



UNIVERSITAT DE BARCELONA

**Contribució al coneixement de la biologia de la reproducció en  
el gènere *Delphinium* L. (*Ranunculaceae*)**

Tesina presentada per na Maria Bosch  
i Daniel per a l'obtenció del Grau de  
Llicenciatura en Farmàcia.

Dirigida pel Dr. Cèsar Blanché i  
Vergés, Professor Titular de Botànica,  
del Departament de Productes  
Naturals, Biologia vegetal Sanitària i  
Edafologia, de la Facultat de  
Farmàcia de la Universitat de  
Barcelona.

Barcelona, febrer de 1993.

BIBLIOTECA DE LA UNIVERSITAT DE BARCELONA



0701739764

## ÍNDIX

AGRAÏMENTS .....	1
PRESENTACIÓ .....	3
1. INTRODUCCIÓ .....	5
1.1. Antecedents històrics .....	6
1.1.1. Breu història de la biologia de la reproducció .....	6
1.1.2. Evolució dels coneixements sobre biologia de la reproducció en <i>Delphinium</i> .....	9
1.2. Pla de treball .....	11
1.2.1. Objectius i metodologia .....	11
1.2.2. Descripció de les poblacions estudiades .....	14
2. MORFOLOGIA FLORAL .....	20
2.1. La flor .....	21
2.1.1. Estructura i morfologia .....	21
2.1.2. El color .....	26
2.2. La inflorescència .....	27
2.3. L'estigma .....	29
2.3.1. Introducció .....	29
2.3.2. Material i mètodes .....	30
2.3.3. Resultats i discussió .....	31
2.4. L'índex P/O .....	35
2.4.1. Introducció .....	35
2.4.2. Material i mètodes .....	36
2.4.2.1. Material .....	36
2.4.2.2. Metodologia .....	37
2.4.3. Resultats i discussió .....	38
2.5. Estudi de la fertilitat del pol·len .....	41
2.5.1. Introducció .....	41
2.5.2. Material i mètodes .....	41
2.5.2.1. Material .....	41
2.5.2.2. Metodologia .....	41
2.5.3. Resultats i discussió .....	42
3. GERMINACIÓ I CREIXEMENT .....	44
3.1. Introducció .....	45
3.2. Material i mètodes .....	46
3.2.1. Material .....	46
3.2.2. Metodologia .....	47
3.3. Resultats .....	50
3.3.1. Germinació en placa de petri .....	50
3.3.2. Germinació a l'hivernacle .....	50
3.4. Discussió .....	56

4. SISTEMES DE REPRODUCCIÓ .....	60
4.1. Introducció .....	61
4.2. Material i mètodes .....	62
4.2.1. Material .....	62
4.2.2. Metodologia .....	64
4.2.2.1. Descripció dels diversos tractaments .....	66
4.3. Resultats .....	70
4.3.1. Producció de granes en els diversos tractaments .....	70
4.3.2. Germinació de les granes produïdes en els tractaments .....	78
4.4. Discussió .....	88
4.4.1. Producció de granes .....	88
4.4.2. Germinació .....	91
4.4.2.1. Percentatges de germinació .....	91
4.4.2.2. Germinació i desenvolupament .....	92
5. BIOLOGIA DE LA POL.LINITZACIÓ .....	95
5.1. Introducció .....	96
5.1.1. Els insectes antòfils .....	97
5.1.2. La pol.linització en <i>Delphinium</i> .....	102
5.2. Material i mètodes .....	103
5.2.1. Material .....	103
5.2.2. Metodologia .....	107
5.3. Resultats .....	108
5.4. Discussió .....	117
5.4.1. Comportament dels antòfils .....	117
6. ESTUDIS CITOGENÈTICS .....	127
6.1. Introducció .....	128
6.2. Material i mètodes .....	129
6.2.1. Material .....	129
6.2.2. Metodologia .....	130
6.3. Resultats .....	135
6.4. Discussió .....	146
6.4.1. Estudi de les mitosis .....	146
6.4.2. Estudi de les meiosis .....	151
7. CONCLUSIONS .....	152
8. BIBLIOGRAFIA .....	158

## AGRAÏMENTS

En el moment de concloure la fase de redacció d'aquesta Memòria, crec que no seria just deixar de regraciar un seguit de persones que, o bé, m'han ajudat directament en les tasques de recerca o, simplement, amb el seu suport i interès pel meu treball, han fet possible dur a bon terme la finalització de la tesina.

Primerament el meu director, el Dr. Cèsar Blanché i Vergés, el qual ja em va iniciar a segon de carrera en aquest apassionant món que és la Botànica. Li voldria agrair sincerament la seva il·lusió, paciència, confiança i suport humà que m'ha demostrat en tot moment, així com els consells i orientacions que han fet possible tirar endavant aquest treball. També m'agradaria mostrar la meva gratitud a ell i al Dr. Julià Molero, catedràtic del Departament i investigador principal del projecte "Estudios biosistemáticos en *Delphineae* (*Ranunculaceae*) de la región mediterránea-occidental" (DGICYT PB/91-268), en el qual s'enmarca i, de fet, forma part aquesta Memòria, per tots els mitjans que han posat al meu abast i per acceptar-me a formar part del seu equip de treball.

En segon lloc i, d'una manera molt especial, voldria agrair tot l'ajut rebut, sobretot per les qüestions informàtiques, bibliogràfiques, de redacció o de disseny, entre moltes altres, d'un bon amic que sempre m'ha animat i m'ha fet costat en els moments més difícils, amb qui he compartit molt bones estones i de qui he après molt, el ja Doctor Joan Simon.

Tampoc no em voldria pas oblidar d'en Pep Vicens, amic i company de fatigues i del curset de macrofotografia, sempre disposat a escoltar-te, a animar-te o a ajudar-te pacientment a resoldre els petits (i a vegades no tant petits) problemes quotidians. Li desitjo molta sort en la seva tesi.

En Dr. Jordi Bosch i en Narcís Vicens, companys entomòlegs del Departament d'Invertebrats de la Facultat de Biologia de la Universitat de Barcelona, que molt amablement i de forma desinteressada, han dedicat part del seu temps a determinar-nos els insectes capturats en les poblacions de *Delphinium*, i per tota la bibliografia que han posat al nostre abast sobre el tema. També agrair-los-hi, junt amb la Dra. Marina de Blas, l'esforç de posar-se en contacte amb els especialistes Dra. M<sup>a</sup> Ángeles Marcos, Dr. Leopoldo Castro, en Jordi Casamitjana, Dra. Marta Goula i al Dr. Xavier Vázquez que ens han determinat els grups d'insectes més conflictius.

En Jesús Márquez, per la seva pacient i gentil col·laboració tècnica en la identificació de les càrregues de pol·len dels insectes capturats. A ell, i a la Dra. Maruxa Suárez, pels consells metodològics sobre algunes qüestions palinològiques.

En Jeroni Jaume Orell, el Sr. Jeroni Orell i a la seva família per la seva calorosa acollida i l'ajut totalment desinteressat durant el treball de camp a Mallorca. Al Museu Balear de Ciències Naturals de Sóller per la donació de granes de *D. pictum*. En Joan Pedrol, que



molt amablement ens va indicar la localitat de *D. bolosii* de La Noguera. Els responsables del camp "Cel de Rubió", per l'acolliment i bon tracte que en tot moment ens donaren en totes les nostres visites de la població de La Noguera.

Al Dr. Ramon Fontarnau, la Dra. Carme Carulla i, en general, a l'equip del Servei de Microscòpia Electrònica de la Universitat de Barcelona, pels consells i atencions que m'han dispensat.

A la Pilar Fernández, per ajudar-me en diverses tasques com fer fotocòpies, revelar fotos, o a remenar testos a l'hivernacle, però li agraeixo, sobretot, les seves paraules d'ànim quan em veia abatuda.

Voldria també expressar el meu agraïment a la resta de components de la Unitat de Botànica que, d'alguna manera, m'han encoratjat o s'han interessat per la meva tasca durant aquest any que ha durat el treball: el Dr. Joan Vallès i el Dr. Carles Benedí, que m'han aclarit algunes precisions lingüístiques o bibliogràfiques, el Dr. Juan Antonio Seoane Camba, la Dra. M<sup>a</sup> Antònia Ribera, la Dra. Amelia Gómez, la Dra. M<sup>a</sup> Carme Barceló, la Dra. Anna Rovira, la Dra. Mariona Hernández, el Dr. Joan Martín, el Dr. Joan Echegaray, en Jordi Rull, la M<sup>a</sup> Angels Bonet, Ester Ferré, na Modesta Gil, l'Àngel Molina, l'Elisabet Ballester, la Trini Sánchez, en Vidal Merino, en Joan Garcia, en Manolo Fernández, en Jesús Méndez i en David Porta.

L'Albert Masó, pels cursets de Macrofotografia, pels seus consells fotogràfics i sobre qüestions relacionades amb la captura i conservació dels insectes. A en Pep Martín i l'Elisenda Pons, per les seves aportacions fotogràfiques. Adjunto un llistat no ordenat d'amics i gent propera (assumint el risc d'oblidar algú) que m'han animat durant aquest temps: Mireia Pagès, Mar Grasa, Eva Castellanos, Montse Sellés, Laura Farró, Pere Guiró, Rosi Ferrando, Sergi Fernández, Maria Gisbert, Oriol Martí, Anna Sala, Pilar Daniel, M<sup>a</sup> Angels Franch, Béla, Marta Farreras, Meritxell Meroño, Marta Grau, Ricard Porta.

A la meva mare, que sempre m'ha fet costat, m'ha encoratjat i m'ha intentat donar un cop de mà dins de les seves possibilitats. Ella i els meus germans Lluís, Anna i Quim em van fer molta companyia durant les sortides al camp i sempre s'han mostrat comprensius per la meva feina. Finalment, en Patxi Frias, que malgrat la tesina ens ha pres temps i ens ha allunyat una mica, sempre, en el fons, l'he tingut aprop. Li haig d'agrair, entre d'altres coses, tot l'ajut que hem va proporcionar durant el treball de camp a Artesa de Segre.

El contingut d'aquesta Memòria correspon, parcialment, al projecte de recerca "Estudis biosistemàtics en *Delphineae* (*Ranunculaceae*)", subvencionat amb una Beca del Pla de Formació d'Investigadors de la Generalitat de Catalunya.

A tothom, moltes gràcies.

## PRESENTACIÓ

La tribu *Delphineae* Warming consta de quatre gèneres: *Aconitum* L., *Delphinium* L., *Consolida* (DC.) S. F. Gray i *Aconitella* Spach, que engloben un total d'unes 750 espècies de distribució, fonamentalment, per zones temperades de l'hemisferi nord.

Es tracta d'un grup d'espècies de gran interès aplicat en diversos camps, com ara la fitoquímica (contenen alcaloides diterpènics d'estructura complexa), la toxicologia (neurotoxicitat dels alcaloides a nivell dels canals de sodi, provocant importants problemes de caire econòmic en la ramaderia), la farmacologia (són agents citotòxics amb activitat antimitòtica) i en horticultura ornamental (cf. BENN & JACYNO, 1983; PELLETIER & PAGE, 1986; BLANCHÉ & ROMO, 1990).

A la regió Mediterrània Occidental, entesa des dels Alps fins a Algèria, s'hi troben representades unes 30 espècies (cf. TUTIN *et al.*, 1964; MAIRE, 1964), amb un grau d'endemicitat a la regió de més d'un 70 %. Si acceptem la serralada de l'Himalaia com a possible centre primari de diversitat de la tribu, hem de reconèixer a les nostres espècies una posició occidental extrema en el continent eurasiàtic.

L'elevat percentatge d'endemisme i l'efecte d'extrem d'àrea fan pensar que s'han pogut produir fenòmens d'especiació i d'evolució particular que són objecte d'estudi del projecte subvencionat per la DGICYT PB. 91 / 268, sota la direcció i coordinació del catedràtic Dr. Julià Molero. Els tres àmbits de recerca són, fonamentalment, la citogenètica, l'electroforesi d'isoenzims i la biologia de la reproducció, com a eines bàsiques per elucidar les possibles vies de diferenciació de la tribu en aquesta regió de la Mediterrània Occidental.

La nostra Memòria s'emmarca en el tercer d'aquests àmbits i és específicament destinada al gènere *Delphinium* L., sobre el qual es disposa de certa experiència (BLANCHÉ & MOLERO, 1986; BLANCHÉ *et al.*, 1987; BLANCHÉ *et al.*, 1988; BLANCHÉ *et al.*, 1990; BLANCHÉ, 1990; BLANCHÉ, 1991). Es tracta d'una contribució a l'estudi de la biologia de la reproducció de tres espècies representatives dels tres grans grups de *Delphinium* representats al nostre territori: *D. bolosii* Blanché & Molero (perennes, subgen. *Olygophyllum* Dimitrova), *D. pictum* Willd. (anuals o biennals, subgen. *Staphisagria* (DC.) Peterm.) i *D. verdunense* Balb. (anuals, subgen. *Delphinium*). De totes tres espècies es desconeix pràcticament tot sobre la biologia reproductiva, tot i que, teòricament, se li assigna un paper de primer ordre, tant en l'evolució del grup com en el pes taxonòmic.

Els fenòmens de neotènia en *D. nudicaule* Torr. et Gray (GUERRANT, 1982) i el seu paper en la selecció de pol.linitzadors, l'èxit reproductiu en funció de la mida de les inflorescències (PLEASANTS & ZIMMERMAN, 1990), la pròpia configuració genètica de les poblacions (WASER, 1987), o la sorprenent autogàmia en *Consolida teheranica* (Boiss.) Hong (HONG DE-YUAN, 1986), són alguns dels pocs exemples disponibles de la molt valuada informació biosistemàtica que conté l'estudi de la pol.linització i dels sistemes de reproducció en el nostre estudi.

Amb aquest interès, doncs, hem abordat l'estudi de les tres espècies a títol clarament preliminar. A part dels treballs de l'equip de Palinologia del nostre Laboratori i les experiències de BONET (1991) en una brolla mediterrània, són comptadíssims els treballs relatius a biologia de la reproducció al nostre país. Això ens fa partir d'una situació en què l'aprenentatge de les tècniques d'encreuament, del treball de camp amb els pol.linitzadors, etc., juga encara un paper molt important en la nostra recerca. Aquesta realitat, juntament amb l'òptica amb que es planteja el projecte de l'equip de treball, volgudament de supervisió preliminar d'un nombre d'espècies notable, abans de centrar els esforços en una sola espècie en profunditat, fan que el nostre treball s'hagi de considerar una primera aproximació.

Per descomptat, alguns dels resultats obtinguts en aquesta Memòria, obren noves perspectives d'estudi en futures recerques. Esmentem, a tall d'exemple, la possibilitat d'aprofundir en l'estudi de l'autogàmia en plantes que tradicionalment han estat considerades altament adaptades a la pol.linització per insectes (MÜLLER, 1883), o un millor coneixement de les relacions mutualistes del vectors pol.linitzadors d'aquests tàxons i en d'altres filogenèticament afins. A la vegada, una major experiència en els aspectes metodològics (es tracta d'estudis poc desenvolupats en el nostre país) permetrà, en futures investigacions, assolir pautes de treball més acurades i precises.

## **1. INTRODUCCIÓ**

## 1.1. ANTECEDENTS HISTÒRICS

### 1.1.1. BREU HISTÒRIA DE LA BIOLOGIA DE LA REPRODUCCIÓ

Les primeres dades que hom disposa sobre el coneixement de la biologia de la reproducció i la pol.linització, provenen d'un relleu assiri que data del 1500 a.C., on es representa la palmera datilera (*Phoenix dactylifera* L.) pol.linitzada per éssers sobrenaturals. Els agricultors, que esdevingueren sacerdots, havien incorporat aquest culte a la religió. Pol.linitzaven manualment les flors de la palmera per a l'obtenció de dàtils, tot practicant un ritual ple de símbols de fecunditat (ROBERTS, 1929). Un fenomen semblant té lloc en la cultura romana, amb la pol.linització de la figuera (*Ficus carica* L.).

