

## Análisis Palinológico de Angiospermas en el Centro Turístico Las Palomas, Gto.

**Orozco-Muñiz Héctor<sup>1</sup>, Hernandez-Rocha Juana Valeria<sup>1</sup> Avila-González José Armando<sup>1</sup>, Méndez-López Melisa Regina<sup>1</sup>, y Vásquez-Morales Suria Gisela<sup>2</sup>\***

<sup>1</sup>Licenciatura en Biología Experimental, División de Ciencias Naturales y Exactas, Universidad de Guanajuato.

<sup>2</sup>Departamento de Biología, División de Ciencias Naturales y Exactas, Universidad de Guanajuato.

\*Autor de correspondencia: sg.vasquez@ugto.mx

---

### Resumen

La polinización es la dispersión de granos de polen de una flor a otra y se realiza mediante factores bióticos (organismos polinizadores) y abióticos (viento y agua). El polen, gametofito masculino, presenta diferentes morfologías, así como la exina (capa más externa) exhibe diferentes ornamentaciones y emisiones de fluorescencia. La relación que hay entre la polinización y la fluorescencia es una interacción simbiótica, debido a que los organismos polinizadores como los insectos son dependientes estrictos del fenómeno de fluorescencia como una señal para ubicar los granos de polen. Nosotros realizamos un estudio palinológico de 20 especies de plantas, donde las muestras de polen fueron observadas en microscopía óptica, confocal y de fluorescencia, para describir su estructura general y la emisión fluorescente del polen.

### Abstract

Pollination is the dispersion process of pollen grains from one flower to another, and it is carried out by biotic (pollinators) and abiotic factors (wind, water). Pollen, which is the masculine gametophyte, shows different morphologies and its outermost layer (exina) has different ornamentations and fluorescence emissions. The relationship between pollination and pollen fluorescence is a symbiotic interaction, because pollinators such as insects are strictly dependent on fluorescence as a signal to locate pollen grains. We carried out a palynological study of 20 species of plants, where pollen grains were observed in optical, confocal and fluorescence microscopes, to describe their general structure and fluorescent emission.

## Introducción

La Palinología es el estudio del polen y las esporas, sus mecanismos de dispersión y sus aplicaciones [1]. El polen es el gametófito masculino inmaduro de las plantas con flores, se forma en las anteras por medio de la división reducida de la célula madre del polen, es unicelular, haploide y su función primaria es la reproducción sexual [2]. El polen necesita ser transportado por un agente polinizador (murciélagos, aves, insectos, viento y agua) de una flor a otra, a este proceso se le llama polinización [3]. El proceso de polinización requiere que los pólenes sean células especialmente resistentes, ya que se ven sometidos a condiciones ambientales adversas que pueden provocar el colapso y desecación de los componentes celulares, alternándose y haciendo el polen inviable [1], por lo que el grano se compone de una parte viviente o interna (protoplasma) y una parte inerte o externa (exina) [1]. La capa externa o exina presenta estructuras morfológicas muy diversas que son de gran utilidad para la sistemática y taxonomía de plantas [4]. Dicha exina se constituye de esporopolenina, un polisacárido complejo de carotenoides y ésteres carotenoides, que es resistente a bases y ácidos fuertes, así como las variaciones térmicas habituales en la naturaleza [5].

Por otra parte, las plantas emplean diferentes señales de visualización y olfativas para atraer a los polinizadores [6]. En particular, el polen presenta autofluorescencia por la presencia de fluoróforos y cromóforos [7]. La fluorescencia se refiere a la emisión espontánea de un fotón después de un estado excitado por absorción de luz incidente a una frecuencia dentro de una línea o banda de moléculas de absorción específica [8], así que la esporopolenina varía con el taxón de estudio [9]. Algunos insectos son capaces de detectar longitudes de onda que para el ojo humano no son visibles. Se ha demostrado que las abejas tienen una percepción visual tricromática, es decir, observan en el ultravioleta (UV), amarillo-verde y azul [10]. El objetivo de este estudio fue realizar un análisis palinológico de angiospermas del Centro Ecoturístico Las Palomas, Gto., mediante el uso de herramientas de microscopía. Dicho análisis consistió en describir la estructura morfológica y verificar la emisión de fluorescencia en la exina del polen.

