

Morfología del polen de *Heliconia* spp. (Heliconiaceae) de México y su relación interespecífica e intraespecífica

Simitrio Ortiz-Curiel¹, Guillermo López-Guillén¹, Carlos-Hugo Avendaño-Arrazate¹
& Misael Martínez-Bolaños¹

1. Instituto Nacional de Investigaciones Forestales Agrícolas y Pecuarias, Campo Experimental Rosario Izapa, Carretera Tapachula-Cacahoatán km 18, Tuxtla Chico, Chiapas, México; ortiz.simitrio@inifap.gob.mx, lopez.guillermo@inifap.gob.mx, avendano.carlos@inifap.gob.mx, martinez.misael@inifap.gob.mx

Recibido 28-II-2020. Corregido 03-V-2020. Aceptado 22-VI-2020.

ABSTRACT. Pollen morphology of *Heliconia* spp. (Heliconiaceae) from Mexico and its interspecific and intraspecific relationship. **Introduction:** Knowledge about palynology in the *Heliconia* genus basically concerns species from Central and South America, while studies of species in the Mexican Neotropic are limited. **Objective:** To contribute to the palynological knowledge and understand the morphological interrelation of pollen from the *Heliconia* genus of the Mexican Neotropic, as part of reproductive biology studies that may contribute in future works of genetic improvement. **Methods:** The study was conducted in nine species (12 accessions) of *Heliconia* native to Mexico which are found in the Germplasm Bank of the National Institute of Agricultural and Livestock Forestry Research (INIFAP). Floral pollen was collected in anthesis and stored for 24 h in 2 % glutaraldehyde and 50 % ethanol, then washed in 50 % ethanol and dehydrated in 70, 90 and 100 % alcohol for 30 min. The samples were left to dry at the critical point of the CO₂, mounted in aluminum cylinders covered with double conductive adhesive carbon tape and analyzed with a layer of approximately 20 nm gold-palladium. Samples were observed in MEB model TOPCON, SM-510. **Results:** Pollen measures, 50.22 µm to 70.56 µm, is heteropolar and has an euoblate, suboblate or oblate-spheroidal shape. Distal and proximal faces presented different degrees of convexity; both with micro-echinate or micro-verrucate ornamentation. Morphological characteristics, pollen shape, shape of the proximal and distal faces, as well as ornamentation, showed some homogeneity. However, five groups were formed through the analysis of hierarchical grouping ($R^2 = 0.05$). Group I present some micro-perforations in the tectum, high density of micro-echinates and high convexity of the proximal face. In contrast to Group I, Group II has their distal face convex with half density of micro-echinates and a plane-subconvex proximal face. Group III is represented by *H. latispatha* and group IV is represented by *H. librata*, both groups have small pollen (for the present study). Although, *H. latispatha* has a verrucae distal face and a plane proximal face, germinating pore that is distinctively protruding, and *H. librata* has verrucae in both faces. In group V, *H. collinsiana* has a distinctively protruding germinating pore and a “corrugated circle-shaped” in the proximal face. Among varieties, *H. collinsiana* is 10 µm higher than *H. collinsiana* var. *velutina* in its equatorial plane. **Conclusions:** Heterogeneity of characteristics allowed pollen groups to be generated; whilst relatively homogeneous characteristics allowed for recognition of species and varieties within the groups. The morphology of the *Heliconia* species in Mexico confirms the previously described characteristics; however, additional features such as the presence of micropores and the corrugated circle-shaped in the proximal face stand out.

Key words: palynology; *Heliconia*; endemic; diversity; neotropical.

Ortiz-Curiel, S., López-Guillén, G., Avendaño-Arrazate, C.H., & Martínez-Bolaños, M. (2020). Morfología del polen de *Heliconia* spp. (Heliconiaceae) de México y su relación interespecífica e intraespecífica. *Revista de Biología Tropical*, 68(3), 933-946.

El género *Heliconia* L. (Heliconiaceae) está integrado por un grupo de aproximadamente 220 especies (Kress, Betancur, & Echeverry, 1999), las cuales crecen de manera natural desde el norte de México hasta el sur de Brasil incluyendo las islas del Caribe (Berry & Kress, 1991) e islas en la región de Indonesia en el Océano Pacífico (Kress, 1990). México posee al menos 14 especies nativas las cuales habitan en selvas y bosques (Ferreira de Castro, May, & Gonçalves, 2007), en suelos ácidos a alcalinos y desde los 36 hasta los 1 700 msnm (Ortiz-Curiel et al., 2015). Entre las especies nativas existen endémicas como *H. uxpanapensis* Gutiérrez Báez (Gutiérrez-Báez, 1987) y *H. veracruzensis* Gutiérrez Báez (Gutiérrez-Báez, Avendaño-Reyes, & Zamora-Crescencio, 2016).

La similitud morfológica que muchas especies del género *Heliconia* comparten en su fase juvenil y lo contrastante que son en la etapa reproductiva por las formas raras y colores de su inflorescencia, son motivo de atención de coleccionistas, viveristas y ambientalistas. En el aspecto científico, la biología y sus distintas disciplinas se han enfocado a conocer la diversidad genética (Sheela, Geetha-Lekshmi, Jayachandran-Nair, & Rajmohan, 2006), su genética poblacional (Suárez-Montes, Fornoni, & Nunez-Farfán, 2011), su biología reproductiva (Bruna, Kress, Marques, & Da Silva, 2004) y estudios de interacción con sus polinizadores (Betts, Hadley, & Kress, 2015). De manera complementaria, disciplinas como la palinología han contribuido en aspectos de ontogenia y filogenia (Kress & Stone, 1982, 1983) de sistemática y (Kress, 1990) y taxonomía (Kress & Stone 1983).

Kress & Stone (1983), en su estudio palinológico de 27 especies de *Heliconia* que tienen como origen zonas de Centroamérica y Sudamérica, encontraron que el polen es heteropolar, subsopolar o isopolar y que la variación que existe en su morfología esporófito (con inflorescencia erecta versus inflorescencia colgante) no siempre es en la misma magnitud en su morfología polínica, ya que en ambos tipos de inflorescencias el polen puede ser isopolar o

subsopolar o con forma euoblato a suboblato. Pese a lo anterior, los mismos autores indicaron que a nivel intraespecífico, la forma y la longitud del eje ecuatorial de los granos de polen son consistentes y que dichas características, además de la ornamentación de la exina, permiten clasificar variedades de *Heliconia*.

Respecto a los morfismos que describieron Kress (1990) en las especies de *Heliconia* del Pacífico (endémicas), el polen es de forma oblato-esferoidal únicamente y su ornamentación es ligeramente verrugada o psilada, tanto en especies con inflorescencia colgante o erecta. Mientras que Simão, Scatena, & Bouman (2007) en una especie de Brasil, encontraron variaciones morfológicas en la vista ecuatorial del polen. Por lo anterior, la diversidad morfológica del polen obedece a la diversidad genética pero algunos morfismos del polen son propios de ciertas zonas geográficas.

A pesar de que los estudios palinológicos en el género *Heliconia* se iniciaron desde hace aproximadamente cuatro décadas, las especies estudiadas representan apenas el 17 %, y de éste, en un porcentaje menor se han estudiado las características de la exina. Aunado a esto, se han omitido a las especies que habitan de manera natural en el Neotrópico mexicano, incluyendo sus especies endémicas. En este sentido, es necesario continuar con estudios de palinología en este género, con la finalidad de conocer la morfología y con ello contribuir al conocimiento palinológico. Además, el comparativo palinológico entre especies y variedades puede mostrar aquellas características relacionadas con la autoincompatibilidad, barrera fisiológica presente en este género.