En l'època clàssica grega, Aristòtil (s.IV a.C.) en l'obra "Història dels animals", fou el primer en dur a terme una aproximació etològica als insectes pol.linitzadors, referint-se al comportament recol.lector de nèctar i pol.len per part de les abelles. Més tard, Teofrast (s.IV-III a.C.) aporta les primeres idees sobre la sexualitat de les plantes i discerneix entre flors masculines i femenines. Dioscòrides (s.I d.C.) diferencia els sexes en algunes plantes, com per exemple les falgueres: *Dryopteris filix-mas* (L.) Schott i *Athyrium filix femina* (L.) Roth (FAEGRI & PUL, 1979).

Durant l'edat mitjana, una època obscura i de gran repressió, on la cultura es refugiava en els monestirs, aquests temes quedaren força estancats. Serà a partir del s. XVII que tindrà lloc un important progrés en el coneixement del funcionament floral. Nehemiah Grew descriu, en la seva obra "Anatomy of Plants" (GREW, 1682), la importància dels estams i del pistil en els processos sexuals que conduiran a la formació de la grana. També apunta la funció del pol.len com a recurs alimentari de molts insectes. Rudolph Jacob Camerarius (1665-1721) porta a terme diverses experiències de pol.linització en diverses plantes com ara *Ricinus comunis* L. o *Mercurialis* L., entre d'altres. En l'obra "De sexu plantarum" (CAMERARIUS, 1694) reconeix la sexualitat de les plantes i la funció de cada part de la flor. Descriu per primera vegada el concepte d'hermafroditisme. Richard Bradley fou el primer en experimentar amb flors hermafrodites del gènere *Tulipa* L. (BRADLEY, 1717). Arthur Dobbs confirma les teories d'Aristòtil sobre la constància de les visites de les abelles (DOBBS, 1750). Va descriure la pol.linització creuada. J.G. Gleditsch (1749), un altre pioner en aquest camp, realitza experiències de pol.linització amb l'espècie *Chamaerops humilis* L.

Karl von LINNÉ (1735), considerat el pare de la botànica moderna, estableix un sistema de classificació de les plantes basant-se en els seus òrgans sexuals, és a dir, les flors. Això implica un profund coneixement d'aquestes estructures reproductives.



Un important avanç en el coneixement de la biologia floral ve de la mà de Joseph Gottlieb Kölreuter (1733-1806). És el primer botànic en dur a terme experiències d'hibridació a gran escala amb propòsits científics, provant definitivament la natura sexual del pistil i de l'antera. Estudia la morfologia del gra de pol·len i la seva funció en la pol·linització. Reconeix l'autogàmia, l'anemofília (pol·linització pel vent) i l'entomofília (pol·linització per insectes). Aprofundeix en alguns aspectes poc coneguts fins aleshores com el paper del nèctar a la flor, la diferència d'aquest amb la mel, la dicogàmia, o la funció de certs moviments florals (KÖLREUTER, 1761).

Christian Konrad Sprengel (1750-1816), junt amb l'autor esmentat en l'anterior paràgraf, es poden considerar els pares de la biologia floral. No es van arribar a conèixer, però estudiaren aspectes molt semblants. SPRENGEL (1793) realitzà un estudi sistemàtic de les relacions entre les flors i els insectes, en prop d'unes 500 espècies. Contribuí a l'estudi de l'anemofília i entomofília, obligada en algunes espècies, i va aprofundir en la dicogàmia. Estudià aspectes adaptatius com ara la protecció del nèctar, guies de nèctar, formes de la corol·la, etc., que ell considerava "inventions of nature", és a dir, mostres de la bellesa de la creació, sense cap raonament científic. Aquestes idees difereixen de les que manifestarà Darwin, que ho atribueix als efectes de la selecció natural.

Thomas Andrew KNIGHT (1799) va postular el que es coneix com a "lleï de Knight-Darwin" segons la qual totes les plantes presenten reproducció creuada. És una lleï equivocada perquè ell només va treballar amb plantes al·lògames i va extrapolar els resultats.

Charles Robert Darwin amb la publicació de l'obra "On the origin of species..." (DARWIN, 1859), en la qual desenvolupa la teoria de la selecció natural, va marcar una nova etapa en l'estudi de la biologia de la reproducció. Va realitzar estudis detallats sobre els mecanismes d'adaptació i evolució flor-insecte i la significació de la pol·linització creuada envers l'autopol·linització, i els seus efectes. També portà a terme alguns treballs sobre la fecundació en orquídies (DARWIN, 1862, 1876, 1877). Es tracta d'una aportació amb un fort contingut d'elements filosòfics.

La influència de les idees darwinianes estimularen la investigació de les relacions entre plantes i insectes. Alguns autors com HILDEBRAND (1867) o DELPINO (1868) es varen dedicar a classificar les adaptacions florals. Herman MÜLLER (1883) va escriure un catàleg on es descrivia la morfologia i funcionament floral de moltes espècies centroeuropees, es relacionaven els insectes visitants i llurs mecanismes de pol·linització. Paul Knuth dugué a terme una tasca de recopilació de tota la informació existent fins el moment sobre aquests temes (KNUTH, 1895-1905). Va descriure, per primera vegada, casos de pol·linització per ocells i, fins i tot, per rat-penats, en plantes no europees.

A principis de segle es produeix un període d'estancament d'aquests estudis, degut en gran part a que l'activitat dels taxònoms es centrava més en la morfologia i estructura de les flors i no en el seu funcionament.

La recerca en aquest camp es reprèn a meitats del segle XX. Alguns autors com PIJL (1961, 1972), FAEGRI & PIJL (1979), BAKER & HURD (1968) defineixen el concepte de síndrome: relació entre l'estructura floral i el pol.linitzador. S'estableix un sistema de classificació de les flors segons el grup zoològic que les pol.linitza. També cal destacar els treballs de PROCTOR & YEO (1973) sobre pol.linització entomòfila.

A la dècada dels 70 comencen a prendre importància els estudis de biologia floral i pol.linització als ecosistemes tropicals (JANZEN, 1971; BAKER, 1973; etc.). També s'inicien estudis sobre biologia floral comparada en diverses famílies com *Polemoniaceae* (GRANT & GRANT, 1965), *Bignoniaceae* (GENTRY, 1974), *Onagraceae* (RAVEN, 1979), etc.

En el segle XIX s'iniciaren els estudis dels atraients florals i les recompenses que ofereixen les flors als insectes, però no serà fins la segona meitat del segle XX, quan sorgeixen un allau de publicacions sobre el tema. Destacarem, per exemple, KEVAN (1978, 1983) que assenyala la importància del color floral en la relació planta-insecte, WILLIAMS (1983) que indica el significat de les olors florals o LEPPIK (1977) que analitza l'evolució de les formes florals i inflorescències.

Les recompenses florals (pol.len i nèctar) han estat investigades per BONNIER (1879), PERCIVAL (1961) BAKER & BAKER (1975; 1983), BOLTEN *et al.* (1979), HARBORNE (1982), entre d'altres. PLEASANTS (1980) i ZIMMERMAN & PLEASANTS (1982) quantifiquen els recursos en forma de nèctar per avaluar la competència floral. Un altre aspecte estudiat ha estat el robatori de nèctar (INOUYE, 1980, 1983; HERRERA *et al.*, 1984), per part dels insectes sense que es produeixi pol.linització. Altres autors (HEINRICH & RAVEN, 1972; HEINRICH, 1975; etc.) s'han dedicat a investigar els aspectes energètics relacionats amb el comportament dels pol.linitzadors.

Els estudis dels sistemes reproductius, iniciats en temps de Darwin, han estat continuats entre d'altres per BATEMAN (1952), STEBBINS (1957), FRYXELL (1957), CROWE (1964), SOLBRIG (1976), FRANKEL & GALUN (1977), BAWA & BEACH (1981), RICHARDS (1986). Alguns autors (LEVIN, 1981; WADDINGTON, 1983; WASER & PRICE, 1983) ho han relacionat amb la genètica, estudiant el flux genètic i les distàncies òptimes d'encreuament. CRUDEN (1977) proposa l'índex P/O (relació entre el nombre de grans de pol.len per òvul) com a indicador del sistema reproductor de les plantes.

A l'estat espanyol, pel que fa a la reproducció d'espermatòfits, camp que ha tingut un desenvolupament molt recent, caldria destacar els treballs sobre sistemes reproductius, producció de nèctar i fruits, relacions mutualistes planta-insecte, patrons de pol.linització i disseminació, estudis fenològics, entre d'altres a l'entorn del nucli de la Universitat de Sevilla (DOMÍNGUEZ & GIBBS, 1975; DEVESA *et al.*, 1985; HERRERA, 1987; JORDANO, 1987, 1990; ARROYO, 1988; VALDÉS & MEJÍAS, 1988; MEJÍAS, 1992; etc.). Al nostre territori, a part dels estudis abordats des de l'òptica palinològica del nostre Departament i de la Universitat Autònoma de Barcelona, cal referir com a precedents immediats, els treballs de BONET (1991) i BOSCH (1986), experimentant el sistema botànic-zoòleg en l'estudi de la biologia floral d'una brolla mediterrània, o els estudis de pol.linització en *Diplotaxis* L. (SANS & BONET, 1993). MATEU & NEBOT (1990) estudia la biologia de la reproducció d'un carrascar mediterrani valencià.

### 1.1.2. EVOLUCIÓ DELS CONEIXEMENTS SOBRE BIOLOGIA DE LA REPRODUCCIÓ EN *DELPHINIUM* L.

El gènere *Delphinium* L., que pertany a la tribu *Delphineae* Warming de la família *Ranunculaceae*, és conegut des de l'antic Egipte. Dioscòrides (segons CADEVALL & SALLEN, 1915) va donar-li aquest nom, amb el qual es coneix avui en dia, per la semblança de les flors, sobretot de les poncelles tancades, a la silueta d'un dofí. Tradicionalment, els gèneres *Consolida* (DC.) S. F. Gray i *Aconitella* Spach, han estat inclosos dins aquest gènere fins fa relativament poc temps (TRIFONOVA, 1990).

Quant a la biologia de la reproducció, la primera referència que disposem és la de MÜLLER (1883), el qual descriu la morfologia i els mecanismes reproductius, així com els pol.linitzadors (*Bombus hortorum* L., *Anthophora pilipes* F. i *A. personata* Ill.) de la flor de *D. elatum* L. Cita a Hildebrand que ja havia descrit *D. staphisagria* L., amb una biologia reproductiva que té molts punts en comú amb *D. elatum* i també és pol.linitzada per abellots. Dins la tribu *Delphineae*, Müller també realitza la descripció morfològica, dels sistemes reproductius i pol.linitzadors de *D. consolida* L. (= *Consolida regalis* S. F. Gray), d'*Aconitum napellus* L. i *Aconitum lycoctonum* L., i cita a Sprengel que havia descrit els mecanismes florals de *D. ajacis* L. (actualment *Consolida ajacis* (L.) Schur.).

Posteriorment, la pol.linització de les flors de *Delphinium* ha estat investigada per ROBERTSON (1889, 1929), CLEMENTS & LONG (1923), EPLING & LEWIS (1952), LEWIS & EPLING, (1959), GRANT & GRANT (1968), SCHLISING & TURPIN (1971), MACIOR (1975, 1978), WASER & PRICE (1990), etc. Com es pot veure per l'origen de les referències bibliogràfiques, aquests estudis han tingut un important desenvolupament als Estats Units d'Amèrica. A partir dels anys setanta, s'ha aprofundit molt en el coneixement de la



reproducció d'unes poques espècies com *D. tricornis* Mich., *D. barbeyi* Huth, *D. virescens* Nutt., *D. carolinianum* Walt. i *D. nelsonii* Greene, especialment aquesta darrera, investigada per diversos equips de recerca al Rocky Mountain Laboratory.

Alguns treballs, com el de MACIOR (1975), es tracten d'una primera aproximació als vectors pol.linitzadors, analitzant el comportament dels insectes, les càrregues de pol.len, el color de les flors, la correlació de la llargada de l'esperó amb la probòscide de l'antòfil, etc. En aquest sentit, PESSON & LOUVEAUX (1984) consideren els abellots del gènere *Bombus* com els millors, i potser els únics pol.linitzadors d'*Aconitum*, *Delphinium* i *Aquilegia*. Fins i tot, assenyalen la coincidència que es produeix en l'àrea de distribució mundial entre els gèneres *Aconitum* i *Bombus*. WARNOCK (1981) dona un breu llistat dels pol.linitzadors del *D. carolinianum* Walt. D'altres, analitzen l'eficiència i l'eficàcia d'aquesta pol.linització (WASER & PRICE, 1990), la influència de la mida de la inflorescència (PLEASANTS & ZIMMERMAN, 1990), el model de vol o comportament dels insectes al llarg d'aquesta, relacionat amb aspectes energètics (EPLING & LEWIS, 1952; PYKE, 1978, 1980; ZIMMERMAN, 1983), o altres aspectes, com la importància del color en la pol.linització (MALYUTIN, 1969; WASER & PRICE, 1981; WARNOCK, 1981, 1987), fenòmens de neotènia (GUERRANT, 1982), o variacions en la producció de nèctar, mitjançant manipulacions experimentals (ZIMMERMAN, 1983).

S'han dut a terme estudis sobre el pol.len relacionat amb els vectors (SCHLISING & TURPIN, 1971; WASER, 1988), el flux genètic i la distància òptima d'encreuament (WADDINGTON, 1981, 1983; WASER *et al.*, 1987; WASER & PRICE, 1991) o adaptacions ecològiques (WASER & PRICE, 1985). També s'han realitzat estudis de tipus fenològic, com ara la influència del gruix de neu en el ritme i abundància de la floració (INOUE & MCGUIRE, 1991) o la relació entre l'abundància floral i els censos de colibrís (INOUE *et al.*, 1991).

Una altra línia de recerca ha estat el paper de la hibridació en el gènere (WILDE, 1931; GAGE, 1953; LEGRO, 1961) vinculat, més aviat, a projectes de millora en plantes ornamentals. JANKUN (1973) investiga sobre el desenvolupament de l'endosperma híbrid en el grup de *D. elatum* L. El mateix autor (JANKUN, 1975) va portar a terme estudis citoembriològics en híbrids infectats de *Delphinium*. Actualment a Anglaterra, un país amb força tradició de jardineria ornamental, existeix una organització, la *Delphinium Society*, dedicada a investigar aquests temes (BASSETT, 1990).

En els altres membres de la tribu, cal destacar el treball de HONG DE-YUAN (1986), essencialment biosistemàtic, que estudia la biologia de la reproducció d'algunes *Consolida*, i que és l'única referència disponible en *Delphineae* anuals. És especialment destacable l'existència d'espècies autògames i autocompatibles (com ara *C. teheranica* (Boiss.) Hong) en tàxons d'organització floral teòricament especialitzades per a la pol.linització entomòfila.

## 1.2. PLA DE TREBALL

### 1.2.1. OBJECTIUS I METODOLOGIA

Una vegada superada la fase de revisió taxonòmica de les espècies de *Delphinium* presents a la Península Ibèrica i a les Illes Balears, que fou portada a terme per BLANCHÉ (1991), el mateix autor ja va apuntar, d'una banda, la manca d'estudis en aquests tàxons i, per l'altra, l'interès de continuar en l'aprofundiment del coneixement del gènere envers el camp de la biologia floral i de llurs mecanismes reproductius.

