

## ANALISIS PALINOLOGICO COMPARADO DE LAS ESPECIES DE *MEDICAGO*, *MELILOTUS* Y *TRIFOLIUM* (LEGUMINOSAE) DE LA PROVINCIA FITOGEO- GRAFICA PAMPEANA (ARGENTINA)

por MARIA CRISTINA TELLERIA<sup>1</sup>

**Summary** Compared palynological analysis of the species of *Medicago*, *Melilotus* and *Trifolium* (Leguminosae) of the pampa phytogeographic province (Argentina). This paper describes the pollen morphology in the species of *Medicago* and *Melilotus* present in the pampeana phytogeographic province. They were compared with the species of *Trifolium* which were treated in a previous work. The photonic and the scanning electron microscope were used. The present study has the object to delimit the pollen diagnostic characters of the named taxa to possibilite their identification in honey. The three genera can be separated by an aggregate of combined characters, observable with photonic microscope, they are: ornamentation, shape in ecuatorial view and apertures detail.

### INTRODUCCION

Los géneros *Medicago* L., *Melilotus* Mill. y *Trifolium* L. están comúnmente representados en las mieles y en las cargas polínicas provenientes de la provincia fitogeográfica pampeana (Tellería 1988, 1990). La determinación palinológica de estos taxa es compleja pues la consulta de una colección de referencia, puso en evidencia la superposición de caracteres pocos conocidos entre algunas de las especies del grupo.

Por tal motivo y con la finalidad de delimitar los caracteres diagnósticos que permitan la determinación al nivel genérico o específico, se estudiaron desde el punto de vista palinológico las especies de *Medicago* (*M. arabica* (L.) Hudson, *M. lupulina* L., *M. minima* (L.) Grufberg, *M. polymorpha* L., *M. truncatula* Gaertn. y la especie cultivada *M. sativa* L.) y *Melilotus* (*M. albus* Med., *M. indicus* (L.) All., *M. messanensis* (L.) All. y *M. officinalis* (L.) Lam.), que habitan en la provincia fitogeográfica pampeana (Burkart 1967; Cabrera y Zardini 1978).

Estas se comparan con las especies bonaerenses de *Trifolium* tratadas con anterioridad (Tellería 1987).

Con la finalidad de intentar una clasificación sobre la base de los caracteres palinológicos, Lesins y Lesins 1963, estudian el polen de 47 especies de

*Medicago*, en granos con contenido citoplasmático y con microscopio fotónico. El polen de las especies americanas de este género junto a las de *Melilotus* y *Trigonella*, fue analizado con MEB y con contraste de fase por Small *et al.* (1983), a fin de contribuir a la sistemática de las *Trigonelleae*.

Datos aislados que solo hacen mención a la morfología figuran en Ikuse (1956), Maurizio (1961), Erdtman (1952).

### MATERIAL Y METODO

Las muestras se obtuvieron de los herbarios de la División Plantas Vasculares del Museo de La Plata (LP) y del Instituto de Botánica Darwinion (SI). Se consultó un mínimo de dos ejemplares por especie seleccionando los que provenían del área de estudio.

Las técnicas de preparación para la observación con microscopio fotónico (MF) y electrónico de barrido (MEB), fueron detalladas anteriormente (Tellería 1987). El equipo de MEB es modelo JEOL-JSMT 100 y pertenece al Servicio de Microscopía Electrónica del Museo de Ciencias Naturales de La Plata. La clave se realizó sobre la base de caracteres observables con MF. Se midieron 20 granos, considerando los siguientes caracteres: diámetro ecuatorial (De), diámetro polar (Dp) y espesor de la exina. La forma de los granos se determinó mediante la relación (Dp/De) (Erdtman 1952). Los detalles de ornamentación que fueron visualizados solo con MEB, figuran al final de cada descripción.

<sup>1</sup> Becaria del Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas, Cátedra de Palinología, Facultad de Ciencias Naturales, Paseo del Bosque 1900 - La Plata, Argentina

## DESCRIPCIONES

### **Medicago L.**

Granos tricolporados, suboblatos, subprolotos o esferoidales.

