Lagascalia 20(1): 99-106 (1997)

MORFOLOGÍA POLÍNICA DE RANUNCULUS L. SUBGÉNERO BATRACHIUM (DC.) A. GRAY EN LA PENÍNSULA IBÉRICA

I. FERNÁNDEZ, J. C. DIOSDADO & J. PASTOR
Departamento de Biología Vegetal y Ecología, Universidad de Sevilla,
Apartado 1095, 41080 Sevilla.
(Recibido el 2 de Octubre de 1996)

Resumen. Se estudia la morfología polínica, al microscopio óptico y electrónico de barrido, de ocho taxones ibéricos de *Ranunculus* L. pertenecientes al subgenero *Batrachium* (DC.) A. Gray: *R. tripartitus* DC., *R. ololeucos* Lloyd, *R. penicillatus* (Dumort.) Bab., *R. trichophyllus* Chaix y *R. peltatus* Schrank con cuatro subespecies: *peltatus*, *baudotii* (Godron) C. D. K. Cook, *fucoides* (Freyn) Muñoz Garmendia y *saniculifolius* (Viv.) C. D. K. Cook. Desde el punto de vista palinológico el subgénero *Batrachium* puede considerarse como un grupo estenopolínico. Por último se discuten los resultados obtenidos y la relación entre los datos palinológicos y cariológicos.

Summary. The pollen morphology of eight Iberian taxa of *Ranunculus* L. belonging to subgenus *Batrachium* (DC.) A. Gray has been studied by light and scanning electron microscopy: *R. tripartitus* DC., *R. ololeucos* Lloyd, *R. penicillatus* (Dumort.) Bab., *R. trichophyllus* Chaix and *R. peltatus* Schrank with four subspecies: *peltatus*, *baudotii* (Godron) C. D. K. Cook, *fucoides* (Freyn) Muñoz Garmendia and *saniculifolius* (Viv.) C. D. K. Cook. From the palynological data the subgenus *Batrachium* can be considered a stenopalynous group. The relationship between the palynological and karyological data is discused.

INTRODUCCIÓN

De las especies presentes en la Península Ibérica se han estudiado: *R. tripartitus* DC. que extiende su área de distribución por Europa atlántica desde el norte de Alemania a Portugal y en el norte de Africa; *R. ololeucos* Lloyd se encuentra también en el oeste de Europa desde Holanda a Portugal; *R. peltatus* Schrank se presenta por la Región Mediterránea y Macaronesia; *R. trichophyllus* Chaix se extiende por todo el Hemisferio Norte y por el sur y este de Australia y Tasmania; *R. penicillatus* (Dumort.) Bab. se distribuye por el norte, centro y oeste de Europa.

Los taxones acuáticos del género *Ranunculus* se caracterizan por presentar flores blancas, aquenios debilmente comprimidos, con costillas transversales dispuestas regularmente en sus caras laterales y hojas enteras o divididas en segmentos capilares.

Actualmente la mayoría de los autores, siguiendo el criterio de A. GRAY (1886), consideran a *Batrachium* como subgénero (COOK, 1966, 1986 y 1993; VALDÉS, 1987; o VELAYOS, 1988), aunque anteriormente se le dieron otras categorías taxonómicas, bien como sección de *Ranunculus* (DE CANDOLLE, 1817) o como género independiente (S. F. GRAY, 1821).

Desde el punto de vista palinológico los primeros trabajos en la familia *Ranunculaceae* se deben a WODEHOUSE (1936) y KUMAZAWA (1936), siendo escasos los estudios donde se incluyen taxones pertenecientes al subgénero *Batrachium* (SANTISUK, 1979; PETROV & BORISSOVA-IVANOVA, 1981 y FERNÁNDEZ, 1986a).