En el plantejament del treball hem pretès assolir, fonamentalment, els següents objectius. Per un costat, posar a punt una metodologia adient que permetés l'estudi de la biologia de la reproducció, des de dues perspectives diferents, però que a la vegada es complementen:

- a) L'estudi dels sistemes reproductius, en condicions d'hivernacle.
- b) L'estudi de la biologia de la pol.linització en el seu medi natural.

Els plantejaments metodològics han gaudit, d'entrada, d'una especial atenció en aquesta Memòria, atès que aquests estudis representen, de fet, l'inici d'un nou camp de recerca pel que fa al nostre Laboratori. Tot això comporta un esforç addicional a l'hora d'aprendre les tècniques experimentals i de cercar la bibliografia. Els estudis de la biologia de la reproducció, tot i emmarcar-se dins del camp de la Biosistemàtica (una de les línies d'investigació principal de la nostra Unitat), utilitzen unes eines i uns aspectes metodològics que poc tenen a veure amb la pauta de treball de la Taxonomia. Serveixi com exemple el tipus de material utilitzat; els taxònoms, tot i menester la planta viva, es nodreixen majoritàriament de material d'herbari, mentre que en el nostre cas ens és imprescindible treballar únicament amb material viu. Al nostre entendre, aquest tipus de treball és força més dinàmic, però no podem oblidar les petites dificultats o inconvenients que pressuposa manipular i tenir cura d'un material sovint delicat i que no sempre s'adapta amb facilitat a les condicions ambientals dels nostres camps experimentals. D'altra banda, el treball al camp, tot i reconèixer que és força agradable, implica suportar unes condicions meteorològiques canviants que pensem que poden no ésser adients pel correcte desenvolupament de l'activitat investigadora. Així, la manca d'uniformitat d'aquestes condicions (sol, núvols, pluja, vent, etc.) porta implícita la impossibilitat d'estandarització de l'experiment i pot afectar, a priori, tant a l'activitat vital dels pol.linitzadors com a les mateixes flors (obertura floral, producció de nèctar, etc.). Cal tenir en compte, àdhuc, que part de l'experimental només es podrà dur



a terme en unes èpoques molt concretes, ja que està lligat al cicle biològic de la planta, la qual cosa significa una limitació en el temps certament important.

Per altre costat, i com a segon objectiu, hem pretès aportar uns primers resultats que ens permetin, d'una banda, fer-nos una idea global d'aquests mecanismes reproductius i per l'altra, establir aquells aspectes més rellevants que haurien de potenciar-se i desenvolupar-se cara a futures, i ja previstes, recerques en aquest mateix camp i en aquest mateix grup de plantes. És per això, que cal considerar els resultats que formen part d'aquesta Memòria, com una contribució al coneixement de la biologia de reproducció del gènere *Delphinium*.

El disseny experimental que hem establert com a pauta de treball, es fonamenta, d'entrada, en un doble treball que s'ha dut a terme de manera paral·lela, durant el període de floració de la planta, majoritàriament. Una part s'ha desenvolupat al laboratori (i a l'hivernacle), i l'altra, en les poblacions naturals, al camp. El diagrama de la figura 1.1. representa una esquematització d'aquest disseny experimental.

Per a la realització de l'estudi dels sistemes reproductius, que és un dels nuclis fonamentals d'aquest treball, el pas previ és l'obtenció del material. Aquest s'obté de dues maneres diferents, segons el cicle vital de la planta: per germinació de granes (per a les espècies anuals) o per trasplantament directe del camp (per a les espècies perennes). Cal establir, per tant, les òptimes condicions de germinació, (realitzant assaigs tant en placa de Petri, com a l'hivernacle), per obtenir material suficient. L'estudi de les taxes de germinació i el seu desenvolupament en el temps, ens permetran establir uns patrons de germinació que serviran com a punts de referència per a estudiar el comportament de les granes produïdes en els encreuaments.

L'estudi dels mecanismes d'aïllament reproductiu es portarà a terme calculant els valors de partenogènesi, autogàmia, geitonogàmia, allogàmia o pol·linització creuada intrapoblacional, interpoblacional i interespecífica, que hom valora per mitjà de la producció de granes i llur germinació (es prenen com a paràmetres, els percentatges de germinació i el desenvolupament de les granes en el temps per a cada tractament). Paral·lelament s'estudia el comportament citogenètic (mitosi i meiosi) dels parentals, per esbrinar si presenten anomalies genètiques. En fases posteriors, està previst realitzar un seguiment del desenvolupament de la descendència, que pot ésser molt interessant en el cas d'obtenció d'híbrids.

Les tasques que es realitzen al camp, estan fonamentalment relacionades amb la biologia de la pol·linització. D'una banda, l'anàlisi d'una sèrie d'aspectes vinculats a la morfologia floral, com ara l'estructura de la flor i la inflorescència, el color de les peces periàntiques, la morfologia dels estigmes per observació al M.E.R., l'estudi del nombre

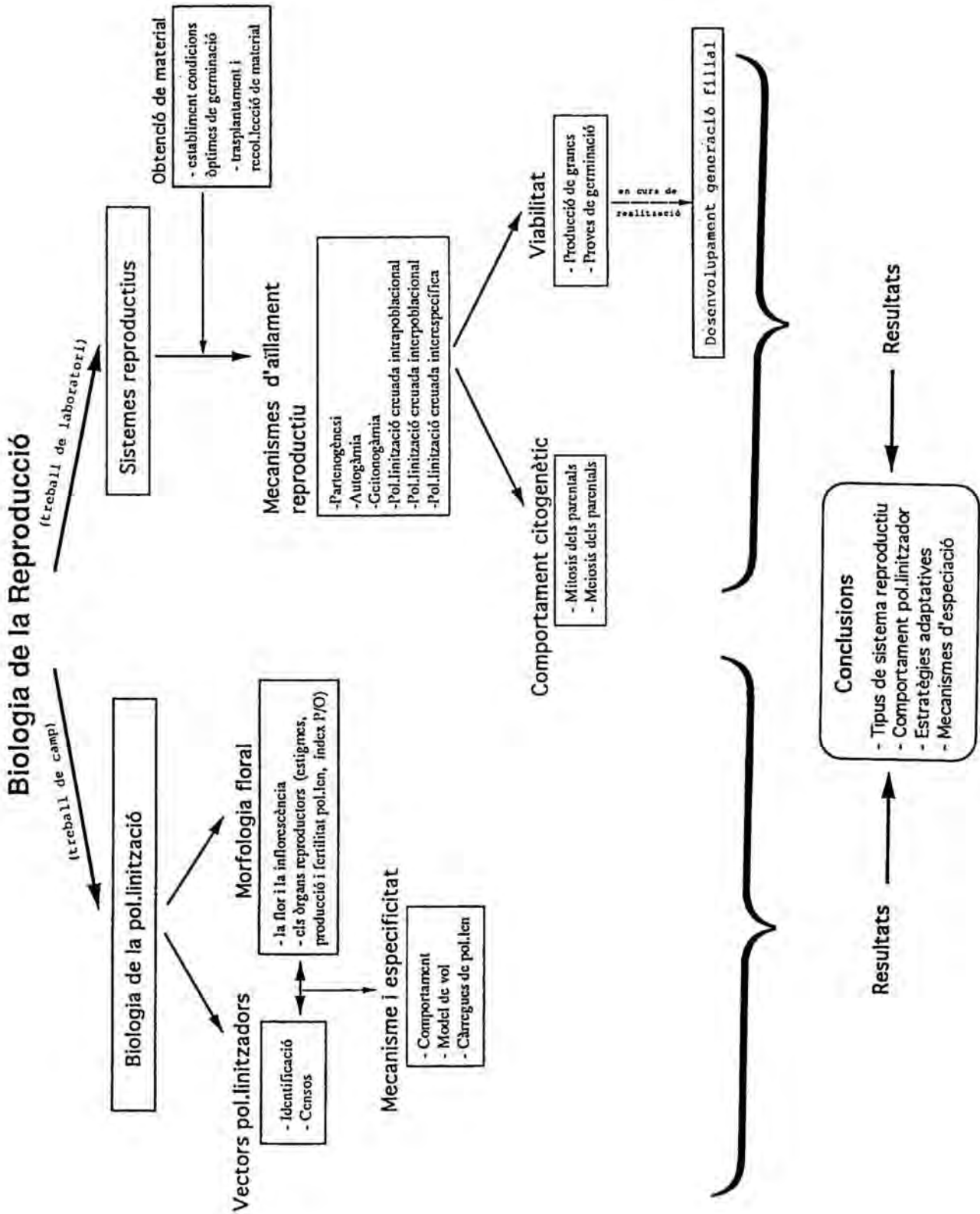


Figura 1.1. ESQUEMATITZACIÓ DEL DISSENY EXPERIMENTAL.

d'estams, la fertilitat del pol·len, la producció pol·línica i d'òvuls, i l'índex P/O, com un possible indicador del sistema reproductiu (part d'aquests estudis, lògicament, s'han de dur a terme al laboratori). Per l'altre costat, l'estudi dels vectors potencialment pol·linitzadors d'aquests tàxons, tot fent censos i capturant-los per a una posterior identificació. L'observació del comportament dels antòfils damunt les flors de *Delphinium*, llur model de vol o la composició del pol·len que transporten, ens fornirà de dades per interpretar els mecanismes de pol·linització i el grau d'especificitat planta-insecte d'aquests tàxons.

### 1.2.2. DESCRIPCIÓ DE LES POBLACIONS ESTUDIADAES

La selecció de les espècies de *Delphinium*, com a material vegetal de partida per a la realització dels estudis presents en aquesta Memòria, s'ha dut a terme en base a un criteri, fonamentalment, de tipus taxonòmic. Hom ha pres com a model, el darrer esquema taxonòmic publicat fins el moment actual que és el que descriu MALYUTIN (1987). Malgrat ésser provisional, ja que l'aprofundiment dels coneixements sobre les plantes en el decurs del temps farà que aquesta classificació evolucioni i probablement es modifiqui, és el més complet i majoritàriament acceptat pels especialistes, exceptuant petites discrepàncies en algunes espècies americanes (WARNOCK, 1990). Hom ha escollit dues poblacions d'una espècie representant de cadascun dels subgèneres presents a la Península Ibèrica:

*D. verdunense* Balb. (subgen. *Delphinium*)

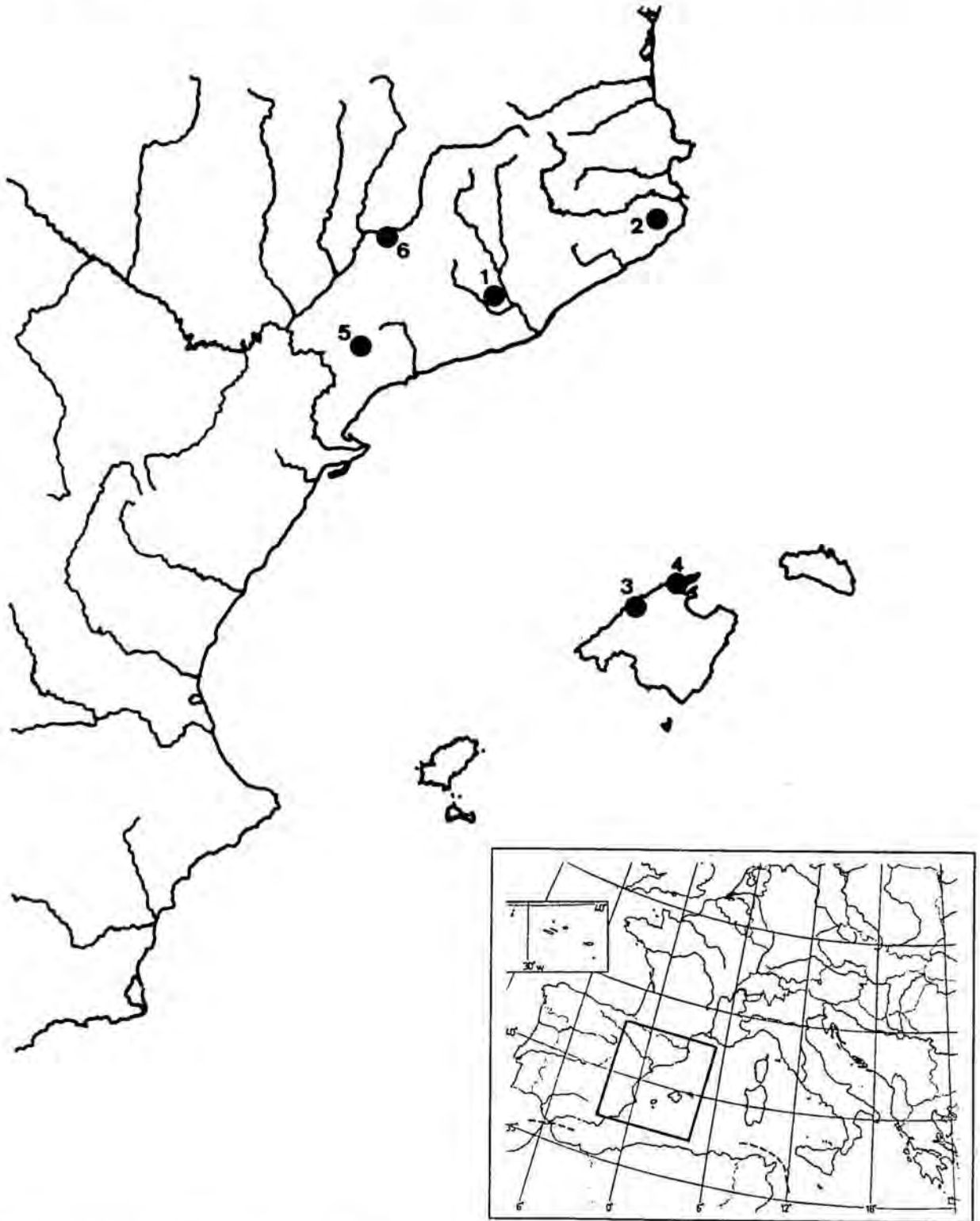
*D. pictum* Willd. (subgen. *Staphisagria* (DC) Peterm.)

*D. bolosii* Blanché & Molero (subgen. *Oligophyllon* Dimitrova)

Un del factors que hem tingut en compte a l'hora de realitzar la selecció de les espècies i les poblacions, ha estat la situació geogràfica. S'ha intentat, dins del possible, que fossin el més properes possible al lloc d'estudi, per tenir més a mà el material i no perdre excessiu temps en els desplaçaments. La seva distribució, essencialment mediterrània, queda reflectida en el mapa de la figura 1.2.

A part, hom ha tingut també en consideració el fet que aquests tàxons presentin cicles biològics diferents entre ells, la qual cosa permetrà, d'alguna manera, relacionar el comportament reproductiu amb el tipus de cicle. En la literatura estan descrits com a anuals, biennals i perennes, respectivament. Amb tot, però, en el cas de les estirps que han estat definides com a biennals, (BLANCHÉ & MOLERO, 1986; BLANCHÉ, 1991; VELARQUE *et al.*, 1991), ens estem referint a *D. pictum*, no queda tan clar que ho siguin, com més endavant es demostrarà.

Figura 1.2. DISTRIBUCIÓ GEOGRÀFICA DE LES POBLACIONS ESTUDIADAES.