Contorno en vista ecuatorial romboidal, circular, rectangular y formas intermedias. Amb circular a semiangular. Colpos largos, puente a nivel de la endoapertura. Con o sin margo. Ora con contorno difuso (Hideux y Ferguson, 1976). Exina rugulada, punteada-rugulada verrucosa, punteada-verrucosa o reticulada.

La nexina siempre se engrosa a nivel de la endoapertura. Polos levigados, rugulados, punteados o foveolados.

*Obs.:* todos los ejemplares examinados, presentaron un alto número de granos anormales, con forma piramidal o perprolata y pared sin diferenciación de capas.

### **M. arabica (L.) Hudson**

(Fig. 1, A-F)

Granos suboblatos ( $Dp/De = 0,9$ ) a esferoidales. De: 35-41  $\mu m$  Dp: 32-39  $\mu m$ . colpos sin margo, exina de 1,6 a 3  $\mu m$  de espesor, rugulada, rugulada-verrucosa o verrucosa, predominando el primer tipo. Sexina de espesor variable, en general igual al de la nexina.

*Material estudiado:* ARGENTINA, Prov. Buenos Aires: Pdo. Junín, Junín, XI/1981 Tellería 34, (LP); Pdo. San Nicolás, San Nicolás, 13/X/1941 Cabrera 7222, (LP).

### **M. lupulina L.**

(Fig. 1, G-I)

Granos subprolotos ( $Dp/De = 1,25$ ), subromboidales en vista ecuatorial De: 23-28  $\mu m$ . Dp: 28-35  $\mu m$ . Colpos con margo levigado. Exina de 2  $\mu m$  de espesor, microrreticulada. Sexina = nexina. Lúmenes del retículo con menor amplitud hacia el centro del mesocolpio. Polos lisos o foveolados.

*Obs.:* Los granos normales presentan frecuentemente endoapertura "papiliforme" (Thanikaimoni, 1987).

*Material estudiado:* ARGENTINA, Prov. Buenos Aires: Pdo. Necochea, Hicken 6549 (SI); Pdo. Gral. Pueyrredón, Punta Mogotes, 2/XI/1944, Cabrera 9958, (LP); Pdo. Gral. Madariaga, Gral Madariaga, 29/XI/1944 Cabrera 8433, (LP).

### **M. minima (L.) Grufberg**

(Fig. 1, N-O)

Granos subprolotos ( $Dp/De = 1,16$ ), Subromboidales en vista ecuatorial De: 24-30  $\mu m$ , Dp: 30-33  $\mu m$ . Colpos con margo microrreticulado a punteado. Ora alóngados.

Exina de 2,5  $\mu m$  de espesor, microrreticulada. Los muros del retículo se ensanchan hacia su base confiriendo, en este nivel del L.O., un aspecto foveolado. Lúmenes del retículo con mayor amplitud hacia el centro del mesocolpio. Sexina = nexina. Polos levigados, punteados o foveolados.

*Obs.:* Los granos normales presentan frecuentemente endoapertura "papiliforme" (Thanikaimoni *op. cit.*). (Fig. 1 N).

*Material estudiado:* ARGENTINA, Prov. Buenos Aires: Pdo. Saavedra, 4/XI/39, Cabrera 5493, (LP); Prov. Santa Fe, Pdo. Rosario, Ao. Frías 6/X/1929, Cabrera 927, (LP).