El proposito del presente estudio es describir la morfología polínica del subgénero *Batrachium* y comparar los resultados con los datos cariológicos.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se han estudiado 24 poblaciones, procedentes de material seco conservado en el Herbario del Departamento de Biología Vegetal y Ecología de la Universidad de Sevilla (SEV). El origen de las muestras examinadas se indica en el Apéndice.

El polen fue acetolizado por el método de ERDTMAN (1960) estudiándose la mayoría de los caracteres mediante el microscopio óptico (MO). Una vez obtenidas las muestras, para las dimensiones de los ejes polar (P) y ecuatorial (E) se han medido 30 granos de polen en cada una de las poblaciones y alrededor de 15 para el resto de los caracteres.

El estudio de la ornamentación se ha llevado a cabo en un microscopio electrónico de barrido (MEB), para ello, una vez acetolizado y deshidratado el polen en la serie de alcoholes, se colocó en un portaobjetos y se metalizó con oro-paladio.

La terminología adoptada es la de PUNT & al. (1994).

RESULTADOS

El polen de los taxones estudiados del subgénero *Batrachium* se caracteriza por ser trizonocolpado, isopolar y radiosimétrico. Circular o elíptico en visión ecuatorial y corte óptico meridiano y circular en visión polar y corte óptico ecuatorial (Figs. 1-2). Tamaño de pequeño a mediano. Aberturas simples

Taxones	P	E	P/E	Aberturas
R. ololeucos	20-25 (22.26±0.90)	20-25 (22.01±0.94)	0.91-1.08 (1.01±0.03)	3
R. peltatus subsp. *baudotii*	21-29 (24.52±2.35)	23-28 (25.15±1.49)	0.87-1.07 (0.97±0.05)	3
R. peltatus subsp. *fucoides*	22-27 (24.15±1.15)	21-27 (23.61±1.62)	0.88-1.13 (1.02±0.07)	3
R. peltatus subsp. *peltatus*	23-30 (25.74±1.61)	23-30 (25.13±1.70)	0.96-1.12 (1.02±0.04)	3
R. peltatus subsp. *saniculifolius*	23-28 (25.48±1.32)	22-26 (24.26±1.17)	0.92-1.17 (1.05±0.06)	3
R. penicillatus	22-29 (25.50±2.02)	23-30 (26.55±1.60)	0.88-1.04 (0.96±0.04)	3
R. trichophyllus	24-28 (26.06±1.08)	22-27 (24.20±1.09)	0.96-1.17 (1.07±0.03)	3
R. tripartitus	27-33 (28.96±1.86)	26-33 (28.44±1.98)	0.96-1.10 (1.02±0.04)	3(6)

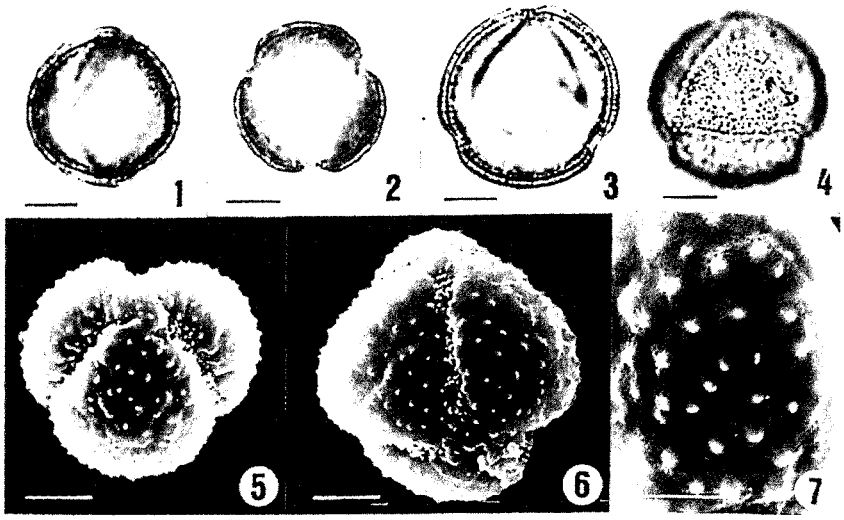
Tabla 1. Número de aberturas, valores de P y E (µm) y relación P/E de los taxones estudiados. Se indican los valores mínimo y máximo, la media y la desviación típica.