MATERIALES Y MÉTODOS

Material biológico: Se estudió el polen de nueve especies de *Heliconia* (12 accesiones) que están resguardadas en el Banco de Germoplasma de Heliconias del Campo Experimental Rosario Izapa del Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias (INIFAP). El origen, hábitat y características de las accesiones se presentan en la Tabla 1.

TABLA 1

Accesiones de *Heliconia* spp. con origen de distintas localidades de México y establecidas en el Banco de Germoplasma de Heliconias del Campo Experimental Rosario Izapa del INIFAP

TABLE 1

Accessions of *Heliconia* spp. originating from different locations in Mexico and established in the Heliconias Germplasm Bank of the Rosario Izapa Experimental Field of INIFAP

Especie	Código de la accesión	Color de inflorescencia	Status	Tipo de inflorescencia	Localidad	Altitud (m)	N	W
<i>H. adflexa</i> (Griggs) Standl.	Adf-03	Rojo	Silvestre	Erecta	Villa Corzo, Chiapas	1 700	16°8'	93°35'
<i>H. bourgaeana</i> Petersen	Bou-08	Rojo	Silvestre	Erecta	Tezonapa, Veracruz	635	18°38'	96°46'
<i>H. champneiana</i> Griggs	Cha-07	Rojo-variegado	Silvestre fomentada	Erecta	Palenque, Chiapas	309	17°23'	91°59'
<i>H. collinsiana</i> var. <i>collinsiana</i>	Col-27	Rojo	Silvestre	Pendular	Tuxtla Chico, Chiapas	402	14°57'	92°09'
<i>H. collinsiana</i> var. <i>velutina</i>	Col-01	Rojo	Silvestre	Pendular	Villa corzo, Chiapas	1 264	16°13'	93°35'
<i>H. latispatha</i> Benth	Lat-04	Amarillo	Silvestre	Erecta	Acapetahua, Chiapas	36	15°16'	92°42'
<i>H. librata</i> Griggs	Lib-13	Amarillo	Silvestre	Erecta	Uxpanapa, Veracruz	74	17°17'	94°35'
<i>H. spissa</i> Griggs	Spi-15	Rojo	Silvestre	Erecta	Ocosingo, Chiapas	1 193	16°58'	92°06'
<i>H. uxpanapensis</i> Gutiérrez Báez	Uxp-10	Rojo	Silvestre (Endémica)	Erecta	Uxpanapa, Veracruz	101	17°15'	94°22'
	Uxp-12	Anaranjado	Silvestre (Endémica)	Erecta	Uxpanapa, Veracruz	73	17°15'	94°23'
	Uxp-11	Rojo-variegado	Silvestre (Endémica)	Erecta	Uxpanapa, Veracruz	82	17°15'	94°22'
<i>H. vaginalis</i> Benth. subsp. <i>Mathiasiae</i> (G. S. Daniels & F. G. Stiles) L. Anders.	Vag-18	Rojo	Silvestre	Erecta	Palenque, Chiapas	309	17°23'	91°39'

Procesamiento de muestras para Microscopía Electrónica de Barrido (MEB):

Flores abiertas se colectaron entre las seis y siete de la mañana y en laboratorio se extrajeron los granos de polen por medio de un alfiler y se depositaron en microtubos de 1.5 ml. El polen de tres a cinco anteras procedentes de flores de entre una y tres plantas se mezcló para formar una muestra. Las muestras se fijaron durante 24 h en solución de glutaraldehído al 2 % y etanol al 50 % (debido a que el polen de este género no tolera la técnica de acetólisis tradicional), posteriormente se lavaron por 5 min en etanol al 50 % y se trasvasaron a bolsitas

de papel. En seguida, los granos de polen se deshidrataron en alcohol al 70, 90 y 100 % por 30 minutos en cada una de las concentraciones (Márquez-Guzmán, Wong, Pérez, López, & Munguía, 2016). Las muestras se secaron por punto crítico con CO₂ en un secador SUPPLIES modelo SPI-DRY CPD y se montaron en bases de cilindros de aluminio cubiertas con cinta de carbón conductivo doble adhesiva. Posteriormente las muestras con granos de polen se cubrieron con una capa de oro-paladio (Au-Pd) de aproximadamente 20 nm por medio un cobertor iónico Denton Vacuum modelo Desk II. Finalmente, los granos de polen

se observaron en un microscopio electrónico de barrido marca TOPCON SM-510 operando a 8 Kv de aceleración.

Morfometría polínica: Se tomaron electromicrografías de los granos de polen en el plano polar distal, polar proximal y ecuatorial, así como de la ornamentación de la exina y en ellas se tomaron medidas del plano polar y ecuatorial de al menos 25 granos de polen de cada accesión con el programa de cómputo libre de Collins (2007). También se registraron características particulares del téctum (presencia de microporos y la densidad de microespinas o verrugas por μm^2) y particularidades de la cara proximal. Las características morfológicas de los granos de polen como la polaridad, la forma y la ornamentación de la exina se identificaron con base a Sáenz (2004) y Halbritter et al. (2018). Las variables se interpretaron mediante el análisis de agrupamiento jerárquico (AAJ). Para el AAJ se usó el paquete estadístico SAS (2012) versión 9.3 y el algoritmo por agrupamiento jerárquico con una distancia euclidiana de 0.05 para generar un dendrograma.

RESULTADOS

El polen de las especies de *Heliconia* se considera grande, con dimensiones de 50.2 a 70.6 μm ; tiene una cara distal que es subconvexa, subconvexa-subconca, convexa-truncada o convexa y se complementa con una cara proximal plana, plana-subconca, subconca, subconvexa-subconca o convexa, razón por la cual es heteropolar (Fig. 1A, 1E, 1I; Fig. 2A, 2E, 2I, Fig. 3A, 3E, 3I y Fig. 4A, 4E, 4I).

Los elementos esculturales de ambas caras, distal y proximal, son microespinas (Fig. 1B, 1C, 1D *H. vaginalis*, 1F, 1G, 1H *H. adflexa*, 1J, 1K, 1L *H. spissa*; Fig. 2F, 2G, 2H *H. bourgaeana*, 2J, 2K, 2L *H. champneiana*; Fig. 3B, 2C, 2D *H. uxpanapensis*-10, 3F, 3G, 3H *H. uxpanapensis*-12; Fig. 4F, 4G, 4H *H. collinsiana* var. *velutina*, 4J, 4K, 4L *H. collinsiana* var. *collinsiana*) y espinulas menos cónicas con base ancha o redonda por lo que

se consideraron microverrugas (Fig. 2B, 2C, 2D *H. librata*; Fig. 3J, 3K, 3L *H. uxpanapensis*-11 y Fig. 4B, 4C, 4D *H. latispatha*). La cara proximal tiene microespinulas o microverrugas aún de menor tamaño que la cara distal y están presentes en menor cantidad, en consecuencia, la exina en algunas accesiones es psilada.

Las medidas del polen con mayor contraste en su eje ecuatorial (E) fueron 50.22 μm en *H. collinsiana* var. *velutina* y 70.56 μm en *H. vaginalis*; valores que permitieron identificarlos como el más pequeño y más grande respectivamente para las especies de estudio. Respecto al eje polar (P) los valores fueron 28.48 μm en *H. librata* y 48.59 μm en *H. collinsiana*. Esta última variable está determinada por el grado de convexidad de las caras del polen y el tipo de poro germinativo, lo cual influye en la relación P/E. En este sentido, se obtuvo el polen con forma euoblata, suboblata y oblata esferoidal (Tabla 2).