## Materiales y Método

Se realizaron colectas botánicas de 20 especies en el Centro Ecoturístico “Las Palomas” durante los meses de enero hasta abril del 2019. Las flores obtenidas se colocaron en bolsas de papel, y éstas dentro de un estuche que contenía perlas de silica gel, para facilitar su deshidratación. Además, se colectó un fragmento vegetativo representativo de cada planta para su deshidratación y posterior montaje en láminas para su descripción taxonómica e iniciar con la creación del herbario del Departamento de Biología de la Universidad de Guanajuato.

Mediante el uso de estereoscopios, se separaron las partes florales, obteniendo las anteras aisladas para así colectar el polen. El polen se guardó durante cinco días en tubos eppendorf con perlas de silica gel para su deshidratación. Finalmente, los granos de polen se observaron bajo el microscopio compuesto (10X y 40X) y el microscopio confocal y de fluorescencia (40X en aceite de inmersión). Se describió la morfología general de cada grano en microscopía óptica y confocal, mientras que con microscopía de fluorescencia bajo los filtros GFP, DsRed y DAPI (verde, rojo y azul) se describió la emisión de fluorescencia.

## Resultados y Discusión

En el estado de Guanajuato existen pocos estudios enfocados en su flora y específicamente en la investigación palinológica, por lo tanto, el análisis desarrollado en este estudio contribuye a generar conocimiento de los relictos de bosque existentes.

Las muestras botánicas colectadas se montaron en láminas taxonómicas para la creación de un herbario (Fig. 1), que trata de una colección de diferentes especies de plantas desecadas, destinadas a la investigación botánica [11]. Los especímenes vegetativos fueron identificados taxonómicamente de acuerdo con el Listado Florístico de la Sierra de Santa Rosa, Gto., México [12] y la base de datos del Missouri Botanical Garden [13]. Adicionalmente, se confirmó la identificación taxonómica de las especies del género *Quercus* [14]. Se identificaron las familias Cistaceae, Asteraceae, Ericaceae, Geraniaceae, Onagraceae, Cactaceae, Sapindaceae, Buddlejaceae y Fagaceae. Se determinaron las especies: *Helianthemum glomeratum*, *Tagetes lunulata*, *Sonchus oleraceus*, *Arctostaphylos pugnans*, *Geranium* sp., *Oenothera rosea*, *Echi-*

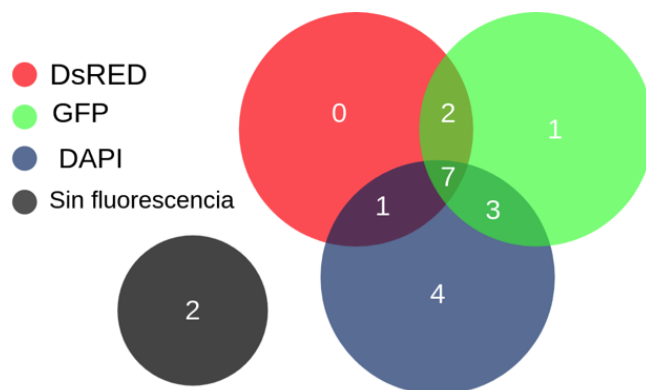
nocactus platyacanthus, Dodonaea viscosa, Buddleja sessiliflora, Quercus deserticola, Quercus obtusata y Quercus rugosa. Los Quercus fue el género mayormente analizado. No se lograron identificar 5 muestras botánicas.