tipo colpo terminales. Membrana apertural con gránulos densamente dispuestos sobre los que aparecen microespinas. Exina de aproximadamente 1.5 - 2 µm de grosor en la mesocolpia y de 2.5 - 3 µm en la apocolpia. Sexina y nexina prácticamente de igual grosor, si bien en los polos la sexina es más gruesa que la nexina. Infratéctum columelado y téctum completo. Endexina discontinua por la presencia de endocrack. Ornamentación escábrida con microespinas como elementos supratectales, que aparecen uniformemente distribuidas. Superficie perforada (Figs. 5 y 7).

Las medidas de P y E para cada uno de los taxones, así como la relación P/E y el número de aberturas aparecen indicados en la Tabla 1.

DISCUSIÓN

Los resultados obtenidos en el presente trabajo revelan que el subgénero *Batrachium* es un grupo estenopolínico. Sin embargo, el género *Ranunculus*



Figuras 1-7. Fig. 1, *R. peltatus* subsp. *peltatus*: contorno en visión ecuatorial (escala=10 µm). Fig. 2, *R. peltatus* subsp. *peltatus*: contorno en visión polar (escala=10 µm). Fig. 3, *R. tripartitus*: contorno en visión polar (escala=10 µm). Fig. 4, *R. tripartitus*: visión polar monstrando las aberturas (escala=10 µm). Fig. 5, *R. peltatus* subsp. *baudotii*: visión ecuatorial (escala=5 µm). Fig. 6, *R. tripartitus*: visión ecuatorial (escala=5 µm). Fig. 7, *R. trichophyllus*: detalle de la ornamentación (escala=3 µm).

muestra una gran heterogeneidad polínica siendo el sistema apertural el rasgo más variable. Autores anteriores como KUMAZAWA (1936), VISHNU-MITTRE & SHARMA (1963), SANTISUK (1979) y FERNÁNDEZ (1986a) estudiaron a *Ranunculus* de manera amplia poniendo de manifiesto el carácter euripolínico del género. Más recientemente FERNÁNDEZ & al. (1993) y DIOSDADO & al. (1995) observaron diferentes sistemas aperturales, en especies de las secciones *Flammula* y *Chrysanthe* respectivamente.

En el presente trabajo el número de aberturas observadas en el polen es de tres y se mantiene de manera constante, salvo en *R. tripartitus* donde además aparecen granos de polen hexapantocolpados. En este caso, tres aberturas presentan una posición ecuatorial y las otras tres se localizan en uno de los polos y son perpendiculares a las anteriores, este tipo de disposición fue denominado como 3+3 por MELVILLE (1981).

Las poblaciones estudiadas presentan niveles diploides, excepto una de *R. peltatus* subsp. *peltatus* y las pertenecientes a *R. tripartitus* que presentan un nivel tetraploide (DIOSDADO & al., 1993).

Si se comparan los datos palinológicos con los cariológicos, se puede ver como en los taxones diploides los granos de polen encontrados son siempre tricolpados. Anteriormente, FERNÁNDEZ (1986a) describió este tipo de sistema

apertural en *R. hederaceus*, especie diploide (PASTOR, 1993) perteneciente al subgénero *Batrachium*. Por el contrario, en *R. tripartitus* donde sólo se conocen niveles poliploides, el sistema apertural es variable. Recientemente FERNÁNDEZ & al. (1993) y DIOSDADO & al. (1995), han relacionado la complejidad del sistema apertural en *Ranunuculus* con la poliploidía, observando un aumento del número de aberturas cuando el nivel de ploidía es mayor. De acuerdo con estos autores, el aumento de aberturas que aparece en *R. tripartitus* puede deberse a su poliploidía. Del mismo modo, *R. trichophyllus* fue incluido por FERNÁNDEZ (1986a) en un tipo polínico que se caracteriza por presentar tanto polen tricolpado como hexacolpado en porcentajes variables según las poblaciones, lo que probablemente sea debido a que se estudiaran muestras poliploides, ya que en las poblaciones diploides del presente trabajo sólo se han encontrado granos de polen tricolpados.