Por otra parte, el agrupamiento jerárquico con un R^2 semiparcial = 0.05 arrojó cinco grupos principales (Fig. 5). El grupo I lo integraron *H. vaginalis*, *H. adflexa* y *H. spissa*. Este grupo se diferencia fácilmente por su exina microequinada y la alta densidad de microespinas por unidad de superficie, asimismo, presentan poros en el téctum (Fig. 1D, 1H, 1L) y tienen la cara proximal altamente convexa (medio círculo). Un segundo grupo lo integraron *H. champneiana*, *H. bourgaeana* y las tres accesiones de *H. uxpanapensis*. Este grupo se identifica porque, de manera inversa al grupo I, el polen tiene la cara distal altamente convexa, mientras que la cara proximal tiende a ser plana o subconvexa, excepto *H. librata* que tiene la cara proximal convexa como las especies del grupo I.

El grupo III lo representa *H. latispatha*; su cara distal presenta microverrugas, la zona del poro germinativo es protudente, además tiene la cara proximal plana subcónica. En el grupo IV *H. librata* se separa porque el polen es de los de menor tamaño, su cara distal es casi plana y en ambas caras la ornamentación la constituyen microverrugas. El grupo V lo integra *H. collinsiana* con sus dos variedades

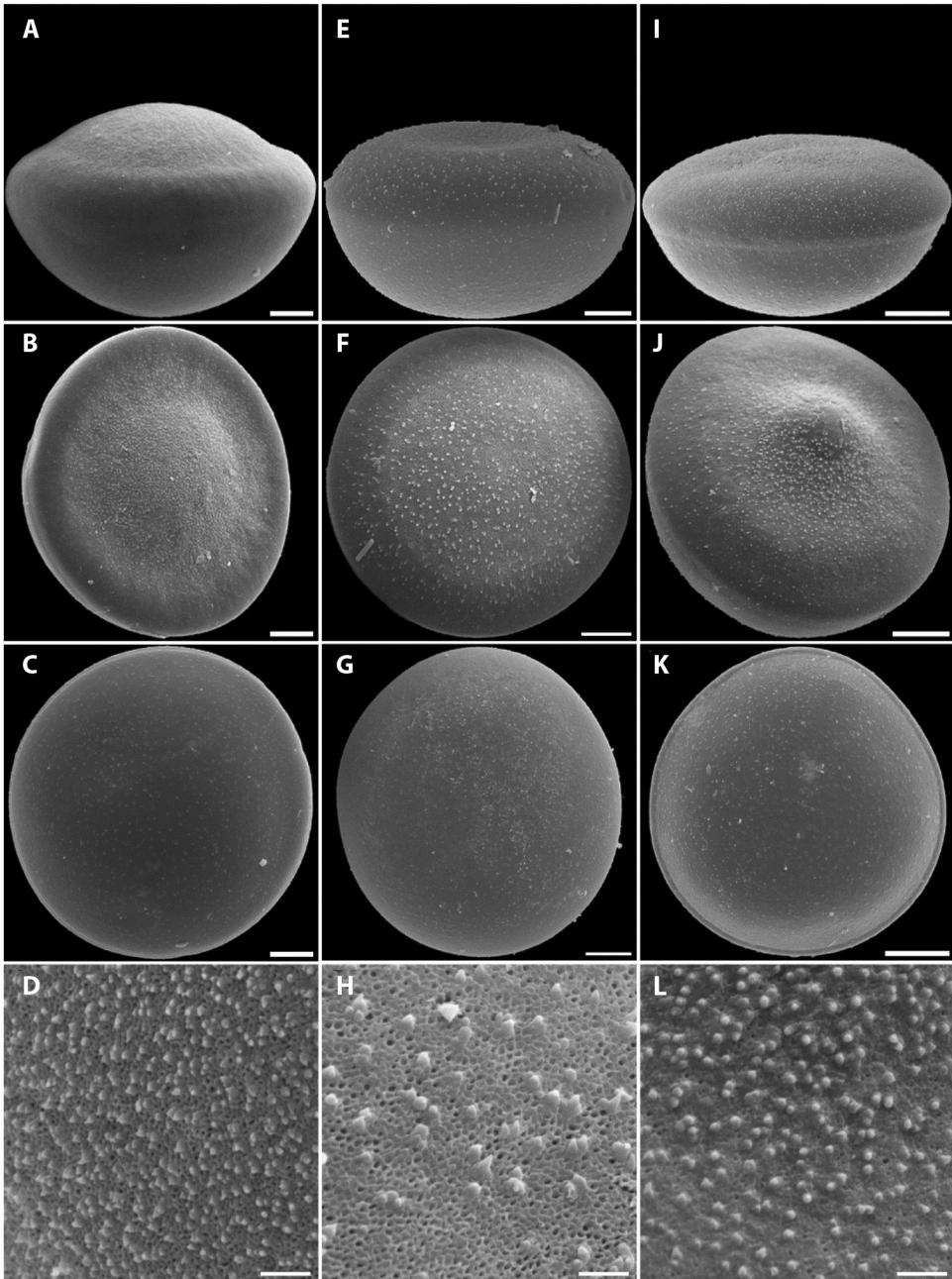


Fig. 1. (A, B, C, D) Vag-18; (E, F, G, H) Adf-03 y (I, J, K, L) Spi-15. (A, E, I) en vista ecuatorial; (B, F, J) cara distal; (C, G, K) cara proximal y (D, H, L) ornamentación de la exina. (A, B, C, E, F, G, I, J, K) Esc = 10 μ m; (D, H, L) Esc = 2 μ m.

Fig. 1. (A, B, C, D) Vag-18; (E, F, G, H) Adf-03 and (I, J, K, L) Spi-15. (A, E, I) equatorial view; (B, F, J) distal face; (C, G, K) proximal face and (D, H, L) sculpturing. (A, B, C, E, F, G, I, J, K) Esc =10 μ m and (D, H, L) Esc = 2 μ m.

