*").

En conclusión, la escasez de polinizadores puede haber sido el principal factor limitante para la producción de semillas "de calidad" durante la primera mitad del período de floración.

## AGRADECIMIENTO

Parte de la elaboración de este trabajo fue financiado a través de una beca para Formación de Personal Investigador del Gobierno Vasco. El trabajo de campo estuvo financiado por los proyectos XUGA-20313B92 de la Xunta de Galicia y PB90-0762 de la DGICYT.

## BIBLIOGRAFÍA

- Ashman, T. L. & I. Baker. 1992. Variation in floral sex allocation with time of season and currency. *Ecology*, 73: 1237-1243.
- Cruzan, M. B., P. R. Neal & M. F. Willson. 1988. Floral display in *Phyla incisa*: consequences for male and female reproductive success. *Evolution*, 42: 505-515.
- Cavers, P. B. & M. G. Steel. 1984. Patterns of change in seed weight over time on individual plants. *Amer. Nat.*, 124: 324-335.
- Devlin, B. 1989. Components of seed and pollen yield of *Lobelia cardinalis*: variation and correlations. *Amer. J. Bot.*, 76: 204-214.
- Ehrlen, J. 1993. Ultimate functions of non-fruiting flowers in *Lathyrus vernus*. *Oikos*, 68: 45-52.
- Galen, C., R. C. Plowright & J. D. Thomson. 1985. Floral biology and regulation of seed set and seed size in the lily, *Clintonia borealis*. *Amer. J. Bot.*, 72: 1544-1552.
- Guitian, J. 1993. Why *Prunus mahaleb* (Rosaceae) produces more flowers than fruits. *Amer. J. Bot.*, 80: 1305-1309.
- Herrera, J. 1991. Allocation of reproductive resources within and among inflorescences of *Lavandula stoechas* (Lamiaceae). *Amer. J. Bot.*, 78: 789-794.
- Holtsford, T. P. 1985. Nonfruiting hermaphroditic flowers of *Calochortus leichlinii* (Liliaceae): potential reproductive functions. *Amer. J. Bot.*, 72: 1687-1694.
- Hormaza, J. I. & M. Herrero. 1994. Gametophytic competition and selection. pp: 372 - 400. In: Williams, E. G., A. E. Clarke & R. B. Knox (Eds.). Genetic control of self-incompatibility and reproductive development in flowering plants. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, The Netherlands.
- Johnston M. O. 1992. Effects of cross and self-fertilization on progeny fitness in *Lobelia cardinalis* and *L. siphilitica*. *Evolution*, 46: 688-702.
- Lee, T. D. 1988. Patterns of fruit and seed production. pp: 179 - 202. In: Lovett Doust, J. & L. Lovett Doust (Eds.). Plant reproductive ecology. Oxford University Press, New York. NY.
- Marshall, D. L. & N. C. Ellstrand. 1986. Sexual selection in *Raphanus sativus*: experimental data on nonrandom fertilization, maternal choice, and consequences of multiple paternity. *Amer. Nat.*, 127: 446-461.
- Montalvo, A. M. 1992. Relative success of self and outcross pollen comparing mixed -and single-donor pollinations in *Aquilegia caerulea*. *Evolution*, 46: 1181-1188.
- Mulcahy, D. L. & G. B. Mulcahy. 1987. The effects of pollen competition. *Am. Sci.*, 75: 44 -50.
- Navarro, L. 1997. Is the dichogamy of *Salvia verbenaca* L. (Labiatae) an effective barrier to self-fertilization? *Plant Syst. Evol.*, 207: 111-117.
- Petanidou, T. & D. Vokou. 1993. Pollination ecology of Labiatae in a phryganic (east Mediterranean) ecosystem. *Amer. J. Bot.*, 80 (8): 892-899.
- Pyke, G. H. 1981. Effects of inflorescence height and number of flower per inflorescence on fruit set in Waratahs (*Telopea speciosissima*). *Austr. J. Bot.*, 29: 419-424.

- Redmond, A. M., L. E. Robbins & J. Travis. 1989. The effects of pollination distance on seed production in three populations of *Amanthium muscaetoxicum* (Liliaceae). *Oecologia*, 79: 260-264.
- Schemske, D. W. & L. P. Pautler. 1984. The effects of pollen composition on fitness components in a neotropical herb. *Oecologia*, 62: 31-36.
- Schlichting, C. D., A. G. Stephenson, L. E. Small & J. A. Winsor. 1990. Pollen loads and progeny vigor in *Cucurbita pepo*: the next generation. *Evolution*, 44: 1358-1372.
- Schoen, D. J. & M. Dubuc. 1990. The evolution of inflorescence size and number: A gamete-packaging strategy in plants. *Amer. Nat.*, 135: 841-857.
- Snow, A. A. 1986. Evidence for and against pollen tube competition in natural populations. pp: 405-410. *In*: Mulcahy, D. L., G. Mulcahy & E. Ottaviano (Eds.). *Biotechnology and ecology of pollen*. Springer-Verlag, New York.
- Solomon, B. P. 1988. Patterns of pre -and postfertilization resource allocation within an inflorescence: evidence for interovary competition. *Amer. J. Bot.*, 75: 1074-1079.
- Stephenson, A. G. 1979. An evolutionary examination of the floral display of *Catalpa speciosa* (Bignoniaceae). *Evolution*, 33: 1200-1209.
- Stephenson, A. G. 1980. Fruit set, herbivory, fruit reduction, and the fruiting strategy of *Catalpa speciosa* (Bignoniaceae). *Ecology*, 61: 57-64.
- Stephenson, A. G. 1981. Flower and fruit abortion: proximate causes and ultimate functions. *Ann. Rev. Ecol. Syst.*, 12: 253-279.
- Stephenson, A. G. 1992. The regulation of maternal investment in plants. pp: 151 - 171. *In*: Marshall, C. & J. Grace (Eds.). *Fruit and seed production*. Cambridge University Press, New York. NY.
- Stephenson, A. G. & J. A. Winsor. 1986. *Lotus corniculatus* regulate offspring quality through selective fruit abortion. *Evolution*, 40: 453-458.
- Thompson, J. N. & O. Pellmyr. 1989. Origins of variance in seed number and mass: interaction of sex expression and herbivory in *Lomatium salmoniflorum*. *Oecologia*, 79: 395-402.
- Vaughton, G. 1993. Nonrandom patterns of fruit set in *Banksia spinulosa* (Proteaceae): interovary competition within and among inflorescences. *Int. J. Plant Sc.*, 154: 306-13.
- Watson, M. A. & B. B. Casper. 1984. Morphogenetic constraints on patterns of carbon distribution in plants. *Ann. Rev. Ecol. Syst.*, 15: 233-258.
- Willson, M. F. & P. W. Price. 1977. The evolution of inflorescence size in *Asclepias* (Asclepiadaceae). *Evolution*, 31: 495-511.
- Wyatt, R. 1982. Inflorescence architecture: how flower number, arrangement, and phenology affect pollination and fruit-set. *Amer. J. Bot.*, 69: 585-594.