Otra característica presente en el polen de los taxones estudiados es el aumento de grosor de la exina en zonas polares. Este fenómeno fue observado anteriormente por SANTISUK (1979) y FERNÁNDEZ (1986a, b) en los géneros *Adonis* y *Delphinium* y por FERNÁNDEZ & al. (1993) en *R. batrachioides*. Según SANTISUK (l.c.) en *Adonis* el aumento de grosor de la exina en los polos favorece la función harmomegata de la pared del polen y es un fenómeno que habría aparecido como respuesta a la adaptación a ambientes áridos. Sin embargo, las observaciones realizadas en los taxones pertenecientes al subgénero *Batrachium*, los cuales habitan en ambientes con un alto grado de humedad, no corroboran esta hipótesis.

Los taxones del subgénero *Batrachium* han sido relacionados, desde el punto de vista cariológico y morfológico, con las secciones *Flammula* y *Hecatonia* del subgénero *Ranunculus* (COOK, 1963; GOEPFERT, 1974; DIOSDADO & PASTOR, 1991, 1996; DIOSDADO & al., 1993). Palinológicamente es difícil establecer una relación clara con algún grupo concreto de *Ranunculus*, ya que preferentemente presentan un polen tricolpado que es el sistema apertural más frecuente en el género. Sin embargo, la gran similitud morfologica observada entre el polen de *R. batrachioides*, incluido en la sección *Flammula*, (FERNÁNDEZ & al., 1993) y *R. sceleratus*, perteneciente a la sección *Hecatonia* (FERNÁNDEZ, 1986a) podrian reforzar esta posible relación.

Así pues, *Batrachium* presenta afinidades inciertas con el resto del género y se puede considerar o bien como un grupo monofilético que surge de algún ancestro desconocido de *Ranunculus*, o bien como un conjunto de taxones que convergen en los mismos caracteres al estar adaptados a la vida acuática. De hecho la homogeneidad de los ranúnculos acuáticos no se manifiesta sólo en el aspecto polínico sino también en los caracteres cariológicos y morfológicos, sobre todo a nivel de las estructuras reproductivas como flores y aquenios, por lo que constituyen un grupo natural bien delimitado.

APÉNDICE

Ranunculus ololeucos Lloyd. ESPAÑA: SEVILLA, entre El Pedroso y Castilblanco de los Arroyos, 27.IV.1990, *Diosdado & García Esteban* (SEV 128705); entre Villanueva del Río y Minas y El Sardinero, 25.IV.1990, *Diosdado & García Esteban* (SEV 128707). PORTUGAL: MINHO, entre Pesegueira do Vouga y Cedrim do Vouga, 30.V.1990, *Díaz Lifante, Juan & Valdés* (SEV 128706).

Ranunculus peltatus Schrank subsp. *baudotii* (Godron) C. D. K. Cook. ESPAÑA: CÁDIZ, Laguna de la Paja, 22.IV.1990, *Diosdado* (SEV 128719); HUELVA, Abalario, 19.IV.1990, *Diosdado, García Esteban & Vioque* (SEV 128721); SEVILLA, entre El Cuervo y Las Cabezas de San Juan, 20.IV.1990, *Diosdado* (SEV 128718); Venta del Cruce, 19.IV. 1990, *Diosdado, García Esteban & Vioque* (SEV 128720).

Ranunculus peltatus Schrank subsp. *fucoides* (Freyn) Muñoz Garmendia. ESPAÑA: SEVILLA, Venta del Cruce, 19.IV.1990, *Diosdado, García Esteban & Vioque* (SEV 128717).