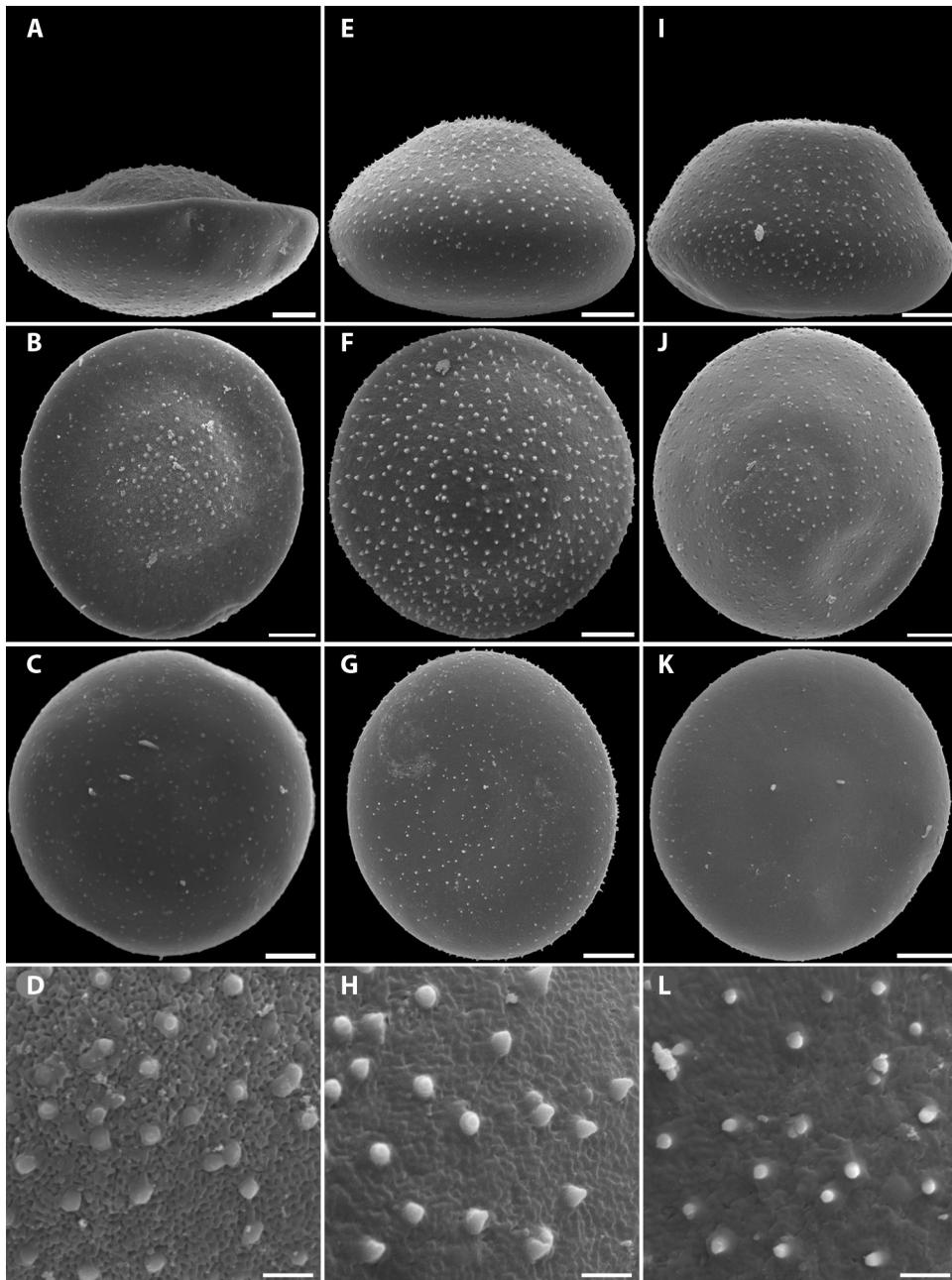


Fig. 2. (A, B, C, D) Lib-13; (E, F, G, H) Bou-08 y (I, J, K, L) Cha-07. (A, E, I) vista ecuatorial; (B, F, J) cara distal; (C, G, K) cara proximal y (D, H, L) ornamentación de la exina. (A, B, C) Esc = 8 μ m; (E, F, G, I, J, K) Esc = 10 μ m y (D, H, L) Esc = 2 μ m.

Fig. 2. (A, B, C, D) Lib-13; (E, F, G, H) Bou-08 and (I, J, K, L) Cha-07. A, E, I equatorial view; (B, F, J) distal face; (C, G, K) proximal face and (D, H, L) sculpturing. (A, B, C) Esc = 8 μ m; (E, F, G, I, J, K) Esc = 10 μ m and (D, H, L) Esc = 2 μ m.

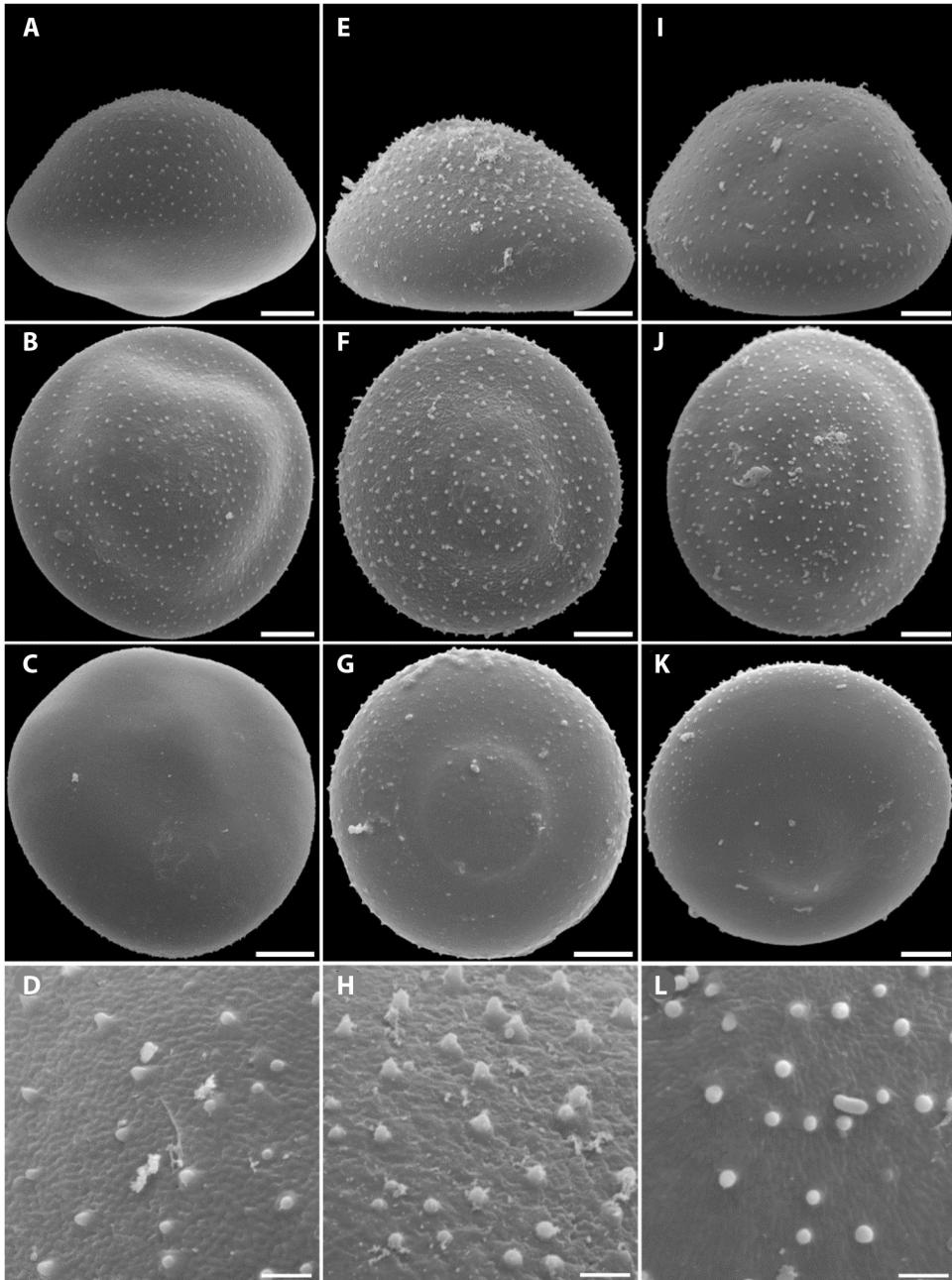


Fig. 3. (A, B, C, D) Uxp-10; (E, F, G, H) Uxp-12 y (I, J, K, L) Uxp-11. A, E, I) vista ecuatorial; (B, F, J) cara distal; (C, G, K) cara proximal y (D, H, L) ornamentación de la exina. (A, B, C, E, F, G, I, J, K) Esc =10 μm y (D, H, L) Esc = 2 μm .
Fig. 3. (A, B, C, D) Uxp-10; (E, F, G, H) Uxp-12 y (I, J, K, L) Uxp-11. A, E, I) equatorial view; (B, F, J) distal face; (C, G, K) proximal face and D, H, L) sculpturing. (A, B, C, E, F, G, I, J, K) Esc =10 μm and (D, H, L) Esc = 2 μm .