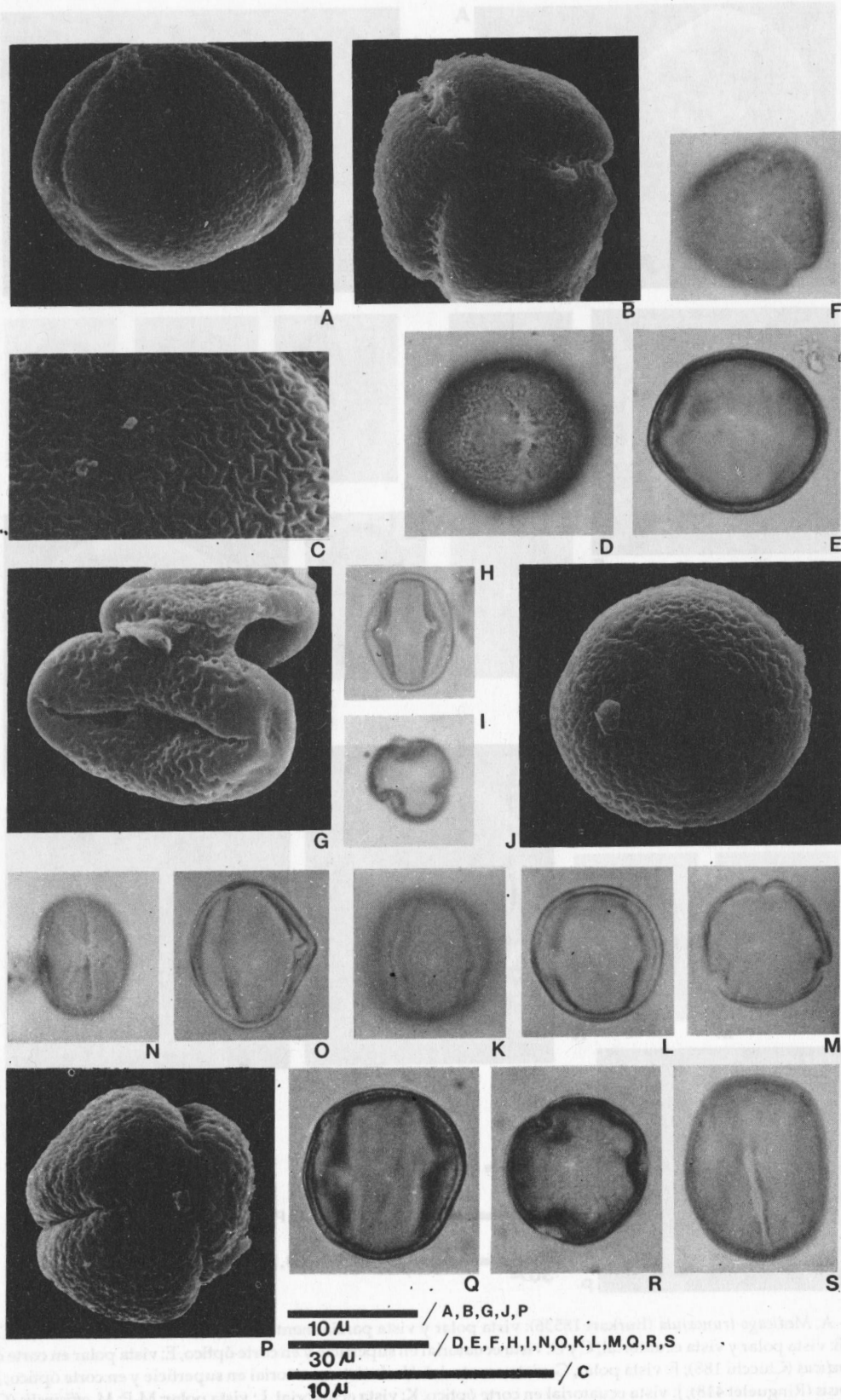
### **M. polymorpha L.**

(Fig. 1, J-M)

Granos prolotos ( $Dp/De = 1,6$ ), romboidales. De: 24-30  $\mu m$ , Dp: 27-33  $\mu m$ . Colpos con margo punteado. Exina de 1,5  $\mu m$  de espesor, rugulada. Sexina = nexina. Polos levigados o foveolados. MEB: la superficie de la exina es rugulada-verrucosa.

*Material estudiado:* ARGENTINA, Prov. Buenos Aires: Pdo. La Plata, 13/X/1928, Cabrera 430, (LP); Isla Santiago, 25/IX/1932, Cabrera 2220, (SI).