**Figura 1.** Muestra botánica en lámina taxonómica perteneciente al herbario de la Universidad de Guanajuato.

En base al manual de la PalDat [4], se describió la morfología y ornamentación de los granos de polen prevaleciendo los no esféricos, con 2 especies, y los esféricos, con 18 especies. Dentro de los no esféricos se encontró que uno es de forma isodiamétrica sulcado con aperturas poroides, mientras que el otro es de forma irregular acalimado sincolpado; en los esféricos se encontraron las siguientes morfologías: dos son aberturados membranosos, dos aberturados liso anulados, dos porados, dos equinados, dos equinados trianulados, uno equinado porado y tres trianulados. Se observó similitud en los granos de polen de las especies del género Quercus y algunas diferencias por especie en general. Yellof [9], menciona que las morfologías del grano de polen varían con el nivel taxonómico. Además, la gran variedad de formas sirve de guía para predecir la relación

filogenética entre las angiospermas [2]. Las imágenes del grano de polen de cada especie se muestran en la Tabla 1, en fotografías en campo claro a 40x, en contraste de fase a 40x y bajo los filtros fluorescentes GFP, DsRed y DAPI a 40x con aceite de inmersión. En general, los granos de polen emitieron fluorescencia en los diversos filtros. Siete especies presentaron fluorescencia en los tres filtros, una solamente en GFP, cuatro únicamente en DAPI, tres en GFP y DAPI, una en DsRed y DAPI, dos en GFP y DsRed, y ninguna presentó sólo fluorescencia en DsRed. Por último, dos especies no presentaron ninguna fluorescencia (círculo negro; Fig. 2). La fluorescencia es una señal visual para los polinizadores inducida por luz UV. Mori [15] demostró que las abejas se dirigen a los compuestos fluorescentes del polen. Por lo tanto, la fluorescencia es realmente importante para el proceso de polinización. Así mismo, también se propone que la fluorescencia puede ser un mecanismo doble de protección. Por un lado protege directamente a los genes de la planta, ya que la luz UV genera daños en el ADN. Además, realiza la función secundaria de eliminar radicales libres de especies reactivas de oxígeno [15].



**Figura 2.** Diagrama de emisión fluorescente de los granos de polen bajo los filtros de fluorescencia. Los valores indican la cantidad de granos que presentaron fluorescencia únicamente en cada filtro, en las intersecciones (fluorescencia en más de un filtro) y sin ningún tipo de fluorescencia.

**Tabla 1.** Fotografías de polen bajo microscopía óptica normal y de contraste de Fases y bajo fluorescencia.

Especie	Campo claro 40X	Contraste de fase 40X	Fluorescencia 40X OIL		
			GFP	DsRED	DAPI
<i>Helianthemum glomeratum</i>					
Especie desconocida 01			SF	SF	SF
<i>Tagetes lunulata</i>					
<i>Sonchus oleraceus</i>			SF	SF	
Especie desconocida 02				SF	
<i>Arctostaphylos pugnans</i>			SF		
Especie desconocida 03			SF	SF	
<i>Geranium sp.</i>			SF	SF	SF
Especie desconocida 04				SF	
Especie desconocida 05					
<i>Oenothera rosea</i>					
<i>Echinocactus platyacanthus</i>					
<i>Dodonaea viscosa</i>					
<i>Buddleja sessiliflora</i>			SF	SF	
<i>Quercus deserticola</i>					
<i>Quercus obtusata</i>				SF	SF
<i>Quercus eduardii</i>				SF	
<i>Quercus rugosa</i>			SF	SF	

<i>Quercus sp. 01</i>					SF
<i>Quercus sp. 02</i>					SF

## Conclusiones

Se inicio el herbario del Departamento de Biología, DCNE, de la Universidad de Guanajuato con las muestras representativas de la zona, se montaron en total 22 plantas en láminas taxonómicas. Se realizó la observación del grano de polen de 20 especies de angiospermas recolectadas en el Centro Ecoturístico “Las Palomas”. En su mayoría los granos de polen son esféricos y emiten fluorescencia en los tres filtros evaluados.