1. *D. verdunense* Balb., Sant Llorenç d'Hortons (Alt Penedès).
2. *D. verdunense* Balb., Ullastret (Baix Empordà).
3. *D. pictum* Willd., *pr.* Cala Tuent (Mallorca).
4. *D. pictum* Willd., Bóquer (Mallorca).
5. *D. bolosii* Blanché & Molero, Ulldemolins (Priorat).
6. *D. bolosii* Blanché & Molero, Rubió de Baix (La Noguera).

A continuació, adjuntem una breu descripció per a cadascuna de les poblacions on s'ha realitzat el treball de camp d'observació i captura dels possibles vectors pol.linitzadors, i on s'ha recollit material vegetal, ja sigui en forma de granes, o bé, individus trasplantats directament en torretes, per a realització dels estudis de germinació i les experiències sobre els sistemes reproductius que s'han dut a terme a l'hivernacle del Laboratori de Botànica, de la Facultat de Farmàcia.

Hom ha indicat, en aquestes descripcions, la situació geogràfica, les coordenades UTM, una breu descripció ecològica i de la vegetació de l'entorn, tot indicant el domini climàtic, el tipus de comunitat vegetal i un llistat de les plantes més properes als *Delphinium* que es trobaven en estat de floració, durant el període de treball de camp. Aquestes plantes són competidores potencials per als agents pol.linitzadors, fonamentalment insectes. També s'ha realitzat una breu descripció de la població assenyalant les dimensions aproximades i una estimació del nombre d'individus que la composaven. Hom ha apuntat, a més, si existeix algun fet remarcable que pugui afectar la població.

Les plantes que es trobaven en període de la floració, en el moment de realitzar el treball de camp, han estat determinades mitjançant la Flora Manual dels Països Catalans (BOLÒS *et al.*, 1990). Hom ha seguit la seva nomenclatura, en cas de trobar sinònims.

En la resta de capítols, per referir-nos a les diverses poblacions estudiades hem utilitzat un codi, que consisteix en l'abreviatura de les comarca (o localitat, en el cas de les mallorquines) amb la finalitat d'agilitzar la lectura.



***Delphinium verdunense* Balb.**

POBLACIÓ *D. verdunense* (AP): Alt Penedès, Barcelona.

LOCALITAT: Torrent Fondo, a 1 Km de Sant Llorenç d'Hortons.

UTM: 31 T DF 09

Marge d'un camp d'ordi segat, envoltat de vinya, al costat de la carretera BV-2249, situat prop del Km 8.

ALTITUD: 196 m

DOMINI CLIMÀCIC: *Quercetum ilicis-galloprovinciale*.

COMUNITAT: *Diplotaxion erucoidis*.

ALTRES PLANTES EN FLOR: *Anagallis arvensis* L., *Xanthium strumarium* L., *Sonchus* sp., *Diplotaxis erucoides* (L.) DC., *Calendula arvensis* L., *Cynodon dactylon* (L.) Pers., *Convolvulus arvensis* L., *Papaver rhoeas* L., *Sinapis arvensis* L., *Polygonum aviculare* L., *Melilotus alba* Medic., *Verbena officinalis* L., *Reseda phyteuma* L., *Euphorbia segetalis* L., *Foeniculum vulgare* Mill., *Sorghum halepense* (L.) Pers., *Heliotropium europaeum* L., *Sedum sediforme* (Jacq.) Pau, *Cirsium arvense* (L.) Scop.

Taca estudiada de 35 individus, cap al marge del camp ja segat, de forma rectangular allargada, de 6 m x 2 m. En la resta de camp, apareixien individus molt dispersos i força separats entre ells.

POBLACIÓ *D. verdunense* (BE): Baix Empordà, Girona.

LOCALITAT: Ullastret, camí de Canapost.

UTM: 31 T EG 04

Camp de cereal, potser en guaret, al costat de la carretera GE.644, en el Km 4.

ALTITUD: 50 m

DOMINI CLIMÀCIC: *Quercetum ilicis-galloprovinciale*.

COMUNITAT: camp de *Secalio cerealis* envoltat per *Pruno-Rubion*. Al marge hi ha un fonollar sec.

ALTRES PLANTES EN FLOR: *Diplotaxis erucoides* (L.) DC., *Mercurialis annua* L., *Chenopodium rubrum* L., *Amaranthus retroflexus* L., *Reseda phyteuma* L., *Lycopsis arvensis* L., *Conyza bonarensis* (L.) Cronq., *Calendula arvensis* L.

Taca de 15 individus isolada enmig d'un conreu ja segat, de forma allargada, de 2 m x 0,5 m. Cal destacar la notable presència d'orugues i cargols. En aquests camps, després de segar (segons informa un pagès de la zona), s'intenta llaurar immediatament per evitar que "les males herbes" exhaureixin l'adob que ha quedat a terra, amb la qual cosa, l'extensió de les poblacions minva any rera any.

***Delphinium pictum* Willd.**

POBLACIÓ *D. pictum* (B): Bóquer, Mallorca.

LOCALITAT: Bóquer, Pollensa.

UTM: 31 T EE 01

Peu de cingles i roqueres.

ALTITUD: 100 m, exposició nord.

DOMINI CLIMÀCIC: *Hypericion balearici*.

COMUNITAT: *Hypericion balearici*.

Taca d'uns 400 individus, de forma rectangular, de 25 m x 10 m.

(En aquesta població només s'ha recol·lectat granes per les experiències del capítol 4, però per manca de temps, no es va realitzar el treball de camp).

POBLACIÓ *D. pictum* (CT): pr. Cala Tuent, Mallorca.

LOCALITAT: Cruïlla de la carretera de Sa Calobra amb la de Cala Tuent.

UTM: 31 T DE 81

Al marge de la carretera i vessant inferior d'un turó.

ALTITUD: 100 m, exposició nord.

DOMINI CLIMÀCIC: *Cyclamini-Quercetum ilicis*.

COMUNITAT: clariana del *Cyclamini-Quercetum ilicis*.

ALTRES PLANTES EN FLOR: *Sibthorpia balearica* Knoche, *Geranium purpureum* Vill., *Blackstonia perfoliata* (L.) Huds., *Taraxacum* sp., *Centranthus calcitrapae* (L.) Dufresne, *Euphorbia characias* L., *Euphorbia pithyusa* L., *Scrophularia nodosa* L.

Grups d'individus més o menys aïllats. S'ha estudiat una taca de 5 que ocupava 1m x 1m, i una taca de 32 amb unes dimensions de 3 m x 2 m. Cal destacar la presència elevada d'individus amb orugues.

En l'estudi dels sistemes reproductius, que es dugué a terme a l'hivernacle, i per al càlcul de l'índex P/O, es va treballar, a part, amb uns individus d'aquesta població que ocupaven un nínxol ecològic diferent. Habitaven els "cocons", cavitats o formacions que queden en les roques del rascler o lapiaz mallorquí, originades per processos kàrstics, i presentaven certes diferències morfològiques respecte la resta d'individus de *D. pictum* de la població. Es presenten en nombres relativament alts, ocupant un espai molt reduït i per tant, existeix molta competència entre ells. No desenvolupen tant la tija, ni les fulles i la producció de flors per peu és considerablement inferior (de 2 a 4 flors, per individu). Tampoc presenten gaire ramificacions laterals. Per diferenciar aquests individus de la resta de la població els anomenarem població *D. pictum* (CT)\*. El seu estudi ens permet fer una aproximació al pes dels factors ecològics en els fenòmens reproductius.

***Delphinium bolosii* Blanché & Molero**

POBLACIÓ: *D. bolosii* (LN): La Noguera, Lleida.

LOCALITAT: Rubió de Baix, a 5 Km d'Artesa de Segre.

UTM: 31 T CG 34.

Peu de roqueres calcàries sobre el riu Segre.

ALTITUD: 280-300 m, exposició nord.

DOMINI CLIMÀCIC: *Buxo-Quercetum pubescentis*.

COMUNITAT: Boixeda subnitròfila enriquida amb espècies termòfiles.

ALTRES PLANTES EN FLOR: *Coronilla emerus* L., *Buxus sempervirens* L., *Taraxacum* sp., *Filipendula vulgaris* Moench., *Jasminum fruticans* L., *Sarcocapnos eneaphylla* (L.) DC., *Geranium rotundifolium* L., *Geranium columbinum* L., *Ramonda myconi* (L.) Reichenb., *Antirrhinum molle* L., *Medicago lupulina* L., *Convolvulus lanuginosus* Desr., *Campanula* sp., *Silene* sp., *Orlaya grandiflora* (L.) Hoffm., *Tordylium maximum* L.

Població d'uns 400 individus repartits per tot el vessant nord. No s'ha detectat cap individu en l'altre vessant, la solana, la qual cosa sembla indicar que tinguin uns requeriments preferents d'humitat o llum. S'ha treballat amb una taca de 85 individus (a baix) i una altra de 60 (a dalt).

POBLACIÓ *D. bolosii* (P): Priorat, Tarragona.

LOCALITAT: Ulldemolins.

UTM: 31 T CF 27.

Herbassars i bardisses, sobre esquistos d'un petit barranc.

ALTITUD: 600 m.

DOMINI CLIMÀCIC: *Quercetum rotundifoliae*.

COMUNITAT: *Pruno-Rubion ulmifolii*.

ALTRES PLANTES EN FLOR: *Rubus canescens* DC., *Saponaria ocymoides* L., *Galium* sp., *Taraxacum* sp., *Rosa canina* L., *Brionia cretica* L. subsp. *dioica* (Jacq.), *Medicago sativa* L., *Tragopogon dubius* Scop., *Sanguisorba minor* Scop., *Melilotus neapolitana* Ten., *Sedum* sp., *Psoralea bituminosa* L., *Hypericum perforatum* L., *Biscutella laevigata* L.

Població d'uns 150 individus, situats als marges d'un camí o barrejats entre mig dels esbarzers els quals desenvolupen una important funció protectora.

## **2. MORFOLOGIA FLORAL**

## 2.1. LA FLOR

### 2.1.1. ESTRUCTURA I MORFOLOGIA

La família *Ranunculaceae* presenta una elevada diversitat d'estructures florals, cada gènere de la qual ha evolucionat de manera diferent per intentar augmentar l'eficàcia pol.linitzadora dels insectes (BLANCHÉ, 1991). De fet, com indica TAMURA (1964), aquesta varietat d'especialitzacions és un assaig biològic per assolir el mecanisme reproductiu més perfecte.

En el cas de la tribu *Delphineae* Warming, la vistositat de les flors està assegurada pels sèpals i pètals (MÜLLER, 1883), els quals prenen textures i coloracions semblants entre ells. Es tracta de flors hermafrodites, amb proteràndria marcada en la majoria de casos, de corol.la asimètrica o zigomorfa. En el cas de la flor d'*Aconitum* L., la peça periàntica superior pren forma de casc o elm, mentre que en *Delphinium* L., *Consolida* (DC.) S.F. Gray i *Aconitella* Spach, s'allarga formant un esperó. Són flors nectaríferes, però tenen aquesta substància ensucrada amagada dins el casc o l'esperó, respectivament, la qual cosa significa una especialització cara als insectes, ja que no tots estaran capacitats per accedir-hi (cf. capítol 5). Tant l'esperó, com el casc no contenen directament el nèctar, sinó que són una protecció per als pètals nectarífers de la pluja i d'altres factors ambientals (fan, doncs, com una mena de caputxa).

El periant petaloide de la flor de *Delphinium* està constituït per diverses peces, 5 d'externes ("sèpals") i 4 internes ("pètals"), tal i com s'indica en el diagrama analític de la figura 2.1. Conté, doncs, segons la terminologia de BENZING (1970), 2 sèpals inferiors, 2 sèpals laterals, l'esperó, 2 pètals laterals i 2 pètals superiors.

Els sèpals, a part de la funció protectora dels òrgans sexuals (estams i pistil) i dels nectaris, són els responsables de fer visibles les flors (ateses les seves coloracions) pels insectes, durant el període d'antesi. La funció dels pètals superiors, també anomenats nectaris atès que secreten aquesta substància en quantitats importants, és definir un camí d'entrada per guiar les probòscides dels insectes, si són suficientment llargues, per assolir el nèctar (MÜLLER, 1883). Els seus extrems superiors es prolonguen i queden inclosos dins de la cavitat de l'esperó. En alguns casos hem observat esperons amb l'extrem bífid (sobretot en flors de *D. pictum*). Els pètals laterals tenen una funció de tipus complementari. Actuen com a superfícies d'aterratge on es posarà l'antòfil, i delimiten l'entrada a l'esperó per sota, evitant, d'aquesta manera, que l'insecte errí el camí en la recerca del nèctar. Quan introdueix el cap dins l'esperó, separa aquests dos pètals i té lloc el contacte inevitable del cos de l'animal amb els estams o el pistil, situats just a aquest nivell. Hem observat, precisament, que els primers estams que inicien la dehiscència pol.línica són els que estan situats en aquesta zona (cf.



figura 2.2.A.), que és la que té més possibilitats de fregar amb el cos de l'insecte que intenti libar les flors de *Delphinium*.

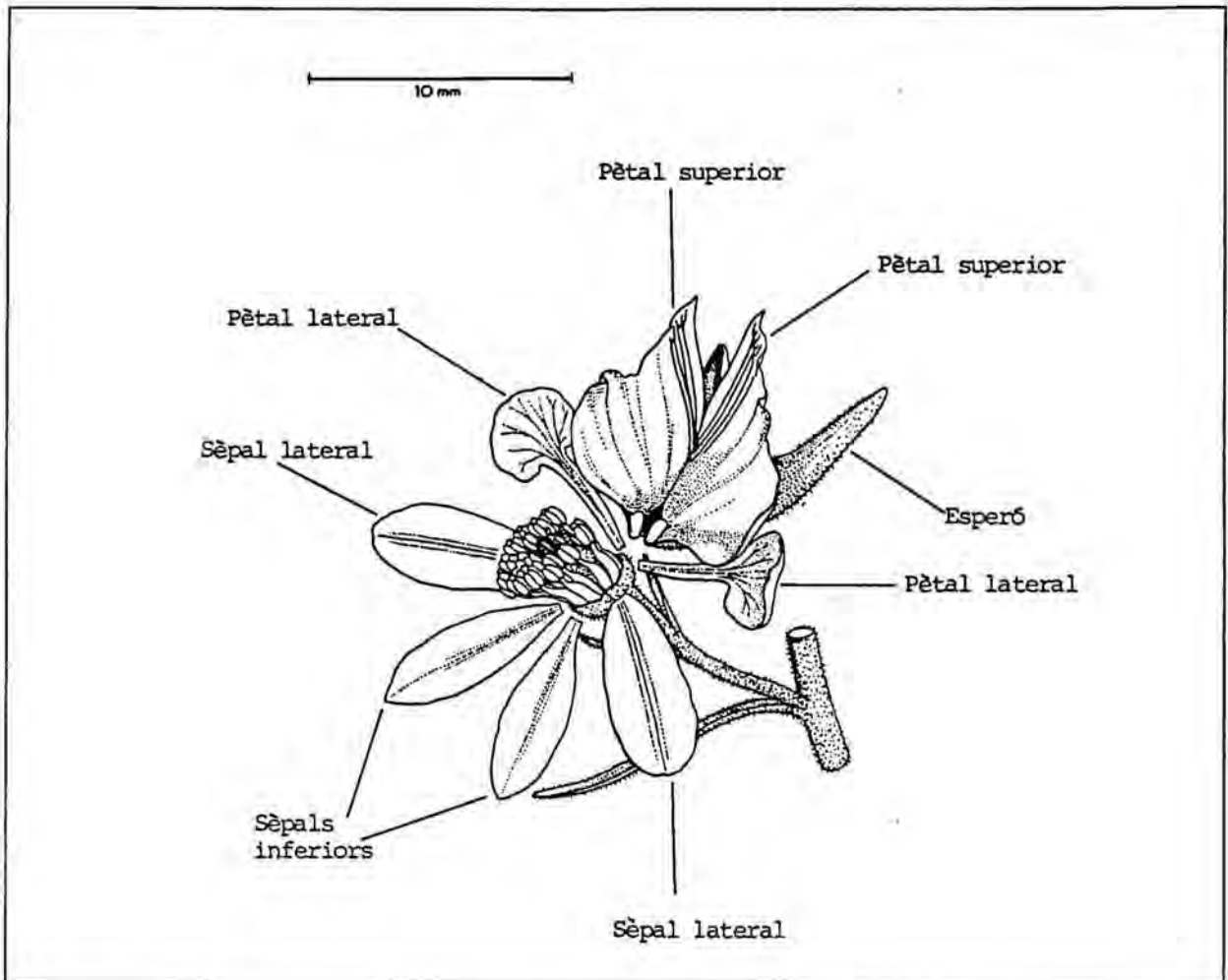


Figura 2.1. DIAGRAMA ANALÍTIC DE LA FLOR DE *Delphinium* (BLANCHÉ, 1991).