Ranunculus peltatus Schrank subsp. *peltatus*. ESPAÑA: AVILA, Barco de Avila, 26.VI.1987, *Díez, Diosdado & Pastor* (SEV 128723); HUELVA, Laguna de la Mujer, 19.IV.1990, *Diosdado, García Esteban & Vioque* (SEV 128726); entre Aroche y Las Contiendas, 23.V.1989, *Diosdado* (SEV 128725); ZAMORA, Cerezal de Aliste, 27.IV.1988, *Diosdado & Vioque* (SEV 128724).

Ranunculus peltatus Schrank subsp. *saniculifolius* (Viv.) C. D. K. Cook. ESPAÑA: HUELVA, entre Santa Olalla de Cala y Almadén de la Plata, 17.V.1990, *Diosdado & García Esteban* (SEV 128727); entre Valdeflores y El Castillo de las Guardas, 23.V.1989, *Diosdado* (SEV 128730); SEVILLA, entre Las Navas y San Nicolás del Puerto, 25.IV.1990, *Diosdado & García Esteban* (SEV 128729).

Ranunculus penicillatus (Dumort.) Bab. ESPAÑA: ASTURIAS, Pola de Laviana, 29.VI.1987, *Díez, Diosdado & Pastor* (SEV 128712); LEÓN, Puente de Almahey, 28.VI.1987, *Díez, Diosdado & Pastor* (SEV 128714); SALAMANCA, entre Béjar y Cristobal de la Sierra, 2.VII. 1987, *Díez, Diosdado & Pastor* (SEV 128716); SEVILLA, entre Constantina y Las Navas, 25.IV.1990, *Diosdado & García Esteban* (SEV 128711).

Ranunculus trichophyllus Chaix. ESPAÑA: SEVILLA, Las Navas, 25.IV.1990, *Diosdado & García Esteban* (SEV 128710); entre Gerena y El Garrobo, 17.V.1990, *Diosdado & García Esteban* (SEV 128708); entre Almadén de la Plata y El Ronquillo, 17.V.1990, *Diosdado & García Esteban* (SEV 128709).

Ranunculus tripartitus DC. ESPAÑA: HUELVA, Santa Olalla de Cala, 17.V.1990, *Diosdado & García Esteban* (SEV 138831); LEÓN, Puerto de San Isidro, 30.VI.1987, *Díez, Diosdado & Pastor* (SEV 128703).

BIBLIOGRAFÍA

COOK, C. D. K. (1963) Studies on Ranunculus L. subgenus Batrachium (DC.) A. Gray, II. General morphological consideration in the taxonomy of the subgenus. *Watsonia* **5**: 294-303.

— (1966) A monographic study of Ranunculus subgenus Batrachium (DC.) A. Gray. *Mitt. Bot. Staatssammul München* **6**: 47-237.

—— (1986) Ranunculus L. subgénero Batrachium (DC.) A. Gray. In S. CASTROVIEJO & al. (eds.) *Flora Ibérica* **1**: 285-298.

—— (1993). Ranunculus L. subgenus Batrachium (DC.) A. Gray. In T. G. TUTIN & al. (eds.) *Flora Europaea* **1 (2ª ed.)**: 285-286.

DE CANDOLLE, A. P. (1817) *Regni vegetabilis systema naturale 1*. Paris.

DIOSDADO, J. C. & J. PASTOR (1991) Estudio citotaxonómico del género Ranunculus L. sect. Flammula (Webb ex Spach) Freyn en la Península Ibérica. *Candollea* **46**: 303-313.

—— & J. PASTOR (1996) Consideraciones citotaxonómicas del género Ranunculus L. (Ranunculaceae) en la Península Ibérica. *Anales Jard. Bot. Madrid* **54**: 166-178.