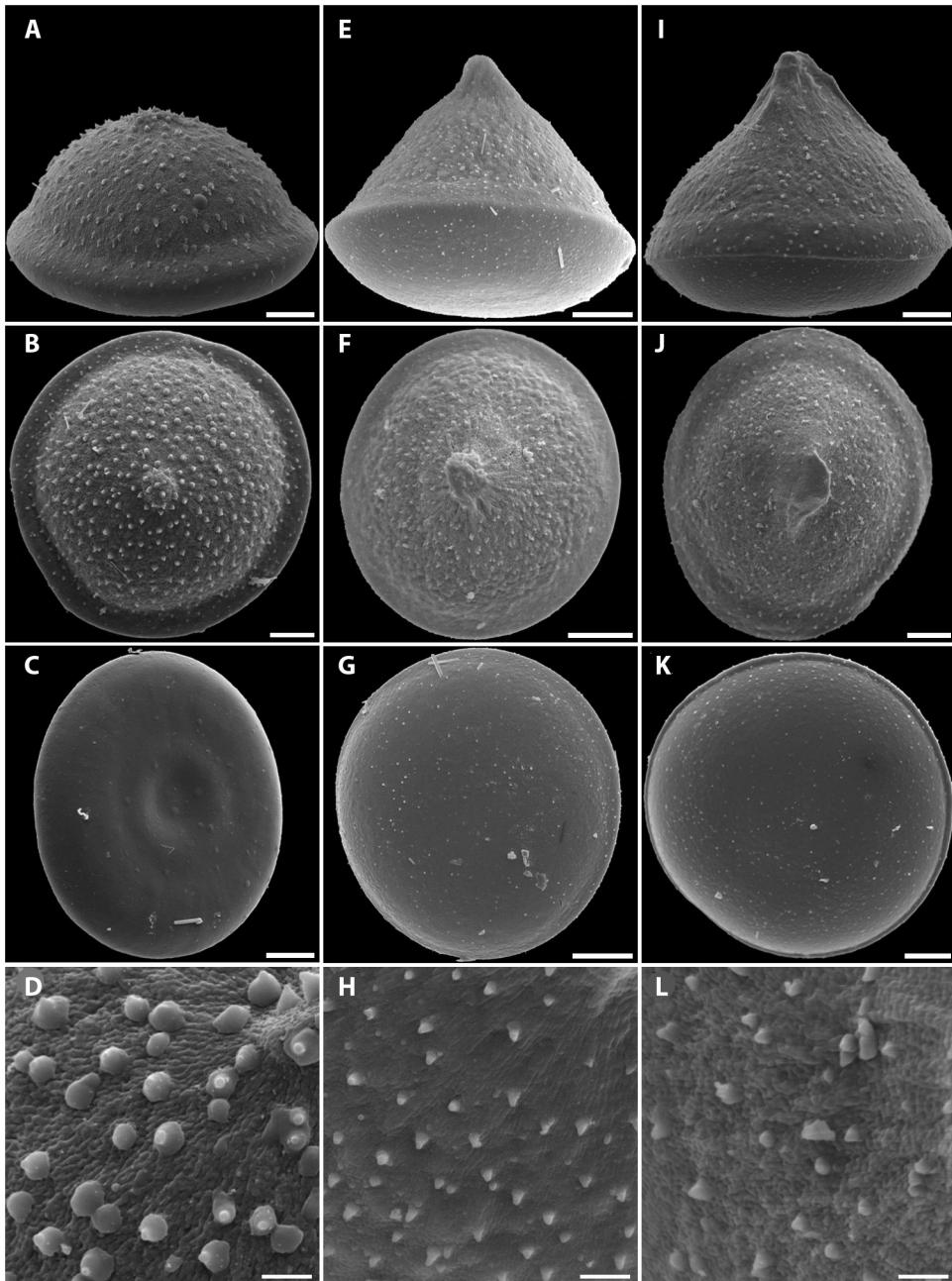


Fig. 4. (A, B, C, D) Lat-04; (E, F, G, H) Col-01 y (I, J, K, L) Col-27. (A, E, I) vista ecuatorial; (B, F, J) cara distal; (C, G, K) cara proximal y (D, H, L) ornamentación de la exina. (A, B, C, E, F, G) Esc = 8 μ m, (I, J, K) Esc = 10 μ m, (D, H, L) Esc = 2 μ m.

Fig. 4. (A, B, C, D) Lat-04; (E, F, G, H) Col-01 y (I, J, K, L) Col-27. (A, E, I) equatorial view; (B, F, J) distal face; (C, G, K) proximal face and (D, H, L) sculpturing. (A, B, C, E, F, G) Esc = 8 μ m; (I, J, K) Esc = 10 μ m and (D, H, L) Esc = 2 μ m.

TABLE 2
Características morfológicas del polen de 12 accesiones de *Heliconia* de México

TABLE 2
Morphological characteristics of the pollen of 12 *Heliconia* accessions from Mexico

Especie	Accesión	E (µm)	P (µm)	P/E	FG	CD	CP	PG	OD	OP	MP	ICVE	DE
<i>H. vaginalis</i> Benth. subsp. <i>Mathiasiae</i> (G. S. Daniels & F. G. Stiles) L. Anders.	Vag-18	70.6±0.6	40.3±1.1	0.57	EuOb	SCv	Cv	Ind	MiEsp	MiEq	si	++	+++
<i>H. adflexa</i> (Griggs) Standl.	Adf-03	66.2±0.7	43.3±2.1	0.65	EuOb	SCvSCc	Cv	Ind	MiEsp	MiEq	si	++	+++
<i>H. spissa</i> Griggs	Spi-15	59.2±0.4	40.3±0.6	0.68	EuOb	SCv	Cv	Ind	MiEsp	MiEq	si	++	+++
<i>H. champneiana</i> Griggs	Cha-07	66.8±0.5	48.5±0.5	0.73	EuOb	CvTr	SCvSCc	Ind	Esp	Ps	no	-	++
<i>H. bourgaeana</i> Petersen	Bou-08	60.3±0.5	38.3±0.8	0.64	EuOb	Cv	SCv	Ind	Esp	MiEq	no	-	++
<i>H. uxpanapensis</i> Gutiérrez Báez	Uxp-10	60.6±0.6	44.2±0.6	0.73	EuOb	Cv	SCv	Ind	Esp	Psilado	no	-	++
	Uxp-12	59.4±0.5	35.4±0.8	0.60	EuOb	Cv	SCvSCc	Ind	Esp	MiEq	no	-	++
	Uxp-11	61.7±0.7	44.8±1.4	0.73	EuOb	Cv	SCvSCc	Ind	Ver	MiEq	no	-	++
<i>H. latispatha</i> Benth	Lat-04	54.2±0.6	33.8±0.9	0.62	EuOb	Cv	PISCc	DistPr	Ver	MiVer	no	-	++
<i>H. librata</i> Griggs	Lib-13	51.6±0.7	28.5±1.3	0.55	EuOb	SCvSCc	Cv	Ind	Ver	Ver	no	-	+
<i>H. collinsiana</i> var. <i>collinsiana</i>	Col-27	58.1±0.5	45.7±0.9	0.79	SubOb	Cv	Cv	DistPr	Esp	MiEq	no	+++	++
<i>H. collinsiana</i> var. <i>velutina</i>	Col-01	50.2±0.4	44.2±2.0	0.88	ObEsf	Cv	Cv	DistPr	Esp	MiEq	no	+++	++

E = Eje ecuatorial, P = Eje polar, FG = Forma general, CD = Cara distal, CP = Cara proximal, PG = Poro germinativo, OD = Ornametación distal, OP = Ornametación proximal, MP = Microporos, ICVE = Intensidad de círculo en vista ecuatorial y, DE = Densidad de espinas. EuOb (EuOb), Suboblat (SubOb), Oblato esferoidal (ObEsf), Convexo (Cv), Convexo truncado (CvTr), Subconvexo (SCv), Subconvexo subcónico (SCvSCc), Plano subcónico (PISCc), Indistinto (Ind), Distinto protudente (DistPr), Mínimamente equinado (MiEq), Verrugoso (Ver), Mínimamente verrugoso (MiVer) y Psilado (Ps).