Les diferències entre els pètals laterals i els sèpals (laterals i inferiors) de les 3 espècies que són objecte d'estudi es poden visualitzar en les fotografies de la figura 2.2. i en els dibuixos de la figura 2.3.

Els sèpals, en principi, són força semblants quant a la forma, però presenten lleugeres diferències de dimensions i de coloració. Els pètals laterals, en canvi, sí que són força més diferents quant a morfologia i dimensions. Aquestes diferències, molt importants a nivell taxonòmic per a diferenciar grups, poden tenir certes implicacions en les visites dels antòfils. En *D. bolosii*, a diferència de les altres dues, presenta unes tofes de pèls ciliats blanc-



Figura 2.2. COROL·LES DE LES ESPÈCIES ESTUDIADES.

- A.- *D. bolosii* (els primers estams dehiscent es situen just per sota dels pètals laterals)
- B.- *D. verdunense* (els estams queden amagats sota els pètals laterals)
- C.- *D. pictum* (estams no dehiscent)
- D.- *D. pictum* (estams dehiscent)

grogueus, més o menys erectes i dirigides cap a l'entrada de l'esperó (cf. figura 2.2.A i 2.3.) Actuen com a senyalitzadors del camí cap el nèctar, per als insectes. Aquest indument és una característica comuna de la secció *Delphinastrum* (BLANCHÉ, 1991), que no apareix en les altres seccions, i per tant sembla un caràcter més aviat primitiu. Els pètals laterals de *D. pictum* (cf. figura 2.3.) són, d'aquestes tres espècies, els que presenten major superfície i la flor és una mica més oberta (cf. figura 2.2.C,D). En *D. verdunense*, en canvi, aquesta superfície és força reduïda i no es disposen horitzontalment, sinó inclinats cap a baix (cf. figura 2.2.B i 2.3.), tapant completament els estams (en les altres dues, la disposició és horitzontal i es veuen els estams). Hom observa, doncs, una tendència evolutiva a la reducció de les dimensions dels pètals laterals, que és força marcada en les espècies anuals, considerades filogenèticament més evolucionades, cap a les *Consolida* que han perdut aquestes peces florals. És produeix paral·lelament, un augment de la mida dels lòbuls laterals dels pètals superiors (BLANCHÉ, *l. c.*).

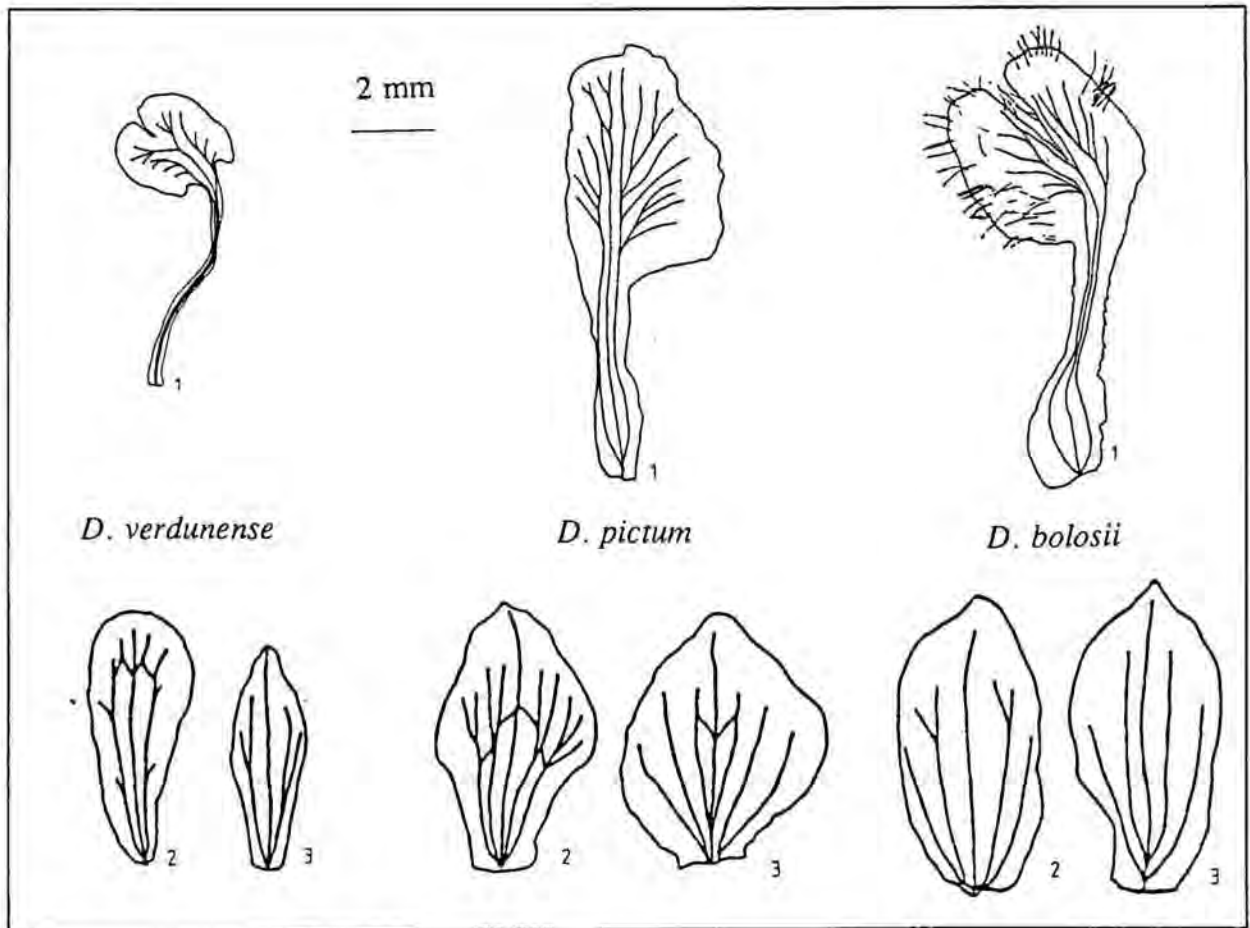


Figura 2.3. PECES PERIÀNTIQUES DE *Delphinium* (BLANCHÉ, 1991).

- 1.- Pètal lateral
- 2.- Sèpal lateral
- 3.- Sèpal inferior



Existeixen clarament, doncs, en aquests tàxons, dos tipus de models pel que fa a la disposició dels pètals laterals. *D. pictum* i *D. bolosii*, presenten una superfície d'aterratge plana i grossa i mostren el pol.len, mentre que *D. verdunense* és inclinada i petita, tapant els estams. Aquesta podria ésser una estratègia de les anuals, com a protecció dels menjadors o robadors de pol.len, potser relacionada amb la disminució del nombre d'estams i la dehiscència pol.línica, que esdevé molt més ràpidament que en les altres dues espècies, oferint, d'aquesta manera, menys oportunitats a aquest tipus d'antòfil. La coloració dels estams també és notablement diferent.

Tal i com hem indicat anteriorment, la llargada de l'esperó pot ésser important a l'hora de seleccionar el tipus d'antòfil pol.linitzador, ja que no tots tindran l'aparell bucal suficientment llarg per atènyer el nèctar. Aquest fet pot afavorir l'aparició de pol.linitzadors "il.legítims" o "lladres de nèctar" (cf. capítol 5), és a dir, aquells insectes que perforen l'esperó i, per tant, difícilment podran pol.linitzar perquè no posen en contacte el seu cos amb els estams (es passegen per fora la corol.la). A la taula 2.1. hom assenyala les llargades dels esperons de les espècies estudiades. S'han mesurat des de l'àpex de l'esperó fins a l'escotadura amb els pètals laterals. *D. pictum* és el que té l'esperó clarament més curt i, respecte a les altres dues, presenta un percentatge lleugerament major de visites d'antòfils de trompa curta (cf. taula 5.6.). En les poblacions de *D. bolosii*, que presenta l'esperó més llarg, els fenòmens de robatori de nèctar són més freqüents.

Taula 2.1. LLARGADA DELS ESPERONS.

TÀXON	N	m ± ES	interval
<i>D. verdunense</i> (AP)	10	16,8 ± 0,2	16 - 18
<i>D. verdunense</i> (BE)	10	14,7 ± 0,4	13 - 16
<i>D. pictum</i> (B)	10	8,1 ± 0,5	7 - 9
<i>D. pictum</i> (CT)	10	7,3 ± 0,4	5 - 8
<i>D. pictum</i> (CT)*	10	6,4 ± 0,5	5 - 7
<i>D. bolosii</i> (LN)	10	18,2 ± 0,5	16 - 21
<i>D. bolosii</i> (P)	10	21,0 ± 0,6	19 - 24

N = nombre de flors mesurades ; m ± ES = mitjana ± error estàndard  
Els resultats s'expressen en mm.

### 2.1.2. EL COLOR

El color de les flors, considerat un atraient secundari (FAEGRI & PILL, 1979), juga, junt amb d'altres caràcters sensorials, un paper important en l'atracció dels insectes. Les coloracions blavoses que solen tenir les flors de *Delphinium* ressalten força, en contrast amb les tonalitats verdes de les plantes del voltant.

La gamma cromàtica de les flors de *Delphinium* ha estat estudiada amb profunditat molt escadusserament (MALYUTIN, 1969; WARNOCK, 1981, 1987; BLANCHÉ, 1991). Ha estat, doncs, un caràcter poc usat taxonòmicament, dins d'aquest gènere. MACIOR (1975) va estudiar el color de les peces del periant de *D. tricornis* Mich. mitjançant espectrofotometria de reflectància i fotografia ultraviolada. Va trobar que es produïen diferències evidents entre la coloració dels pètals laterals i la resta de la corol·la, que podria ser una indicació del camí que han de seguir els insectes per arribar al nèctar.

Les peces periàntiques de *Delphinium*, en general, prenen coloracions blavoses, encara que hi ha excepcions. Citarem com a tall d'exemple a *D. pictum*, que adquireix coloracions molt pàl·lides, pràcticament blanques, o alguns individus albins, totalment blancs, que de tant en tant es detecten en les poblacions de *D. bolosii*. Aquest fenomen podria estar lligat al caràcter aneuploide d'aquesta espècie. També, però, s'han trobat cap a l'Alt Aragó poblacions senceres de *D. verdunense* albines (BLANCHÉ, 1991). A part, hom ha aconseguit híbrids artificialment amb una gran varietat de colors i tonalitats (cf. BASSETT, 1990).

Segons la terminologia de BLANCHÉ (1991), la descripció dels colors de les espècies d'estudi en aquesta Memòria seria:

*D. verdunense*: blau violat (predominant), blau jacint, violat grisós.

*D. pictum*: violat pàl·lid (predominant), violat pastel, violat grisós, blau pastel, blau grisenc, blau clar.

*D. bolosii*: violat grisós o somort (predominant), violat clar, violat pastel.

Tant en les nostres observacions al camp com del material d'hivernacle, *D. pictum* presenta un to molt blanc (cf. figura 2.2.). Hem vist, també, que en les dues poblacions de *D. bolosii* la intensitat del color i les tonalitats són força variables.

Aquest color tindria la funció d'atreure els insectes tal i com indica MÜLLER (1883), però això ha estat discutit per MALYUTIN (1969), el qual sosté la teoria que els pigments florals serveixen per assimilar energia tèrmica del sol, i que els insectes visiten les flors més aviat atrets per l'olor del nèctar. Els pigments són capaços d'augmentar la temperatura de la zona on estan situats els estams i pistil, afavorint la germinació del pol·len.



Segons FAEGRI & PUL (1979), els diferents grups d'insectes, en general, prefereixen o se senten atrets per uns colors determinats, idea que corrobora RODRÍGUEZ (1989). Això es degut a que cada grup té un espectre de visió diferent, i el grau de sensibilitat és variable entre ells. El color blau-lilós (de *D. verdunense* i *D. bolosii*) seria més visitat per abelles, papallones i ocells, mentre que el blanc (de *D. pictum*) per escarabats, arnes i rat-penats. En les nostres observacions al camp (cf. capítol 5), *D. pictum* és l'espècie que la visiten en proporció, més coleòpters. Les espècies americanes en general blaves, són visitades, entre d'altres, per un ocell, el colibrí.

WARNOCK (1981, 1987), que va estudiar el grup de *D. carolinianum* Walt. (de Texas, EUA), manté que existeix molta variació entre els colors dels sèpals entre poblacions i que no està relacionat amb la variació d'altres caràcters morfològics. Aquest autor creu que es poden produir variacions d'un any per l'altre i ho relaciona, fins i tot, amb el tipus de sòl o les condicions ambientals, en especial la pluja, la humitat o les radiacions solars. Les anàlisis cromatogràfiques demostren l'existència, en tots ells, dels mateixos pigments però distribuïts en diferents proporcions (les flors són blaves o blanques), els pètals són menys variables que els sèpals quant al color, potser un pèl més clars. Relaciona el color de les flors amb els insectes que les visiten. Mentre que les abelles, vespes i papallones semblen no discriminar els colors, les papallones nocturnes, els dípters i els colibrís prefereixen el blau sobre el blanc.

RODRÍGUEZ (1989) fa un anàlisi de la importància del color floral en la pol.linització, i ho relaciona amb la composició química dels pigments. El color porpra de les flors de *Delphinium* és degut a la delfinidina, que prové de l'hidroxilació de la cianidina (pigment que dona color magenta). La presència de copigments tipus flavones i flavonoids, formant complexos amb les antocianidines desvien la coloració cap a tonalitats blaves més pures. Aquest autor també indica que quan les poblacions de flors blaves de *Delphinium* muten a flors blanques, són incapaces de mantenir-se molt de temps i acaben desapareixent, perquè són molt pobres en granes degut a una discriminació dels insectes (sobretot abelles) que les visiten menys.