## Agradecimientos

Agradecemos a la Dra. Norma Ramírez Ramírez por el apoyo brindado en el manejo del microscopio confocal de fluorescencia. Al programa de Verano de la Ciencia de la UG 2019. Al Centro “Las Palomas” por permitirnos tomar las muestras botánicas. Al equipo de estudiantes de apoyo conformado por Erick Alvarez, Israel Rodríguez, Luis Tetuán, Margarita González, Paola Vázquez, Guadalupe Maruri, Levi Valadez y al Lic. Ramón Hernández por su apoyo en general.

## Referencias

- [1] Belmonte Soler, J., Roure Nolla, J.M. (s.f.). Introducción. Universidad Autónoma de Barcelona. Acceso el 25 de Julio de 2019. [https://lap.uab.cat/aerobiologia/general/pdf/menarini/0\\_introduccion.pdf?fbclid=IwAR3n7iGgxn60ayVt3rSs1Ij0yr6n\\_80eTKeFAw31-O60IOmD88Xkh22aqvM](https://lap.uab.cat/aerobiologia/general/pdf/menarini/0_introduccion.pdf?fbclid=IwAR3n7iGgxn60ayVt3rSs1Ij0yr6n_80eTKeFAw31-O60IOmD88Xkh22aqvM)
- [2] Firoze Quamar M.; Nawaz Ali S.; Morthekai P.; Kant Lin, R., Davis, A., 1988. The chemistry of coal maceral fluorescence: with special reference to the Huminite / Vitrinite Group. Special Research Report SR-122. Energy and fuels research centre, Pennsylvania State University.
- [3] APOLO (s.f.) Ministerio de Agricultura, Alimentación y Medio Ambiente, Fundación Biodiversidad y Asociación en Defensa de la Abeja Principado de Asturias. Polinizadores y biodiversidad. Observatorio de Agentes Polinizadores, 1-160.

- [4] PalDat (2015). Palynological Database. [www.paldat.org](http://www.paldat.org)
- [5] Urbanczyk J. et al (2014). Spectral fluorescence variation of pollen and spores from recent peat-forming plants. *International Journal of Coal Geology*, 131: 263–273.
- [6] Grajales-Conesa, J.; Meléndez-Ramírez, V.; Cruz-López, L. (2011). Aromas florales y su interacción con los insectos polinizadores. *Revista Mexicana de Biodiversidad*, 82: 1356-1367.
- [7] Lin, R., Davis, A., 1988. The chemistry of coal maceral fluorescence: with special reference to the Huminite / Vitrinite Group. Special Research Report SR-122. Energy and fuels research centre, Pennsylvania State University.
- [8] Rao Z.; Hua D.; He T.; Wang Q.; Le J. (2017). Ultraviolet laser-induced fluorescence lidar for pollen detection. *Optic*, 136: 497-502.
- [9] Yeloff D.; Hunt C. (2005). Fluorescence microscopy of pollen and spores: a tool for investigating environment change. *Review of Palaeobotany and Palynology*, 133: 203–219.
- [10] Chittka, L.; Shmida, A.; Troje, N. y Menzel, R. (1994). Ultraviolet as a component of flower reflections, and the colour perception in Hymenoptera. *Vision Res.*, 34 (11): 1489-1508.
- [11] Jardín Botánico de Soller (2019). Fundación Jardín Botánico del Soller 2009-2019. <http://www.jardibotanicdesoller.org>
- [12] Martínez-Cruz, J.; Téllez-Valdés, O. (2004). Listado florístico de la Sierra de Santa Rosa, Guanajuato, México. *Boletín de la Sociedad Botánica de México*, 74: 31-49.
- [13] MBG (2019). Missouri Botanical Garden. <https://www.tropicos.org/>
- [14] Valencia-A, S. (2004). Diversidad del género *Quercus* (Fagaceae) en México. *Boletín de la Sociedad Botánica de México*, 75: 33-53.
- [15] Mori, S.; Fukui, H.; Oishi, M.; Sakuma, M.; Kawakami, M.; Tsukioka, J.; Hirai, N. (2018). Biocommunication between Plants and Pollinating Insects through Fluorescence of Pollen and Anthers. *Journal of Chemical Ecology*, 44: 591-600.