E = Equatorial axis, P = Polar axis, FG = Shape, CD = Distal face, CP = Proximal face, PG = Germination pore, OD = Distal sculpturing, OP = Proximal sculpturing, MP = Microporate, ICVE = Circle intensity in equatorial view, DE = Density of spines. Euoblate (EuOb), Suboblate (SubOb), Oblate spheroidal (ObEsf), Convex (Cv), Convex truncate (CvTr), Subconvex (SCv), Subconvex- subconave (SCvSCc), Plane subconave (PISCc), Indistinct (Ind), Distinct protrudet (DistPr), Minutely echinate (MiEq), Verrucose (Ver), Minutely verrucose (MiVer) y Psilate (Ps).

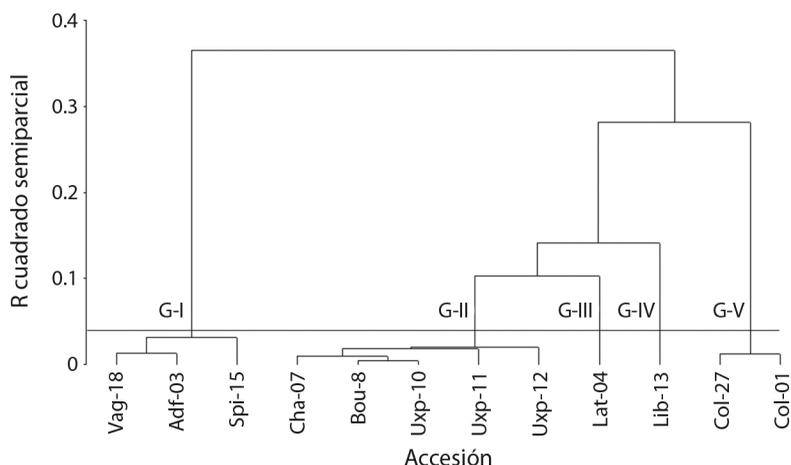


Fig. 5. Dendrograma de 12 accesiones (taxa) de *Heliconia* en función de diez caracteres morfológicas de polen ($R^2 = 0.05$).
Fig. 5. Dendrogram of 12 *Heliconia* accessions (taxa) as a function of ten pollen morphological characters ($R^2 = 0.05$).

que tienen el polen morfológicamente similar, ya que presentan una cara distal altamente convexa y con el poro germinativo protudente. Además, presentan un “círculo acanalado” como un aparente engrosamiento en forma de anillo alrededor de la región ecuatorial.

Referente a la morfometría intraespecífica, las tres accesiones de *H. uxpanapensis* comparten valores similares en el eje ecuatorial, aunque existe mayor variación en la forma general del polen debido a la variada convexidad de sus caras distal y proximal. No obstante, las tres accesiones presentan la cara distal convexa, la diferencia más evidente la presentan Uxp-11 y Uxp-12, las cuales tienen una concavidad en la cara proximal. En la ornamentación, Uxp-11 se diferencia por ser verrugosa en su polo distal, mientras que en el polo proximal de Uxp-10 es psilada (Tabla 2).

Heliconia collinsiana, por su parte, tiene el polen homogéneo en todas las variables a excepción de la longitud del eje ecuatorial, donde la var. *velutina* es casi diez micrómetros menos que el de la var. *collinsiana* (Tabla 2). En función de dicha diferencia la var. *collinsiana*, tiene el polen de forma suboblato-esferoidal, mientras que la var. *velutina* tiene forma oblato-esferoidal, lo que significa que la relación P/E es cercana a 1.0.

DISCUSIÓN

El análisis palinológico de las especies del género *Heliconia* del Neotrópico mexicano, con base en disimilitudes del tipo del poro germinativo, la forma de la cara proximal y distal, mostró que fue posible generar cinco grupos. Por otra parte, con características asociadas a la superficie de la exina fue posible diferenciar especies y variedades dentro de dichos grupos. Resultados similares encontraron Kress & Stone (1983) en su estudio de 27 especies de *Heliconia* donde la polaridad, el tipo de poro germinativo, la forma de las caras distal y proximal, permitieron generar cuatro grandes grupos taxonómicos. Por su parte, Ciciarelli y Rolleri (2008) y Ciciarelli, Passarelli y Rolleri (2010), en *Canna* (Zingiberales), encontraron variación en el tamaño del polen y morfología de las espinas (forma, densidad y su superficie), a pesar que *Canna* es un género con alta homogeneidad en la forma del polen y el tamaño de sus espinas.

Respecto al tamaño, el polen es grande con base en la clasificación de Sáenz (2004), y los 50.2 μm de *H. collinsiana* var. *velutina* a 70.6 μm de *H. vaginalis* tienen relativa coincidencia con el rango 52 μm a 91.3 μm que reportaron Kress y Stone (1983) en *Heliconia*. Asimismo, las especies del presente estudio se limitaron a

solo polen heteropolar, en contraste con polen heteropolar a isopolar que reportaron Kress y Stone (1982, 1983) y Simão et al. (2007) en especies de Centroamérica y Sudamérica, respectivamente.

La forma convexa de la cara proximal, la alta densidad de microespinas y la presencia de microporos en el tectum agruparon a *H. vaginalis*, *H. adflexa* y *H. spissa* en el grupo I. La alta convexidad en forma de “medio círculo” de la cara proximal de las especies de este grupo, así como de *H. librata* (Grupo VI), presentan cierta similitud con otras especies como *H. talamancana* y *H. maculata* (Kress & Stone 1983), así como con *H. papuana* y *H. laufao* (Kress 1990) de polen esferoidal.

La presencia de microporos en el tectum solamente la reportaron en *H. angusta* (Buchner & Halbritter, 2010), *H. psittacorum* y *H. brasiliensis* (Passarelli, Dedominici, & Rolletti, 2016). Lo anterior obedece a que, aunque existen trabajos palinológicos sobre *Heliconia*, no hay reportes frecuentes de esta característica, por tanto, son limitadas las especies que la presentan. Es este sentido, con el presente trabajo se amplía el conocimiento sobre el polen de *Heliconia*, pero, sobre todo, en especies de una zona geográfica que se ha estudiado mínimamente.

El agrupamiento de especies con microporos en el tectum podría indicar alta autoincompatibilidad como lo afirmaron Stone, Sellers y Kress (1979). Los poros de la exina son reservorio de proteínas que intervienen en el proceso de incompatibilidad durante la polinización y la germinación del polen, y esto podría ser congruente con la autoincompatibilidad que se reportaron en especies de *Heliconia* (Kress, 1983; Meléndez, Rojas, & Planas, 2008). Sin embargo, es necesario corroborar este supuesto con estudios complementarios a fin de demostrar la supuesta autoincompatibilidad de estas especies si se plantea involucrarlas en trabajos de autopolinización.

Respecto al grupo II, *H. bourgaeana* y *H. champneiana* son especies que presentan similitudes morfológicas difíciles de separar en su fase esporófito (Andersson, 1981), mientras

que *H. uxpanapensis* presenta altas similitudes en la inflorescencia con *H. champneiana* (Avendaño et al., 2017), aun cuando *H. uxpanapensis* es endémica. El agrupamiento de estas tres especies muestra que existe cierta interrelación; sin embargo, trabajos más particulares a nivel de exina e intina podrían dilucidar la filogenia entre estas tres especies que cohabitan en la zona del Neotrópico mexicano.