## 2.2. LA INFLORESCÈNCIA

La inflorescència de *Delphinium*, al igual que la d'*Aconitum*, és un raïm típic de flors zigomòrfiques, altament especialitzades per a la pol.linització entomòfila. En el cas de les espècies de *Delphinium* que són objecte d'estudi d'aquesta Memòria, les seves inflorescències (estudiades per BLANCHÉ, 1991), presenten entre elles diferències significatives quant a la ramificació, que de ben segur, tindran transcendència en llurs mecanismes reproductius. D'una banda, *D. bolosii* i *D. pictum* presenten un raïm amb un eix principal ben marcat, amb molt

poques branques laterals (1 o 2). En canvi, *D. verdunense*, planta anual i considerada filogenèticament més evolucionada, tot i que també té inflorescència racemiforme, és molt més ramificada que les altres dues (cf. apartat 5.2.2., en el qual s'aporten dades sobre el nombre de flors per individu i nombre de branques laterals). Tot i això, el nombre de ramificacions per individu és variable i depèn, possiblement, de les condicions ecològiques i ambientals. Gairebé, es podria considerar cadascuna de les branques com un "ramet" (parts d'individus fisiològicament independents), segons la terminologia de RICHARDS (1986). *D. verdunense*, d'aquesta manera, aconsegueix incrementar o perllongar el període de floració, ja que l'eclosió de les flors es desenvolupa de manera gradual. Coincideixen sovint en una mateixa planta, poncelles per obrir-se, flors obertes i fruits ja madurs (a més, a vegades, hom ha observat un segon pic de floració fora d'època, atenent les condicions meteorològiques, cf. capítol 3). Aquest fenomen afavoreix clarament la geitonogàmia, ja que augmentarà el nombre de flors disponibles per individu. A més, en les anuals, l'insecte pot anar canviant d'inflorescència sense moure's del mateix individu, mentre que quan el raïm és simple, forçosament quan visiti una nova inflorescència, canviarà de planta.

Les dades relatives a les característiques de les inflorescències es mostren en la taula 2.2., segons BLANCHÉ (1991).

Per tant, l'estratègia i tendència evolutiva de les anuals és una reducció de les dimensions de les flors i del nombre d'estams, compensat per un augment del nombre de flors i un perllongament del període de floració, encara que sigui gradual.

La inflorescència en raïm, que és de tipus indeterminat (el nombre de flors no és fixe), fa possible una seqüència lenta d'eclosió de les flors, de manera que, en un moment determinat, el nombre de flors obertes és baix, reduint, així, la possibilitat d'autofecundació. La maduració té lloc de manera ascendent, i junt amb el fenomen de proteràndria i la tendència dels insectes a pujar són mecanismes, que a priori afavoreixen l'al·logàmia (cf. capítol 5).

Taula 2.2. **BIOMETRIA DE LES INFLORESCÈNCIES DE *Delphinium*** (BLANCHÉ, 1991).

Tàxon	n <sup>o</sup> flors/raïm principal		densitat (flors/cm)		n <sup>o</sup> de branques		L. pedicel·les (mm)	
	m ± ES	interval	m ± ES	interval	m ± ES	Interval	m ± ES	Interval
<i>D. verdunense</i>	11,20 ± 1,15	5 - 16	2,37 ± 0,32	0,94 - 3,5	4,33 ± 0,59	2 - 8	9,6 ± 1,02	6 - 12
<i>D. pictum</i>	14,00 ± 5,04	4 - 48	0,70 ± 0,08	0,53 - 0,86	2,20 ± 0,37	1 - 3	16,21 ± 3,97	5 - 40
<i>D. bolosii</i>	14,10 ± 1,75	8 - 18	0,98 ± 0,06	0,70 - 1,17	1,14 ± 0,05	1 - 2	24,44 ± 2,47	16 - 37

L. = longitud; m ± ES = mitjana ± error estàndard

## 2.3. L'ESTIGMA

### 2.3.1. INTRODUCCIÓ

La superfície estigmàtica és la part terminal del pistil o carpel, que té una funció essencial en els mecanismes reproductius de la flor, ja que és la zona on es dipositaran els grans de pol·len (ja sigui espontàniament, o per mitjà dels insectes, de l'aigua, del vent, etc.), procés conegut amb el nom de pol·linització. En una etapa posterior, tindrà lloc la germinació pol·línica, és a dir, el gra de pol·len desenvoluparà el tub pol·línic que penetrarà dins l'estil per a assolir l'ovari, amb la funció de transportar el gàmeta masculí fins a l'òvul i d'aquesta manera pugui esdevenir la fecundació.

Existeixen dos factors que cal tenir en compte per tal que aquests fenòmens que acabem de descriure funcionin correctament: d'una banda, els mecanismes d'autocompatibilitat, és a dir, que l'estigma reconegui el pol·len conespecífic i permeti la seva germinació. Segons alguns autors (HESLOP-HARRISON *et al.*, 1975), quan un gra de pol·len es posa en contacte amb un estigma incompatible, l'exudat de l'exina provoca la formació d'una capa de cal·losa que evitarà la formació del tub pol·línic. Per d'altra banda, cal que es produeixi una sincronització o ajustament cronològic entre la dehiscència pol·línica i la receptivitat estigmàtica, conegut pels encreuadors de plantes amb el terme anglès de "nicking" (FRANKEL & GALUN, 1977).

Els caràcters de l'estigma poden tenir un valor predictiu en la investigació dels sistemes reproductius, i en determinades famílies, com per exemple les boraginàcies, poden tenir una gran importància des del punt de vista taxonòmic (HESLOP-HARRISON, 1981).

El pol·len de les tres espècies analitzades, ha estat estudiat per BLANCHÉ (1991) i presenta les següents característiques; es tracta de pol·len tricolpat, isopolar i de simetria radiada. La forma i les mides venen indicades a la taula 2.3.

Taula 2.3. MIDES DEL POL·LEN DE LES ESPÈCIES ESTUDIADAES (BLANCHÉ, 1991).

TÀXON	P*	E**	P/E***	FORMA
<i>D. verdunense</i>	23,22 ± 0,20	20,73 ± 0,20	1,12	SUBPROLAT
<i>D. pictum</i>	35,46 ± 0,28	29,82 ± 0,31	1,19	SUBPROLAT
<i>D. bolosii</i>	24,82 ± 0,33	21,69 ± 0,20	1,18	SUBPROLAT

P\* = diàmetre polar, E\*\* = diàmetre equatorial, P/E\*\*\* = relació de diàmetres

*D. pictum*, en comparació a les altres dues espècies, presenta unes dimensions significativament més grans, tot i que la relació P/E sigui molt semblant, la qual cosa ens indica que tenen el mateix tipus de forma. Segons BLANCHÉ (*l. c.*), les observacions al M.E.R. revelen que els pòllens de les tres espècies presenten la superfície perforada, coberta per nanospínules, i per tant no és del tot llisa.

En els apartats 2.4. i 2.5. analitzarem dos paràmetres relacionats amb el pol·len que tenen transcendència en l'eficàcia reproductiva de la flor, l'índex P/O i la fertilitat pol·línica, respectivament.

### 2.3.2. MATERIAL I MÈTODES

El material utilitzat per a la observació de les superfícies estigmàtiques al M.E.R. (Microscopi Electrònic de Rastreig) són els carpels de les flors de les poblacions escollides per a la realització d'aquesta Memòria, descrites en el capítol 1, del material de l'hivernacle utilitzat en els estudis dels sistemes reproductius (*cf.* capítol 4).

#### PREPARACIÓ DEL MATERIAL

S'escullen els carpels que volen ser observats al M.E.R. i que han estat preparats seguint la pauta que ens ha indicat el Servei de Microscòpia Electrònica de la Universitat de Barcelona.

El primer pas per a la preparació de les mostres és la fixació, per a la qual cosa s'introdueixen els carpels dins de vials que contenen una solució de glutaralhid al 25 % en dissolució aquosa en proporció 1:9, i es mantenen un període aproximat de dues hores al refrigerador (a una temperatura de 4° C). En una fase posterior, se submergeix en una solució de tampó cacodilat sòdic (a pH = 7,2), i es guarda de nou a la nevera fins el moment de preparar-les. Aquest tipus de fixació permet, en el cas de materials delicats com són els estigmes, mantenir la turgència de les diverses estructures i evitar possibles col·lapses.

Una vegada es té el material fixat, el següent pas és la deshidratació de les mostres. Per dur-la a terme, es submergeixen els carpels en dilucions creixents de sèries d'alcohols (50°, 60°, 70°, 80°, 90°, 95°, 95°, 100°, 100°), durant un temps de 10 - 15 minuts per a cada sèrie. Tot seguit, i d'una manera progressiva, es substitueix l'alcohol per acetat d'iso-amil, que es tracta d'una substància de transferència, i que és el pas previ abans d'efectuar el punt crític (COHEN, 1984).



La tècnica del punt crític (BOYDE, 1978) consisteix essencialment, en introduir el material preparat com hem indicat anteriorment, en un evaporador on l'acetat d'iso-amil és substituït gradualment per una substància de transició, que és l'anhidrid carbònic. Aquest reemplaçament s'assoleix quan les mostres són sotmeses simultàniament a baixes temperatures i elevades pressions que fan arribar l'anhidrid carbònic a la fase de punt crític. L'evaporador emprat és un CPD Polaron E-3000, que assoleix condicions de temperatura i pressions crítiques.

El muntatge es realitza sobre un suport metàl·lic (anomenat "stub"), on se li adhereix, mitjaçant una gota de plata col·loïdal, el carpel per la seva base. Posteriorment, té lloc el procés de metal·lització, que consisteix en un recobriment d'una capa d'or (d'uns 300-500 Å), que facilitarà la conducció dels electrons, i que ha estat duta a terme amb un equip Polaron E-5000, en condicions de temperatura ambient, a 1,3 Kv, 16-18 mA i 1 Torr de pressió, en una atmosfera inert d'argó, durant 6 minuts.

L'observació ha estat realitzada amb un M.E.R. model Hitachi S-2300 del Servei de Microscòpia Electrònica de la Universitat de Barcelona, a un voltatge d'acceleració de 1,5 Kv i a una distància aproximada de la mostra d'uns 20 mm. Se n'ha pres fotografies a diferents augments (cf. figura 2.4.) dels detalls més rellevants i que ens aportessin informació de la morfologia i característiques dels estigmes de *Delphinium*.

### 2.3.3. RESULTATS I DISCUSSIÓ

De l'observació dels estigmes al M.E.R. de les tres espècies examinades, el primer que s'entreveu és que totes elles presenten un desenvolupament més o menys similar. Durant la maduració estigmàtica, és a dir, quan els estigmes esdevenen receptius perquè els òvuls ja poden ser fecundats, la tendència és d'augmentar al màxim aquesta superfície perquè s'hi dipositi el major nombre de grans de pol·len possibles. En aquest moment, es presenten clarament dos lòbuls estigmàtics, a continuació del solc corresponent a la sutura ventral de la fulla carpelar. Aquests lòbuls tancats inicialment (cf. figures 2.4.A i 2.4.C), s'obren en dues direccions:

- a) Separació terminal dels àpexs (cf. figures 2.4.B i 2.4.D)
- b) Desplegament longitudinal en sentit del solc (cf. figura 2.4.B)

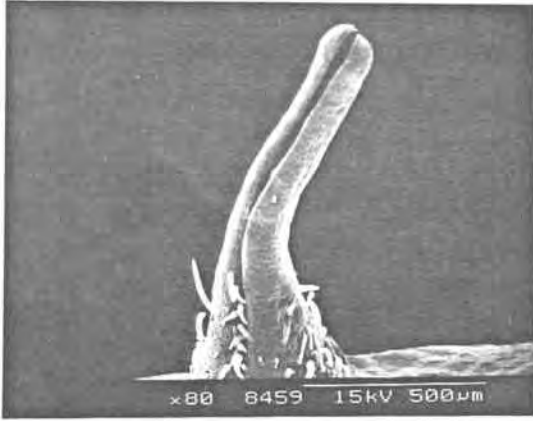
En el cas que no es produxi pol·linització durant el període de receptivitat estigmàtica, que sol durar per a aquestes espècies entre 4 i 5 dies, com podria ésser el cas del tractament de partenogènesi (cf. capítol 4), aquesta obertura és màxima, i a més es produeix



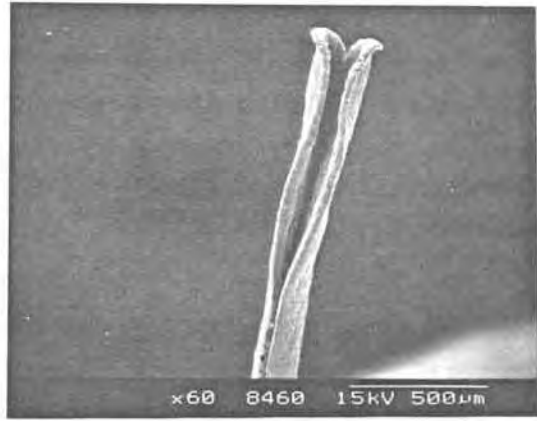
**Figura 2.4. ESTIGMES DE *Delphinium* AL M.E.R.**

- A.- Visió ventral d'un carpel jove de *D. verdunense* (BE).
- B.- Visió ventral de l'estil i estigma ja receptiu de *D. verdunense* (BE).
- C.- Detall d'un estigma encara no madur de *D. bolosii* (P).
- D.- Visió lateral posterior d'un estigma ja receptiu de *D. pictum* (CT).
- E.- Carpel amb força grans de pol.len a nivell de l'ovari de *D. pictum* (CT).
- F.- Detall dels lòbuls estigmàtics de *D. bolosii* (P).
- G.- Superfície estigmàtica saturada de pol.len de *D. pictum* (CT).
- H.- Estigma no pol.linitzat, que es troba en fase posterior al període de receptivitat de *D. pictum* (CT).

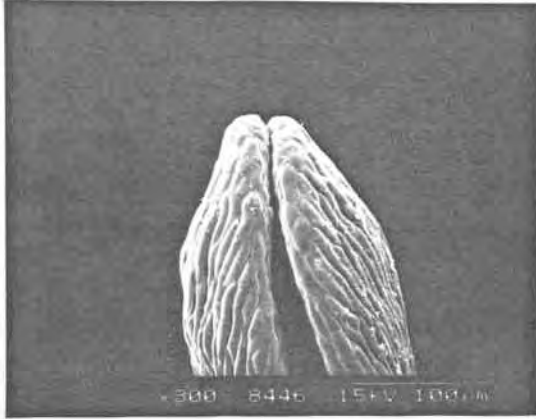
A



B



C



D



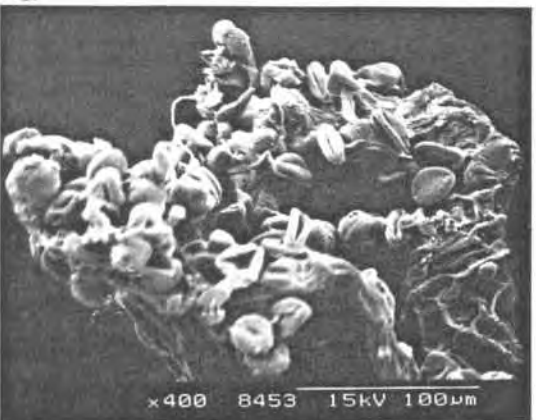
E



F



G



H



un recargolament general de tot el lòbul, associat a la màxima elongació, oferint, per tant, la màxima superfície (*cf.* figura 2.4.H). Aquest fenomen s'ha observat que té lloc de manera força desproporcionada en *D. pictum*, i no tant en les altres dues espècies estudiades.

La superfície interna d'aquests lòbuls estigmàtics no presenta cap mena d'emergències topogràfiques, on el pol·len es pugui adherir o fixar. Són força llises i, com a màxim, s'observen petites estriacions o solcs, produïts per engruiximents cutinitzats (*cf.* figura 2.4.H), que són una mica més visibles en *D. pictum*. De fet, això es podria relacionar amb el fet que es tracta de plantes que pertanyen a una família força primitiva i que encara no ha evolucionat cap a sistemes que puguin resultar més eficaços a l'hora de fixar el pol·len. Per la seva banda, aquest també presenta una superfície força llisa, i només té un recobriment de nanospínules, que no es veu reproduït en cap estructura de tipus "positiu-negatiu" o "clau-pany" sobre la superfície de l'estigma.