Fig. 1.— A-F: *Medicago arabica* (Tellería 34); A: vista ecuatorial, B: vista polar, C: detalle de la superficie de la exina, D y E: vista ecuatorial en superficie y en corte óptico, F: vista polar en superficie; G-I: *M. lupulina* (Hicken 6549); G: vista ecuatorial, H: vista ecuatorial en corte óptico, I: vista polar en corte óptico; N-O: *M. minima* (Cabrera 5493): vista ecuatorial en superficie y en corte óptico; J-M: *M. polymorpha* (Cabrera 430); J: vista ecuatorial, K y L: vista ecuatorial en superficie y en corte óptico, M: vista polar en corte óptico; P-S: *M. sativa* (Volponi-Zardini 95); P: vista polar, Q: vista ecuatorial en corte óptico, R: vista polar en corte óptico, S: vista ecuatorial en superficie.



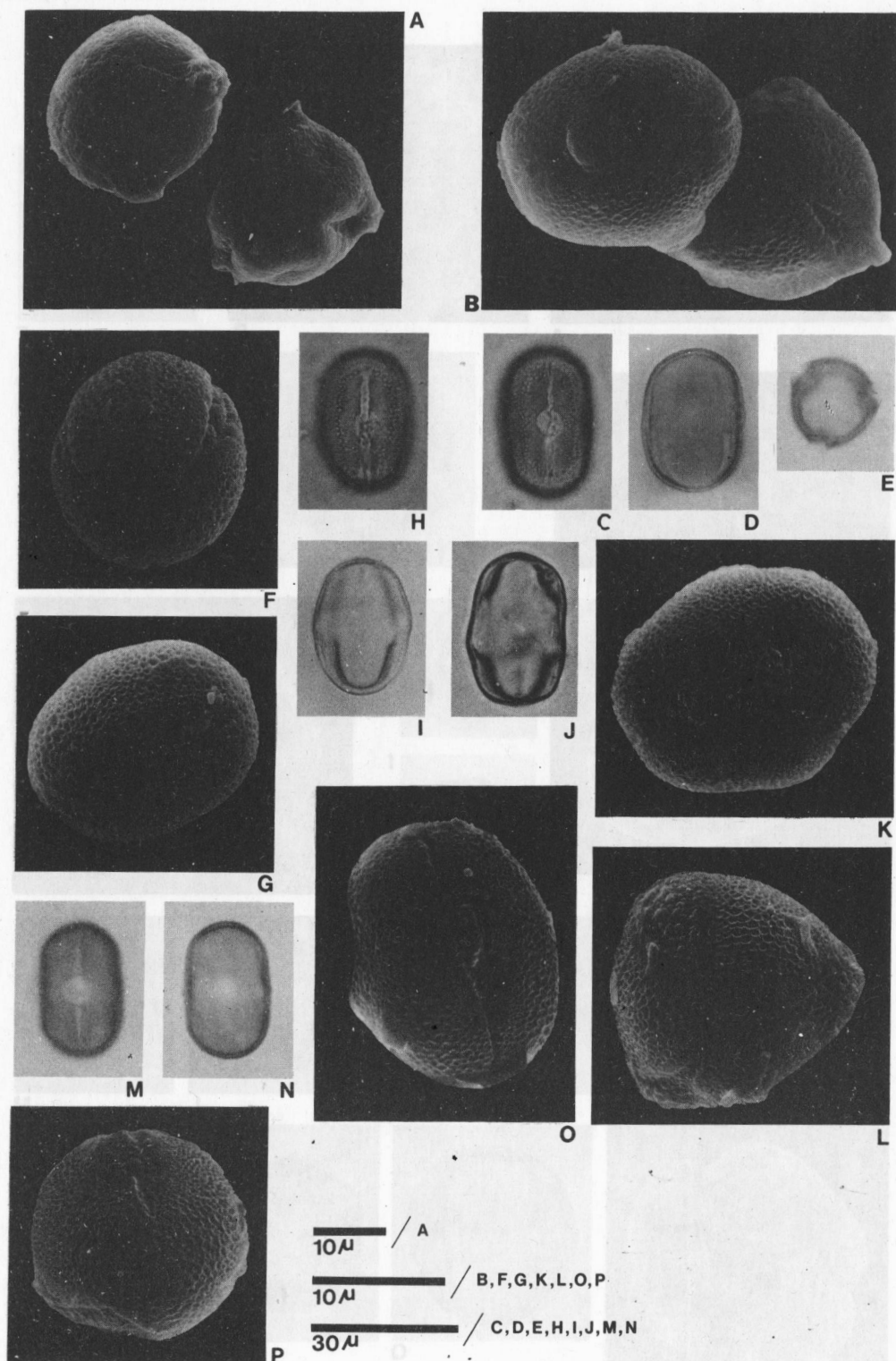


Fig. 2.— A: *Medicago truncatula* (Burkart 18536): vista polar y vista parcialmente ecuatorial; B-E: *Melilotus albus* (Cabrera 10110); B: vista polar y vista ecuatorial, C y D: vista ecuatorial en superficie y en corte óptico, E: vista polar en corte óptico; F-I: *M. indicus* (Chicchi 188); F: vista polar, G: vista ecuatorial, H e I: vista ecuatorial en superficie y en corte óptico; J-L: *M. messanensis* (Ringuelet 418); J: vista ecuatorial en corte óptico, K: vista ecuatorial, L: vista polar; M-P: *M. officinalis* (Chicchi 100); M y N: vista ecuatorial en superficie y en corte óptico, O: vista ecuatorial, P: vista polar.



**M. sativa L.**  
(Fig. 1, P-S)

Granos subprolotos (Dp/De = 1,2), subromboideales o subrectangulares en vista ecuatorial. De: 22-28  $\mu\text{m}$ , Dp: 28-34  $\mu\text{m}$ . Colpos sin margo.