La ornamentación verrugosa de las caras distal y proximal de *H. librata* (grupo IV) la hace diferente a las especies estudiadas. Escasas especies reportadas presentan esta característica; no obstante, Simão et al. (2007), en su estudio sobre el polen de *H. subulata* subsp. *gracilis* (Petersen) L. Andersson y *H. velloziana* Emygdio, reportaron imágenes del polen con ornamentación de la exina verrugosa, pero la forma es diferente al de *H. librata*.

Respecto a *H. collinsiana*, por su poro germinativo distinto-protudente representa el grupo V. Las dos variedades de *H. collinsiana* del presente estudio coinciden con las descripciones de las mismas variedades que reportaron Kress y Stone (1983). Sin embargo, el “círculo acanalado” de la vista ecuatorial es un rasgo distintivo de las variedades de *H. collinsiana* de México, rasgo similar al de *Heliconia solomonensis* Kress, *Heliconia lanata* (P. Grees) Kress, endémicas del Pacífico (Kress 1990), y a *H. angusta* Vell (Simão et al., 2007).

Con base en las variables estudiadas, podemos sugerir que el polen de las especies del presente estudio tiene coincidencias con dos de cuatro grupos taxonómicos que Kress y Stone (1983) propusieron para las especies de Centro y Sudamérica. Así, los grupos de poro germinativo distintivo protudente corresponden al grupo *nutans* mientras que los de polen con poro germinativo indistinto *trichocarpha*. Cabe mencionar que cada especie mostró particularidades que permiten distinguirlas a nivel de especie y variedad como en *H. collinsiana*.

Los datos morfológicos de Heliconiaceae (monotípica) del presente estudio, así como los que reportaron Kress (1990), Simão et al. (2007), Buchner y Halbritter (2010) y Passarelli et al. (2016), muestran cierta homogeneidad

de caracteres. Por lo tanto, se puede sugerir que esta familia presenta indicios de polen estenopolínico, con énfasis en algunos grupos detectados, por ejemplo, el grupo de especies de la Fig. 1 (Vag-18, Adf-03 y Spi-15) y Fig. 2 (Cha-07, Bou-08, Uxp-10, Uxp-11 y Uxp-12). Sin embargo, aunque se forman grupos polínicos con cierta homogeneidad, es parcial si se les compara a las familias estenopolínicas Gramineae (Perveen, 2006); Malvaceae, Grewioideae (Mambrín, Avanza, & Ferrucci, 2010) y Chenopodiaceae (Perveen & Qaiser, 2012) las cuales presentan características altamente homogéneas en todos sus grupos. Más estudios en Heliconiaceae podrían reafirmar la homogeneidad en los grupos polínicos, puesto que las especies hasta ahora estudiadas representan aproximadamente el 23 % de las especies reportadas.

Por otra parte, referente a la morfología intraespecífica, considerando un R^2 semiparcial = 0.05, la variación que se observó en *H. uxpapnaphesis* fue en distintas variables y en diferente magnitud. Esta situación la reportaron Kress y Stone (1983) y Tekşen, Aytacı y Pinar (2010), en *Fritillaria L.* (Liliaceae). Caso contrario a lo que se observó en *H. collinsiana*, donde la var. *velutina* se diferenció de la var. *collinsiana* únicamente por la longitud de su eje ecuatorial, al menos para las variables que aquí se estudiaron. Sin embargo, esta característica es altamente consistente y es mínimamente afectada por factores ambientales, debido a que los 50.2 μm de *H. collinsiana* var. *velutina* versus 52 μm que reportaron Kress y Stone (1983) demuestra que en longitud ambas son altamente similares. La similitud del polen entre estas dos variedades permite ver que, aunque no son el mismo genotipo puede asegurarse que son la misma variedad botánica debido a que ambas tienen como origen la Sierra Madre Occidental en la vertiente del Pacífico, zona que comparten Guatemala y Chiapas, México. Esto concuerda con lo que encontraron Ciacirelli, Passarelli, & Rolleri (2010) en *Canna*, al reportar que la longitud del eje ecuatorial es una variable consistente que permite inclusive diferenciar a las variedades dentro de especies.

La variación intraespecífica a nivel de ornamentación la han reportado también en otros géneros, por ejemplo, en *Quercus* (Panahi, Pourmajidian, Fallah, & Pourhashemi, 2012) y en *Fritillaria L.* (Liliaceae; Tekşen et al., 2010).

Declaración de ética: los autores declaran que todos están de acuerdo con esta publicación y que han hecho aportes que justifican su autoría; que no hay conflicto de interés de ningún tipo; y que han cumplido con todos los requisitos y procedimientos éticos y legales pertinentes. Todas las fuentes de financiamiento se detallan plena y claramente en la sección de agradecimientos. El respectivo documento legal firmado se encuentra en los archivos de la revista.

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen al Instituto Nacional de Investigaciones Forestales Agrícolas y Pecuarias por el financiamiento del presente estudio mediante el proyecto No. 1711533202. A María Guadalupe Nieto López por la orientación en la preparación del material biológico previo a la acetólisis.

RESUMEN

Introducción: El conocimiento palinológico en *Heliconia*, es básicamente sobre especies de Centroamérica y Sudamérica, mientras que en especies del Neotrópico mexicano los estudios son limitados. **Objetivo:** Contribuir al conocimiento palinológico y conocer la interrelación morfológica del polen del género *Heliconia* del Neotrópico mexicano, como parte de los estudios de biología reproductiva que puedan contribuir en futuros trabajos de mejoramiento genético. **Métodos:** El estudio se realizó en nueve especies (12 accesiones) de *Heliconia* nativas de México y que se encuentran establecidas en el Banco de Germoplasma del Instituto Nacional de Investigaciones Forestales Agrícolas y Pecuarias (INIFAP). Se recolectó polen de flores en antesis y se conservó durante 24 h en glutaraldehído al 2 % y etanol al 50 %, en seguida se lavó en etanol al 50 % y deshidrató en alcohol al 70, 90 y 100 % por 30 min c/u. Las muestras se secaron por punto crítico con CO_2 , se montaron en bases de cilindros de aluminio cubiertas con cinta de carbón conductivo doble adhesiva y, se analizaron con una capa de aproximadamente 20 nm de oro-paladio. Las muestras se observaron en MEB modelo

TOPCON, SM-510. **Resultados:** El polen mide de 50.22 a 70.56 μm , es heteropolar y es de forma euoblato, suboblato u oblato-esferoidal. Las caras distal y proximal presentan diferentes grados de convexidad; ambas con ornamentación microequinada o microverrugosa. Las características morfológicas, forma del polen, forma de las caras proximal y distal, así como la ornamentación, muestran cierta homogeneidad. Sin embargo, mediante el análisis de agrupamiento jerárquico ($R^2 = 0.05$) se formaron cinco grupos. El grupo I presenta microperforaciones en el tectum, alta densidad de microespinas y alta convexidad de la cara proximal; el grupo II, contrario al grupo I, tienen la cara distal convexa con densidad de microespinas media y la cara proximal plana a subconvexa. El grupo III lo representa *H. latispatha* y el grupo IV *H. librata*, los dos grupos son de polen pequeño (para el presente estudio). Aunque *H. latispatha* tiene cara distal con verrugas, la cara proximal plana y poro germinativo distinto-protudente, *H. librata* tiene verrugas en ambas caras. En el grupo V se agrupa *H. collinsiana*, la cual tiene poro germinativo distinto-protudente y una forma de "círculo acanalado" en la cara proximal. Entre variedades, *H. collinsiana* var. *collinsiana* es 10 μm superior a *H. collinsiana* var. *velutina* en su eje ecuatorial. **Conclusiones:** La heterogeneidad de caracteres permitió generar grupos polínicos mientras que las características relativamente homogéneas permitieron reconocer especies y variedades dentro de los grupos. La morfología de las especies de *Heliconia* de México se ajusta a los caracteres previamente descritos; sin embargo, resaltan características adicionales como la presencia de microporos y la forma de "círculo acanalado" en la cara proximal.