——, J. PASTOR & B. VALDÉS (1993) Contribution to the karyological study of the genus Ranunculus L. subgenus Batrachium (DC.) A. Gray from the Iberian Peninsula. *Bot. J. Linn. Soc.* **112**: 75-87.

——, I. FERNÁNDEZ & J. PASTOR (1995) Morfología polínica de Ranunculus L. sect. Chrysanthe (Spach) L. Benson en la Península Ibérica. *Candollea* **50**: 15-24.

ERDTMAN, G. (1960) The acetolysis method. *Svenk. Bot. Tidskr.* **54**: 561-564.

FERNÁNDEZ, I. (1986a) Contribución al conocimiento palinológico de la familia Ranunculaceae en Andalucía. II. Subfam. Ranunculoideae. *Candollea* **41**: 75-85.

—— (1986b) Contribución al conocimiento palinológico de la familia Ranunculaceae en Andalucía. I. Subf. Helleboroideae. *Lagascalia* **14**: 13-23.

——, J. C. DIOSDADO & J. PASTOR (1993) Morfología polínica de Ranunculus L. sect. Flammula (Webb ex Spach) Freyn en la Península Ibérica. *Candollea* **48**: 321-329.

GOEPFERT, D. (1974) Karyotypes and DNA content in species of Ranunculus L. and related genera. *Bot. Not.* **127**: 464-489.

GRAY, A. (1886) Contribution to American botany. A revision of the North American Ranunculi. *Proceed. Americ. Arts. Sci.* **21**: 363-370.

GRAY, S. F. (1821) *A natural arrangement of British plants, 2*: 720. London.

KUMAZAWA, M. (1936) Pollen grain morphology in Ranunculaceae, Lardizabalaceae and Berberidaceae. *Jap. J. Bot.* **8**: 19-47.

MELVILLE, R. (1981) Surface tension, diffusion and the evolution and morphogenesis of pollen aperture patterns. *Pollen & Spores* **23**: 179-203.

PASTOR, J. (Ed.) (1993) *Atlas cromosómico de la Flora vascular de Andalucía Occidental*. Secretariado de Publicaciones. Universidad de Sevilla. Sevilla.

PETRO, S. & O. BORISSOVA-IVANOVA (1981) Palynomophological characteristics of the Bulgarian representatives of the family Ranunculaceae Juss. VI. Ranunculus L. (sect. Echinella DC., sect. Ranunculastrum DC., sect. Auricomus Spach., sect. Hecatonia (Lour.) DC., sect. Ficari (Schaeffer) Boiss., sect. Leucoranunculus Boiss., sect. Aconitifolii Tutin, sect Flammula Webb., sect. Micranthus (Ovcz.) A. Nyarady, subgen. Batrachium (DC.) A. Gray). *Bulgarian Acad. Sci. Phytology* **16**: 3-40.

PUNT, W., S. BLACKMORE, S. NILSSON & A. LE THOMAS (1994) *Glossary of pollen and spores terminology*. LPP Foundation. Utrecht.

SANTISUK, T. (1979) A palynological study of the tribe Ranunculeae (Ranunculaceae). *Opera Bot.* **48**: 1-79.

VALDÉS, B. (1987) Ranunculus L. In B. VALDÉS & al. (eds.) *Flora Vascular de Andalucía Occidental* **1**: 97-114.

VELAYOS, M. (1988) Acotaciones a Ranunculus L. Subgénero Batrachium (DC.) A. Gray: tratamiento taxonómico general y estudio de la variabilidad de R. peltatus. *Anales Jard. Bot. Madrid* **45**: 103-119.

VISHNU-MITTRE & B. D. SHARMA (1963) Studies of Indian pollen grains. II. Ranunculaceae. *Pollen & Spores* **5**: 258-296.

WODEHOUSE, R. P. (1936) Pollen grains in the identification and classification of plants. VII. The Ranunculaceae. *Bull. Torrey Bot. Club* **63**: 495-514.