En el cas d'alguns estigmes de *D. pictum* (figura 2.4.E), s'han observat nombrosos grans de pol·len situats o semiadherits a d'altres parts del carpel, la qual cosa significa una pèrdua d'aquest material, i en definitiva una disminució de l'eficàcia reproductiva. Tanmateix, pot tractar-se de pol·len de la mateixa flor, provinent dels estams situats en posició vinclada (*cf.* apartat 2.1.); en aquest cas, la posició topogràfica més elevada dels lòbuls estigmàtics actuaria com a característica d'hercogàmia, impedingint la diposició del pol·len en altra part que no sigui la base del carpel, i per tant, bloquejant l'accés a la zona receptiva. Els tricomes que s'hi observen (figures 2.4.A i 2.4.E) podrien contribuir a aquesta missió de filtre de pol·len de la pròpia flor situat en les posicions més baixes. En definitiva, pot tractar-se de mecanismes per disminuir la probabilitat d'autofecundacions.

## 2.4. L'ÍNDEX P/O

### 2.4.1. INTRODUCCIÓ

El pol·len que es troba dins de les anteres, conté el gàmeta masculí i, per tant, té un paper fonamental en la reproducció sexual de la planta. Però, a part d'aquesta funció, és un dels atractius primaris de la flor, potser el principal i més primitiu dins les angiospermes (FAEGRI & PUL, 1979). Junt amb el nèctar i amb d'altres substàncies minoritàries (olis, etc.), són les recompenses de tipus alimentari o energètic que ofereixen les flors als insectes que les visiten. El seu valor nutritiu és força elevat, sobretot com a font proteica, mentre que el nèctar és més aviat de tipus energètic. Segons HARBORNE (1982), les anàlisis dels constituents del pol·len indiquen que conté aproximadament entre un 16 - 30 % de proteïna, un 1 - 7 % de midó, fins un 15 % de sucres lliures, un 3 - 10 % de greixos i un 1 - 9 % de sals minerals. Per tant, la quantitat de pol·len que produeixen les flors és un indicatiu de la recompensa que poden oferir als insectes que el consumeixen directament (lepidòpters primitius, dípters i coleòpters) o bé que el recol·lecten per alimentar les larves (himenòpters, sobretot els apoïdeus). També hom ha trobat restes d'exines en el contingut intestinal de rat-penats (FAEGRI & PUL, 1979).

Tot i que, en la pol·linització entomòfila, una part del pol·len pot ésser consumida directa o indirectament pels insectes i per aquest motiu la planta n'haurà de produir més quantitat per tal d'assegurar la reproducció, la producció de pol·len i, per tant, l'índex P/O, és molt més elevat en flors amb pol·linització anemòfila (pel vent), on la pol·linització és a l'atzar, molt menys precisa i on es produeixen pèrdues molt més elevades. POHL (1937), va mesurar aquestes relacions en un llistat de plantes, on demostrava que els valors més alts corresponien a plantes anemòfiles.

La proporció entre la quantitat de pol·len i la de primordis seminals, representada per l'índex P/O, és un paràmetre força indicatiu o orientatiu sobre el sistema de reproducció de l'espècie considerada, com va demostrar CRUDEN (1976, 1977). L'índex P/O és el quocient entre el nombre de grans de pol·len d'una flor (P) i el nombre de primordis seminals o òvuls d'aquesta (O). Valors baixos d'aquest índex P/O corresponen a plantes cleistògames o autògames, en les quals les pèrdues de pol·len són mínimes, mentre que els valors alts denoten plantes al·lògames. CRUDEN (1977) va proposar uns determinats valors, que oscil·len entre 4 i 6.000, per a cada sistema de reproducció, que s'indiquen a la taula 2.4.

Taula 2.4. **RELACIÓ ENTRE L'ÍNDEX P/O I EL SISTEMA REPRODUCTIU**  
(segons CRUDEN, 1977).

<u>SISTEMA REPRODUCTIU</u>	<u>P/O *</u>
Cleistogàmia	4,7 ± 0,7
Autogàmia obligada	27,7 ± 3,1
Autogàmia facultativa	168,5 ± 22,1
Al.logàmia facultativa	796,6 ± 87,7
Al.logàmia	5859,2 ± 936,5

\* mitjana ± error estàndard

## 2.4.2. MATERIAL I MÈTODES

### 2.4.2.1. MATERIAL

El material vegetal que ha estat utilitzat per al càlcul de l'índex P/O, ha estat les poncelles de les poblacions de les tres espècies escollides per a la realització de la present Memòria, és a dir, *D. verdunense*, *D. pictum* i *D. bolosii*, descrites al capítol inicial. S'ha treballat sobre el material provinent de l'hivernacle, el qual posteriorment servirà per a l'estudi dels sistemes de reproducció (cf. capítol 4).

#### UTILLATGE

Estereoscopi binocular ZEISS model DRC  
 Microscopi òptic ZEISS  
 Glicerina  
 Pinces  
 Agulles entomològiques  
 Portaobjectes i cobreobjectes  
 DPX



#### 2.4.2.2. METODOLOGIA

Per a l'estudi de l'índex P/O s'ha seguit la pauta de BONET (1991), amb lleugeres modificacions. Hom selecciona i recollecta deu poncelles, totes elles que pertanyin a individus diferents perquè els valors obtinguts siguin més representatius, de cadascuna de les poblacions considerades. Cal que els estams estiguin ben desenvolupats però no madurs del tot, és a dir, en altres paraules, que encara no s'hagi produït la dehiscència pol.línica, ja que altrament les possibles pèrdues podrien produir resultats erronis.

Mitjançant l'ajut d'unes pinces, es desmunta la flor, es compta el nombre d'estams i s'anota en una llibreta. Tot seguit, per comptar el nombre de grans de pol.len per antera, se selecciona un estam a l'atzar, i una vegada s'ha eliminat el filament, s'introdueix l'antera dins d'una gota de glicerina que prèviament ha estat dipositada sobre un portaobjectes. Amb unes agulles entomològiques, s'esquinça l'antera, procurant buidar tot el seu contingut. Es tapa amb un cobreobjectes i es porta a terme un aixafament molt suau (si es fa fort, existeix el perill que es trenquin els grans de pol.len). BONET (1991) utilitza alcohol de 70°, com a medi per a fixar l'antera i buidar el pol.len. En provar-ho, no ens va funcionar gaire bé perquè era massa líquid i el pol.len es repartia poc uniformement. Es va optar per una altra substància que fos més viscosa i que no alterés el pol.len, com la glicerina. ROBERTSON & LLOYD (1991) empren hidròxid sòdic al 5 % per ablanir l'antera. NIETO (1991) fixa les antereres amb alcohol de 80° i les agita amb una gota de blau de cotó en lactofenol, per alliberar el pol.len, i al mateix temps, mesura la fertilitat pol.línica. En cas que es vulgui conservar, és recomanable segellar-ho amb DPX.

Els grans de pol.len es compten per mitjà d'un microscopi òptic a 100 augments, tot fent un rastreig sencer de tota la preparació. Per a facilitar la tasca es pot emprar un cobreobjectes amb reticle dibuixat. Si el recompte no es fa immediatament, amb el decurs del temps poden germinar alguns pòl.lens, però no representa cap mena de problema a l'hora de comptar. Molts autors (VALDÉS & MEJÍAS, 1988; BONET, 1991; ROBERTSON & LLOYD, 1991; NIETO, 1991) indiquen la possibilitat, quan la producció pol.línica és molt elevada, de diluir el líquid que conté la suspensió de grans de pol.len en aigua destil.lada amb una gota de detergent, i extreure'n una al.líquota mitjançant una micropipeta. Els càlculs s'efectuen tenint en compte el factor de dilució corresponent. En el nostre cas no s'ha fet, perquè creiem que el resultat podria ser una mica erroni, atesa la tendència observada que tenen els grans de pol.len a adherir-se a les parets del recipient.

La producció de pol.len total per flor s'obté de la multiplicació del nombre d'estams per la quantitat de grans de pol.len per antera.

Per a obtenir el nombre de primordis seminals o òvuls, es prenen els tres carpels de cadascuna de les poncelles anteriors, utilitzades per comptar el pol·len, i es disseccionen amb l'ajut de l'estereoscopi binocular a 40 augments. La tasca és més fàcil si es talla just per la sutura ventral. Es compten el nombre d'òvuls de cada carpel i se sumen, tot prenent-ne nota en una llibreta.

L'índex P/O s'obté per divisió de la producció pol·línica total entre el nombre de primordis seminals. Hom ha fet els càlculs per als valors individuals i, posteriorment, s'ha fet un tractament estadístic, per a calcular les mitjanes i l'error estàndard.

### 2.4.3. RESULTATS I DISCUSSIÓ

La taula 2.5. recull les dades de l'índex P/O de les poblacions estudiades. Cal remarcar que són resultats força semblants entre ells, i que el sistema reproductiu que correspondria a tots els tàxons estudiats, segons aquest índex, és l'al·logàmia. Cal tenir en compte, però, que només és una aproximació intuïtiva al sistema reproductiu i a l'assignació dels recursos sexuals, però que no sempre la realitat s'ajusta a les prediccions, com té lloc en algunes plantes com *Cistus albidus* L. o *Globularia* L. (BONET, 1991). De vegades, l'agregació del pol·len per substàncies viscloses pot esbiaixar els resultats (CRUDEN & JENSEN, 1979). A part, la mida dels grans de pol·len i de la superfície estigmàtica afecten a la quantitat de pol·len que pot arribar als primordis seminals (CRUDEN & MILLER-WARD, 1981).

Tradicionalment, el nombre d'estams ha estat un caràcter taxonòmic força utilitzat en moltes claus (BONNIER & LAYENS, 1894; BOLÒS & *et al.*, 1990) per separar algunes plantes a nivell de família. En el cas de les ranunculàcies, aquest nombre és força elevat, la qual cosa ha estat considerada un caràcter primitiu de la família, i potser per aquest motiu no se li ha atorgat gaire importància. Segons BENZING (1970), en el gènere *Delphinium* els estams es disposen en sèries, en nombre múltiple de 8, i KEENER (1976) estableix aquest caràcter com a diferencial respecte al gènere *Consolida*, on el nombre de sèries és de 5. L'espècie *D. verdunense*, presenta clarament 16 estams, *D. pictum* ofereix valors d'entre 24 i 32 i per a *D. bolosii*, entre 32 i 40 (la població prioratina, en general, sembla que en presenti més). Aquest nombre ha resultat lleugerament variable dins d'una mateixa població, probablement perquè en alguns casos no es deuen haver desenvolupat tots. Amb tot, sembla que la tendència evolutiva sigui la de reduir el nombre d'estams, si considerem que els tàxons anuals són filogenèticament més avançats.

El nombre d'òvuls o primordis seminals és força similar en *D. verdunense* i *D. pictum*, de l'ordre de 20 - 25, i una mica més elevat en *D. bolosii*, en especial en la població de La Noguera, de l'ordre 30.

Taula 2.5. CÀLCUL DE L'ÍNDEX P/O.

POBLACIONS	n	N <sup>m</sup> D'ESTAMS m ± ES (interval)	N <sup>m</sup> D'ÒVULS m ± ES (interval)	POLLEN/ANTERA m ± ES (interval)	POLLEN TOTAL FLOR m ± ES (interval)	ÍNDEX P/O m ± ES (interval)	TIPUS DE SISTEMA** REPRODUCTIU
<i>D. verdunense</i> (AP)	10	15,7 ± 0,3 (13 - 16)	20,4 ± 0,4 (19 - 22)	3.883,2 ± 121,9 (3.230 - 4.519)	60.7755,5 ± 1.606,2 (51.680 - 68.992)	2.982,4 ± 73,5 (2.669 - 3.937)	Al.logàmia
<i>D. verdunense</i> (BE)	10	15,9 ± 0,1 (15 - 16)	20,3 ± 0,9 (17 - 25)	3.759,5 ± 188,4 (3.080 - 4.982)	59.770,5 ± 3.026,1 (49.280 - 79.712)	3.009,7 ± 215,5 (2.056 - 3.936)	Al.logàmia
<i>D. pictum</i> (B)	10	26,0 ± 0,5 (24 - 28)	21,9 ± 0,9 (18 - 26)	2.602,5 ± 105,3 (2.329 - 4.982)	67.307,7 ± 1.849,4 (60.156 - 79.632)	3.109,3 ± 125,1 (2.652 - 3.936)	Al.logàmia
<i>D. pictum</i> (CT)	10	28,0 ± 0,4 (24 - 30)	26,5 ± 0,5 (24 - 32)	2.213,1 ± 47,3 (1.869 - 2.642)	61.998,4 ± 1.760,0 (50.496 - 79.250)	2.350,9 ± 65,9 (2.022 - 2.935)	Al.logàmia
<i>D. pictum</i> (CT)*	5	20,0 ± 1,0 (15 - 24)	20,0 ± 1,5 (15 - 27)	1.516,2 ± 73,6 (1.298 - 1.913)	30.620,2 ± 1.959,5 (25.960 - 38.260)	1.563,1 ± 97,1 (1.302 - 2.085)	Al.logàmia
<i>D. bolosii</i> (LN)	10	30,3 ± 0,7 (27 - 34)	31,4 ± 2,3 (21 - 41)	4.000,7 ± 309,7 (2.812 - 5.288)	121.922,6 ± 1.077,3 (75.924 - 179.792)	3.889,3 ± 187,4 (3.180 - 4.859)	Al.logàmia
<i>D. bolosii</i> (P)	10	36,9 ± 0,7 (35 - 40)	24,6 ± 1,1 (20 - 30)	4.452,6 ± 197,8 (3.700 - 5.478)	164.052,3 ± 7.584,2 (134.964 - 208.164)	6.782,1 ± 442,8 (4.976 - 9.908)	Al.logàmia

n = nombre de flors estudiades; m ± ES = mitjana ± error estàndard en cada cas.

\* Individus que habiten dins els "cocons", cavitats formades entre les roques del rasclet mallorquí.

\*\* Segons CRUDEN (1977).

En les dues poblacions de *D. verdunense* estudiades, l'índex P/O no dona diferències significatives com, en principi, era d'esperar.

En el cas de *D. pictum*, els valors de l'índex P/O són relativament propers entre les dues poblacions mallorquines, però cal remarcar la notable diferència que es produeix entre individus que pertanyen a la mateixa població, però que presenten característiques ecològiques diferents, tot i que el sistema reproductiu que al final s'arriba és el mateix. Ens estem referint a la població de Cala Tuent. Els individus que habiten entre les fissures o forats de les roques del rascler o lapiaz (conegudes amb el nom de cocons), on com ja hem indicat anteriorment, conviuen molts peus diferents en un reduït espai, provocant entre ells, d'aquesta manera, una gran competència pels recursos (llum, aigua, sals minerals, etc.). Aquestes condicions condueixen a una reducció de les dimensions evident, les fulles són més petites, les tiges considerablement més primes, la producció de flors per tija és notablement inferior (de 2 a 4 flors), per tant, no és d'estranyar que el nombre d'estams i l'índex P/O també esdevingui menor, tot i que té unes conseqüències relativament importants en la reproducció.

En *D. bolosii*, és remarcable la diferència entre els valors de l'índex P/O d'ambdues poblacions, que és gairebé del doble, provocat per un major nombre d'estams, un menor nombre d'òvuls i una producció pol.línica per antera lleugerament superior en la població del Priorat. En aquesta població, s'evidencia una tendència a presentar una morfologia lleugerament més desenvolupada (dimensions de la flor i de les lacínies de les fulles, alçada de la planta, etc. una mica més gran). Aquests valors poden estar relacionats amb la condició aneuploide del tàxon i, per tant, amb esperables alteracions en els mecanismes reproductius.