Palabras clave: palinología; *Heliconia*; endémica; diversidad; neotropical.

REFERENCIAS

- Andersson, L. (1981). Revision of *Heliconia* sect. *Heliconia* (Musaceae). *Nordic Journal of Botany*, 1, 759-786.
- Avendaño-Arrazate, C.H., Arrazate-Argueta, J.A., Ortiz-Curiel, S., Moreno-Pérez, E., Iracheta-Donjuan, L., Cortés-Cruz, M. (2017). Morphological Characterization in Wild Species of Heliconias (*Heliconia* spp) in Mexico. *American Journal of Plant Sciences*, 8, 1210-1223.
- Berry, F., & Kress, W.J. (1991). *Heliconia: An Identification Guide*. Smithsonian Institution Press, Washington, D.C.
- Betts, M.G., Hadley, A.S., & Kress, W.J. (2015). Pollinator recognition by a keystone tropical plant. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 112, 3433-3438.
- Bruna, E.M., Kress, W.J., Marques, F., & da Silva, O.F. (2004). *Heliconia acuminata* reproductive success is independent of local floral density. *Acta Amazonica*, 34, 467-471.
- Buchner, R., & Halbritter, H. (2010). *Heliconia angusta*. In R. Buchner & M. Weber (Eds.), *PalDat-A palynological database. Descriptions, illustrations, identification, and information retrieval*. PalDat - A palynological database. Retrieved from https://www.paldat.org/pub/Heliconia_angusta/103303
- Ciciarelli, M.M., & Rollerli, C.H. (2008). Morfología, taxonomía y caracterización de siete especies Neotropicales del género (*Canna* (Cannaceae, Zingiberales). *Botanica Complutensis*, 32, 157-184.
- Ciciarelli, M.M., Passarelli, L.M., & Rollerli, C.H. (2010). Morfología del polen en especies de *Canna* (Cannaceae) y su implicancia sistemática. *Biología Tropical*, 58, 63-79.
- Collins, T.J. (2007). ImageJ for microscopy. *BioTechniques*, 43, 25-30.
- Ferreira de Castro, C.E., May, A., & Gonçalves, C. (2007). Atualização da nomenclatura de espécies do gênero *Heliconia* (Heliconiaceae). Artigo de revisão. *Revista Brasileira de Horticultura Ornamental*, 13, 38-62.
- Gutiérrez-Báez, C. (1987). Notas del herbario Xal. VIII. Una nueva especie de *Heliconia* (Heliconiaceae) de México. *Biotica*, 12, 149-152.
- Gutiérrez-Báez, C., Avendaño-Reyes, S., & Zamora-Crescencio, P. (2016). *Heliconia veracruzensis*, nueva especie de Veracruz, México. *Bouteloua*, 25, 101-103.
- Halbritter, H., Ulrich, S., Grímsson, F., Weber, M., Zetter, R., Hesse, M., ... Frosch-Radivo, A. (2018). *Illustrated Pollen Terminology* (2nd Ed.). Cham, Switzerland: Springer International Publishing AG.
- Kress, W.J. (1983). Self-incompatibility systems in Central American *Heliconia*. *Evolution*, 37, 735-744.
- Kress, W.J. (1990). Taxonomy of Old World *Heliconia* (Heliconiaceae). *Allertonia*, 6, 1-58.
- Kress, W.J., Betancur, J., & Echeverry, B. (1999). *Heliconias-Llamaradas de la Selva Colombiana*. Bogotá, Colombia: Cristina Uribe Editores.
- Kress, W.J., & Stone, D.E. (1982). Nature of the sporoderm in monocotyledons, with special reference to the pollen grains of *Canna* and *Heliconia*. *Grana*, 21, 129-148.
- Kress, W.J., & Stone, D.E. (1983). Morphology and phylogenetic significance of exine-less pollen of *Heliconia* (Heliconiaceae). *Systematic Botany*, 8, 149-167.
- Mambrín, M.V., Avanza, M.M., & Ferrucci, M.S. (2010). Análisis morfológico y morfométrico del polen de *Corchorus*, *Heliocarpus*, *Luehea*, *Mollia* y *Triumfetta*

- (Malvaceae, Grewioideae) en la región austral de América del Sur. *Darwiniana*, 48, 45-58.
- Márquez-Guzmán, J., Wong, R., Pérez, M., López, L., & Munguía, G. (2016). Técnicas de laboratorio para el estudio del desarrollo en angiospermas. Ciudad de México, México: Universidad Autónoma de México.
- Meléndez, A.E., Rojas, S.J., & Planas, S. (2008). Self-compatibility of microgametophytes in *Heliconia bihai* (Heliconiaceae) from St. Lucia. *Caribbean Journal of Science*, 44, 145-149.
- Ortiz-Curiel, S., Avendaño-Arrazate, C.H., Olivera de los Santos, A., Grajales-Solis, M., Canul-Ku, J., Cortés-Cruz, M., & Iracheta-Donjuan, L. (2015). *Heliconia L.*: Género subutilizado en México. *Agroproductividad*, 8, 51-59.
- Panahi, P., Pourmajidian, M.R., Fallah, A., & Pourhashemi, M. (2012). Pollen morphology of *Quercus* (subgenus *Quercus*, section *Quercus*) in Iran and its systematic implication. *Acta Societatis Botanicorum Poloniae*, 81, 33-41.
- Passarelli, L.M., Dedominici, A.C., & Rolleri, C.H. (2016). Polen de Zingiberales de humedales rioplatenses y selvas subtropicales del NE de la Argentina. *Botanica Complutensis*, 40, 147-160.
- Perveen, A. (2006). A contribution to the pollen morphology of family Gramineae. *World Applied Sciences Journal*, 1, 60-65.
- Perveen, A., & Qaiser, M. (2012). Pollen flora of Pakistan-LXX: Chenopodiaceae. *Pakistan Journal of Botany*, 44, 1325-1333.
- Sáenz, L.C. (2004). Glosario de términos palinológicos. *Lazaroa*, 25, 93-112.
- SAS Institute Inc. (2012). *SAS® Deployment Wizard and SAS® Deployment Manager 9.3: User's Guide*. Cary, NC.
- Sheela, V.L., Geetha-Lekshmi, P.R., Jayachandran-Nair, C.S., & Rajmohan, K. (2006). Molecular characterization of *Heliconia* by RAPD assay. *Journal of Tropical Agriculture*, 44, 37-41.
- Simão, D.G., Scatena, V.L., & Bouman, F. (2007). Anther development, microsporogenesis and microgametogenesis in *Heliconia* (Heliconiaceae, Zingiberales). *Flora*, 202, 148-160.
- Stone, D.E., Sellers, S.C., & Kress, W.J. (1979). Ontogeny of exineless pollen in *Heliconia*, a banana relative. *Annals of the Missouri Botanical Garden*, 66, 701-730.
- Suárez-Montes, P., Fornoni, J., & Nunez-Farfán, J. (2011). Conservation genetics of the endemic mexican *Heliconia uxpanapensis* in the los tuxtlas tropical rain forest. *Biotropica*, 43, 114-121.
- Tekşen, M., Aytaç, Z., & Pinar, N.M. (2010). Pollen morphology of the genus *Fritillaria L.* (Liliaceae) in Turkey. *Turkish Journal of Botany*, 34, 397-416.