Exina de 1,6  $\mu\text{m}$  de espesor, tectada-punteada. Sexina = 1/2 nexina MEB: la superficie de la exina es punteada-rugulada.

Obs.: Es frecuente la presencia de grietas en la exina.

Material estudiado: ARGENTINA, Prov. Buenos Aires: Pdo. Puán, cerros y Laguna de Puán, 10/XI/1928, Scala (LP); Pdo. La Plata, City Bell, 4/XI/32 Cabrera 2450 (LP); Prov. San Juan: Dpto. Albardón, 8/I/1971 Volponi-Zardini 95 (LP).

**M. truncatula Gaertn.**  
(Fig. 2, A)

Granos esferoidales (Dp/De = 1). De: 37-48  $\mu\text{m}$ , Dp: 38-49  $\mu\text{m}$ . Colpos sin margo. Exina de 1  $\mu\text{m}$  de espesor, rugulada. Sexina = nexina. Polos rugulados o punteados.

Obs.: Es frecuente la presencia de grietas en la exina.

Material estudiado: ARGENTINA, Prov. Buenos Aires: Pdo. Patagones, Carmen de Patagones, 12/X/1951 Burkart 18536, (SI); 27/I/1934 Burkart 6001 (SI).

**Melilotus Mill.**

Granos tricolporados, prolotos, oblongos en vista ecuatorial. Amb circular. Colpos largos, forman puente a nivel de la endoapertura, con membrana granular, gránulos más numerosos en el ecuador. Margo tectado levigado. Os circular-lalongado o lolongado. Exina microrreticulada. Lúmenes con menor amplitud hacia el centro del mesocolpio. Sexina = nexina. Polos microrreticulados o foveolados.

Material estudiado:

*M. albus* Med.

ARGENTINA: Prov. Buenos Aires: Pdo. Gral. J. Madariaga, Pinamar, 1/1946 Cabrera 10110, (LP); Prov. Neuquén: orillas del río Limay, 4/III/1939, Chicchi 182, (LP); Birabén 735 (LP).

*M. indicus* (L.) All.

ARGENTINA: Prov. Buenos Aires: La Plata, 15/X/1932, Cabrera 2328, (LP); Prov. Neuquén: orillas del río Limay, 4/III/1939, Chicchi 188, (LP).

*M. messanensis* (L.) All.

ARGENTINA: Prov. Buenos Aires: La Plata, 5/XI/1932, Cabrera 2485; orillas del río Samborombón, X/1934, Ringulet 418, (LP).

*M. officinalis* (L.) Lam.

ARGENTINA: Prov. Neuquén, II/1939, Chicchi 100, (LP).

Cuadro comparativo de los caracteres morfológicos del polen de *Melilotus*

ESPECIE	De ( $\mu\text{m}$ )	Dp ( $\mu\text{m}$ )	EXINA ( $\mu\text{m}$ )	OS (forma y tamaño)
<i>M. albus</i> Med. (Fig. 2, B-E)	14-18	20-25	0,8	Lalongado-circular De: 4,4 $\mu\text{m}$ , Dp: 4 $\mu\text{m}$
<i>M. indicus</i> (L.) All. (Fig. 2, F-I)	14-18	19-23	1	Lalongado-circular De: 4 $\mu\text{m}$ , Dp: 5 $\mu\text{m}$
<i>M. messanensis</i> (L.) All. (Fig. 2, J-L)	14-16	20-22	1	Lolongado De: 5 $\mu\text{m}$ , Dp: 8 $\mu\text{m}$
<i>M. officinalis</i> (L.) Lam. (Fig. 2, M-P)	14-16	21-23	1	Lalongado-circular De: 4 $\mu\text{m}$ , Dp: 5 $\mu\text{m}$

CLAVE PARA DIFERENCIAR LAS ESPECIES DE  
MEDICAGO, MELILOTUS Y TRIFOLIUM PRESENTES  
EN LA PROVINCIA FITOGEOGRAFICA PAMPEANA.

- A. Exina reticulada.  
B. Lúmenes amplios (hasta 8 µm). Contorno oval-circular en vista ecuatorial. *Trifolium pratense*  
B'. Lúmenes menores, hasta 6 µm. Contorno romboidal-subromboidal, circular u oblongo en vista ecuatorial.  
C. Romboidal o subromboidal en vista ecuatorial.  
D. Endoapertura con contorno nítido, lalongada.  
E. De: 25-29 µm, Dp: 34-37 µm. Lúmenes amplios (hasta 6 µm). *Trifolium subterraneum*  
E'. De: 15-22 µm, Dp: 20-27 µm. Lúmenes pequeños (hasta 3 µm).  
F. Lúmenes de menor amplitud hacia el centro del mesocolpio.  
G. Colpos cortos, hasta 18 µm de longitud. *Trifolium arvense*  
G'. Colpos largos, más de 18 µm. *Trifolium argentinense*,  
*T. repens*,  
*T. resupinatum*,  
*T. bonanni*  
F'. Lúmenes irregulares en toda la superficie. *Trifolium dubium*  
D'. Endoapertura con contorno difuso. *Medicago lupulina*,  
*M. minima*  
C. Circulares u oblongos en vista ecuatorial.  
H. Circulares en vista ecuatorial. *Trifolium polymorphum*  
H'. Oblongos en vista ecuatorial.  
I. Con endoapertura circular-lalongada. *Melilotus albus*,  
*M. indicus*,  
*M. officinalis*  
I'. Con endoapertura lalongada. *Melilotus messanensis*  
A'. Exina punteada, rugulada o rugulada-verrucosa. *Medicago sativa*  
J. Punteada. *Medicago arabica*  
J'. Rugulada o verrucosa. *M. polymorpha*,  
*M. truncatula*  
K. Rugulada. *Medicago arabica*  
K'. Verrucosa.

DISCUSION Y CONCLUSIONES.

Los tres géneros pueden separarse, desde el punto de vista palinológico por un conjunto de

caracteres combinados, observables con MF en granos acetolisados. Contribuyen a este fin: tipo de ornamentación, forma en vista ecuatorial y detalles de las aperturas.

Las observaciones con MEB confirman, en líneas generales las efectuadas con MF.

Dentro de este grupo de Trifolieas, que presentan características palinológicas similares (Tellería 1987), el género *Medicago* es el que más difiere de los restantes. La forma y el tamaño varía significativamente entre las especies y aún dentro de cada especie. Por otra parte algunos ejemplares presentaron aperturas supernumerarias. Estas características, en conjunto, se deberían al frecuente cruzamiento e hibridación en el género (Lesins & Lesins 1963, Small *et al.* 1981). La apertura siempre tricolporada, con ora difuso constituye un buen carácter diagnóstico a nivel genérico. La ornamentación predominante es de tipo rugulada, punteada-rugulada o rugulada-verrucosa. Sin embargo en un mismo ejemplar de *M. arabica* es posible observar todos estos tipos de ornamentación.

*M. lupulina* y *M. minima*, se apartan del patrón dominante de este género, ambas especies poseen ornamentación reticulada al igual que *Trifolium* y *Melilotus*, con el primero comparten además la forma. Sin embargo es posible segregarlos por detalles del retículo, aperturas y forma del grano.

La diferenciación de *Trifolium* y *Melilotus* es más compleja, debido a una mayor similitud de caracteres, no obstante esta es posible considerando la forma del grano y las características del retículo. Un aspecto notable de las especies de *Melilotus* estudiadas, en relación a los otros dos géneros, es la uniformidad con respecto a los caracteres analizados (Tabla I).

AGRADECIMIENTOS

Agradezco a la Dra. Marta A. Morbelli la lectura crítica del manuscrito, al Sr. Víctor Hugo Calvetti el armado de las láminas y al Servicio de Microscopía Electrónica del Museo de Ciencias Naturales de La Plata por su colaboración en la obtención de las fotografías.

BIBLIOGRAFIA

- BURKART, A. 1967. *Leguminosae*, en Cabrera, A. L., Fl. Prov. Buenos Aires 4 (3): 394-647.  
CABRERA, A. L. y E. M. ZARDINI. 1978. *Manual de la flora de los alrededores de Buenos Aires*. 1-755 pp. Ed. ACME. Buenos Aires.  
ERDTMAN, G. 1952. *Pollen morphology and plant taxonomy, Angiospermae*. 1-539 pp. Almquist & Wiksell. Stockholm.  
HIDEUX, M. and I. K. FERGUSON. 1976. *The stereostructure of the exine and its evolutionary significance in*

- Saxifragaceae sensu lato*. Linn. Soc. Symp. Ser. 1: 327-405.
- LESINS, K. and I. LESINS. 1963. Pollen morphology and species relationship in *Medicago* L. *Can J. Genet. Cytol.* 5: 270-280.
- MAURIZIO, A. et J. LOUVEAUX. 1961. Pollen de plantes mellifères d'Europe II. *Pollen et Spores* 3 (2): 219-262.
- SMALL, E. I., J. BASSET and C. W. CROMPTON. 1981. Pollen variation in the tribe *Trigonelleae* (*Leguminosae*) with special reference to *Medicago*. *Pollen et Spores*. 23 (3-4): 295-320.
- THANIKAIMONI, G. 1987. *Mangrove Palynology*. Institut Français de Pondichéry. Travaux de la Section Scientifique et Technique Tome XXIV, 104 pp.
- TELLERIA, M. C. 1987. Morfología del polen de las especies de *Trifolium* (*Leguminosae*) de la Provincia de Buenos Aires (República Argentina). *Bol. Soc. Arg. Bot.* 25: 149-161.
- 1988. Analyse pollinique des miels du nord-ouest de la Province de Buenos Aires (República Argentina). *Apidologie* 19 (3): 275-290.
- (iné.). Floraison et récolte du pollen dans une région de la province phytogéographique de la pampa (Province de Buenos Aires-República Argentina). *Apidologie* (aceptado para su publicación, 1990).