En general, els valors obtinguts són del mateix ordre que en d'altres ranunculàcies, també descrites com a xenògames i pol.linitzades per insectes, com *Actaea* o *Cimifuga* (PELLMYR, 1984, 1986).

ROBERTSON & LLOYD (1991) relacionen l'índex P/O, amb el fenomen de l'hercogàmia en diverses espècies de *Myosotis*. Com més pronunciada és l'hercogàmia, més alts són els valors d'aquest índex, i de fet això demostra que aquest sistema de dicogàmia afavoreix l'allogàmia.



## 2.5. FERTILITAT DEL POL.LEN

### 2.5.1. INTRODUCCIÓ

La producció de granes en les flors d'angiospermes depèn de la quantitat de pol.len dipositat sobre l'estigma (que està relacionat amb la mida del pol.len i la superfície estigmàtica), però també, entre d'altres factors, de la seva qualitat (WASER & PRICE, 1983, 1990). Posteriorment, aquest gra de pol.len haurà de germinar, per la qual cosa desenvoluparà el tub pol.línic que transportarà el gàmeta masculí fins a l'òvul perquè pugui tenir lloc la fecundació i formació del zigot.

Altres estudis van més enllà en la valoració d'altres paràmetres. Per exemple WASER (1991) estudia l'efecte de la distància d'encreuament en *D. nelsonii* Greene, mesurant les càrregues de pol.len i la qualitat d'aquest, mitjançant la producció de tubs pol.línics.

### 2.5.2. MATERIAL I MÈTODES

#### 2.5.2.1 MATERIAL

El pol.len emprat per a mesurar la seva fertilitat prové de les poncelles utilitzades en l'apartat de l'índex P/O. Han estat conservades dins de sobres de paper, en un lloc airejat i sec, per evitar possibles contaminacions.

#### UTILLATGE

- Microscopi òptic ZEISS
- Pinces
- Agulles entomològiques
- Blau de Cotó
- Portaobjectes i cobreobjectes

#### 2.5.2.2. METODOLOGIA

Hom selecciona, a l'atzar, una antera de les poncelles que es volen estudiar, es col.loca sobre un portaobjectes, on prèviament s'ha dipositat una gota de blau de cotó. Mitjançant les agulles entomològiques s'esquinça l'antera, procurant buidar el seu contingut i s'intenta



repartir homogèniament per la preparació. Tot seguit, es tapa el conjunt amb un cobreobjectes i es practica un aixafament molt suau perquè no es trenquin els grans de pol.len. Cal esperar uns minuts per deixar que el colorant actui, penetrant dins de les cèl.lules i tenyint llurs citoplasmes. Transcorregut aquest període de temps, ja es podrà observar al microscopi òptic a 100 augments. Els grans de pol.len no avortats presenten el citoplasma tenyit d'un color blau fosc. Cal remarcar que aquests pòl.lens seran probablement viables, però que per poder-ho confirmar, caldria dur a terme assaigs de germinació de pol.len. Es compten 500 grans, tot rastrejant la preparació, i es calcula el percentatge de viables i de no viables.

### 2.5.3. RESULTATS I DISCUSSIÓ

La taula 2.6. recull les dades sobre els percentatges de fertilitat del pol.len, per a les diverses poblacions de *Delphinium* estudiades. Són resultats força alts, essent la població de *D. pictum* de Cala Tuent, la que ha donat un valor més baix. Cal tenir en compte, però, que segurament no tots els pòl.lens arribaran a desenvolupar el tub pol.línic, i per tant, aquest valor podria esdevenir més baix.

Malauradament, no disposem de massa dades bibliogràfiques sobre fertilitat del pol.len per poder comparar els resultats obtinguts. JANKUN (1975) en un estudi citoembriològic sobre *Delphiniums* híbrids infectats amb un virus, parla d'un 96-98 % de fertilitat dels grans de pol.len de *D. oxysepalum* Borb. et Pax i *D. elatum* L., i entre un 91-93 % dels híbrids normals obtinguts per encreuaments entre aquests dos. Són valors força similars als nostres. Després de la infecció provocada pel virus, el percentatge de grans de pol.len viables disminueix a un 52,9 %. La tècnica emprada per aquest autor per examinar la fertilitat pol.línica ha estat mitjançant tincions amb carmí acètic.

LEWIS & EPLING (1959) parlen d'un 75 % de pol.len fèrtil en *D. recurvatum* Greene i *D. hespericum* f. *pallescens* Ewan, però no especifica quin mètode emprà per calcular-ho.

GAGE (1953), en un estudi sobre hibridació en *D. belladonna* Hort. ex Berg., relaciona el nivell de ploïdia dels parentals i els híbrids, amb la fertilitat del pol.len. En el cas dels parentals, els diploides (*D. grandiflorum* L. i *D. cheilantum* Fisch. ex DC.) són els que presenten un nivell de viabilitat del pol.len més alta, entre un 92 - 98 %, que els tetraploides (*D. elatum* L.) amb un marge més ampli, 60 - 98 % i que els hexaploides (*D. formosum* Boiss. et Huet. i *D. barlowii* Hort.), entre un 25 - 80 %. En els híbrids, els valors disminueixen de manera significativa, en especial els triploides, la qual cosa indica que seran menys efectius reproductivament.

Taula 2.6. ESTUDI DE LA FERTILITAT DEL POLLEN.

POBLACIONS	% DE POLLEN FÈRTIL
<i>D. verdunense</i> (AP)	96,2
<i>D. verdunense</i> (BE)	94,2
<i>D. pictum</i> (B)	97,8
<i>D. pictum</i> (CT)	88,8
<i>D. pictum</i> (CT)*	96,6
<i>D. bolosii</i> (LN)	93,6
<i>D. bolosii</i> (P)	96,4

L'objectiu primari d'aquestes proves de viabilitat, com bona part de les practicades en el capítol de citogenètica (*cf.* capítol 6), ha estat el d'eliminar possibles causes de minva de l'èxit reproductiu dels encreuaments que, en cas que es produeixin, puguin ser atribuïts directament a causes genètiques i no a deficiències dels progenitors. Tot i que els resultats de fertilitat per aquest sistema poden donar falsos positius, tot sembla indicar que es tracta de poblacions relativament equilibrades, fins i tot en les poblacions aneuploides de *D. bolosii*.

### **3. GERMINACIÓ I CREIXEMENT**

### 3.1. INTRODUCCIÓ

En aquest capítol, ens proposem d'aprofundir en el coneixement de les taxes de germinació de les poblacions anuals i de les que, a priori, consideràvem biennals, que s'han escollit per a la realització d'aquesta Memòria. Posteriorment hom intentarà fer-les créixer, per estudiar-ne la fenologia. L'interès fonamental d'aquest estudi sobre la germinació, es deu, essencialment, a tres motius:

a) En primer lloc, per tal d'esbrinar com funciona en aquestes espècies, la qual cosa ens ha conduït a estudiar el poder germinatiu de les granes i el seu desenvolupament en el temps. A Anglaterra, un país amb força tradició en el conreu de *Delphinium* amb finalitats ornamentals per jardineria, aquests aspectes han estat ampliament estudiats en el grup de *D. elatum* L. i les seves formes híbrides i "cultivars" (cf. *Delphinium Society Year Books*). Tanmateix, hom disposa de molt poques dades sobre les espècies silvestres, tot i que es tracta d'un paràmetre de gran interès per als estudis biosistemàtics i de gran transcendència en un estudi sobre la reproducció, de la qual representa el millor índex sobre l'èxit o el fracàs de tot el procés.

b) En segon terme, interessa cercar les òptimes condicions de germinació, atesa la necessitat d'obtenció d'un nombre suficient d'individus que assoleixin la floració, per a realitzar els posteriors estudis dels sistemes de reproducció (cf. capítol 4). Per tant, és un interès purament instrumental, de cara a garantir el proveïment de material per a qualsevol estudi amb planta viva.

c) Per últim, les taxes de germinació poden esdevindre una eina força efectiva per a valorar la viabilitat de les granes obtingudes en els encreuaments. LEWIS & EPLING (1959) en un treball sobre una espècie d'origen híbrid, *D. gypsophilum* Ewan, utilitzen com a paràmetres per a mesurar la fertilitat dels encreuaments, el nombre de granes produïdes per fol·licle i els percentatges de germinació. LEGRO (1961), en experiències d'híbridació entre espècies diploides i tetraploides de *Delphinium*, empra, com a mesura de viabilitat, el nombre de plàntules germinades referides al nombre de granes produïdes. GAGE (1953), en un altre estudi, en aquest cas sobre l'híbrid hexaploide *Delphinium x belladonna* Hort. ex Bergm., relacionava el percentatge de germinació de les granes provinents dels encreuaments experimentals amb el nombre de cromosomes. En qualsevol cas, els resultats de qualsevol encreuament s'han de referir a un patró de germinació d'individus normals que ha calgut establir prèviament.

En el cas de les espècies perennes, el material vegetal adult s'ha obtingut per trasplantament d'individus recollits directament del camp. Es va creure convenient fer-ho

d'aquesta manera, donat que el seu cicle era més llarg, la qual cosa implicava, molt probablement, que el primer any només desenvoluparien la roseta basal i no arribarien a florir. Malgrat tot, hom va assajar unes granes de *D. bolosii* (LN), tant en placa de Petri com a l'hivernacle, per a investigar com tenia lloc, però no amb la finalitat d'obtenir material.

Disposem de poques referències bibliogràfiques. Dins de la tribu, TRIFONOVA (1986), assenyala les característiques de la germinació d'alguns membres de *Consolida* (DC.) S. F. Gray i *Aconitella* Spach, dos gèneres molt afins a *Delphinium*, i que sovint s'hi han inclòs. Al nostre Laboratori, s'han realitzat estudis semblants en algunes espècies d'*Artemisia* L. (VALLÈS, 1988).

## 3.2. MATERIAL I MÈTODES

### 3.2.1. MATERIAL

Les granes utilitzades per a les proves de germinació i posterior obtenció de material vegetal per a realitzar els estudis de sistemes de reproducció provenen de dues poblacions de *D. verdunense* (AP i BE), de dues poblacions de *D. pictum* (B i CT) i d'una de *D. bolosii* (LN), descrites al capítol 1.

### Utilatge per als assaigs de germinació

#### A) EN PLACA DE PETRI:

- Plaques de Petri estèrils
- Paper de filtre porós
- Paper setinat
- Aigua destil·lada (prèviament bullida)
- Pipeta Pasteur
- Pinces
- Lampareta d'alcohol
- Parafilm
- Retolador de vidre

#### B) A L'HIVERNACLE:

- Germinadors ( de 10 x 6 unitats de 4 x 4 x 5 cm)
- Mescla de torba amb terra volcànica (en proporció 2:1)
- Protector de plàstic
- Etiquetes
- Testos (de 10 cm de diàmetre)
- Mànega amb aspersionador



### 3.2.2. METODOLOGIA

Les granes emprades provenen en la seva totalitat de poblacions naturals i han estat recol·lectades directament del camp, per nosaltres mateixos, durant l'estiu (agost i setembre de 1991) a les localitats descrites anteriorment, excepte les de *D. bolosii* (LN) que provenen de dos individus trasplantats del camp, que han florit i fructificat en testos.

Per dur a terme la seva recol·lecció, es trien els fol·licles més madurs que estiguin a punt d'obrir-se o ja oberts (si encara no els hi han caigut les granes), s'arrenquen, es deixen secar a temperatura ambiental per afavorir la seva dehiscència i es desgranen. Amb molta cura, se separen les granes de les restes de fol·licle i es conserven en un flascó de vidre ben sec i net, on prèviament, s'hi ha dipositat una bosseta de silicagel per a evitar al màxim la humitat, factor que podria facilitar l'aparició de fongs, la qual cosa faria davallar sensiblement la seva capacitat germinativa. Els flascons de vidre, ben tapats, es col·loquen dins d'un refrigerador (a 4° C) fins el moment de la sembra.

Les granes de *D. pictum* de la població de prop de Cala Tuent (Mallorca), cedides pel Museu Balear de Ciències Naturals (Sóller), han rebut un tractament diferent. Es recol·lecten, es desgranen, se separen de les restes de fol·licle per tenir-les ben netes, i es mantenen 24 hores a temperatura ambiental. Transcorregut aquest període de temps, es procedeix a deixar-les durant una setmana dins d'un dessecador, la base del qual conté aproximadament un quilo de silicagel, i on es fa el buit. La funció d'aquest dessecador és la d'assolir una deshidratació de les granes relativament ràpida, fins a uns nivells d'humitat d'un 2 o 3 %. Posteriorment, es col·loquen dins de tubs de vidre tancats a la flama, que també contenen silicagel a la base (uns 2 cm), per emmagatzemar-les fins el moment de ser emprades. Per facilitar el seu transport fins a l'indret de la sembra i conservar la deshidratació, s'introdueixen dins de sobres de paper d'alumini que s'envasen al buit, mitjançant termosegellació.

#### **Metodologia per als assaigs de germinació**

##### **A) EN PLACA DE PETRI:**

Hom ha seguit la pauta d'OLIVA (1990), que consisteix essencialment en l'ús de paper setinat, a part del paper de filtre habitual (en proporció 1:4 i col·locant a dalt el més setinat, que impedeix la penetració i proliferació dels pèls absorbents), i amb una especial atenció a la prevenció de possibles contaminacions (treballant prop de la flama, esterilitzant el material utilitzat i procurant mantenir les plaques de Petri el menor temps obertes durant totes les operacions).

El paper, col·locat dins de la placa de Petri, ha d'estar ben impregnat d'aigua, que prèviament s'ha bullit per esterilitzar-la. S'ha d'evitar, però, que no hi resti líquid sobrenedant. Mitjançant l'ajut d'unes pinces, s'hi han dipositat les granes en un nombre conegut, procurant que quedin el més espaiades possible. En alguns casos s'ha optat per segellar les plaques amb parafilm per a reduir el risc de contaminació fúngica. Cal anar comprovant, periòdicament, que el nivell hídric sigui adient i, si és necessari, afegir-hi més aigua tot controlant, al mateix temps, la contaminació.

El primer assaig de germinació es va iniciar el dia 18/10/1991. Es van dipositar les granes, que provenien directament del refrigerador, sobre les plaques de Petri, les quals es van deixar a temperatura ambiental (aproximadament de 18 a 20° C) dins d'un calaix, a les fosques.

Donat el poc èxit de germinació obtingut en el transcurs de la investigació i l'alt grau de contaminació fúngica, es va pensar en la possibilitat de segellar les plaques amb parafilm. D'aquesta manera, s'aconseguia evitar la pèrdua d'aigua per evaporació i així no calia obrir tant sovint les plaques per afegir-ne més, disminuint una possible font de contaminació. A part, es mantenia més hermètic, dificultant la penetració de fongs exteriors.

En un segon assaig per intentar millorar el rendiment, que tingué lloc a partir del 3/12/1991, es va practicar un tractament de calor a les granes. Aquestes, després de romandre un temps al refrigerador, es van dipositar en les plaques de Petri, com hem descrit anteriorment, es van segellar i es van introduir dins d'una estufa de germinació durant un mes, a una temperatura constant de 30° C. Transcorregut aquest període, es van deixar a temperatura ambiental i dins d'un calaix.

Es va dur a terme un tercer assaig, que s'inicià el dia 10/2/1992, perquè el rendiment seguia essent baix. Es va pensar en modificar les condicions de temperatura i llum per intentar reproduir les condicions naturals, de dues maneres diferents:

a) Les plaques sembrades amb granes provinents del refrigerador, segellades amb parafilm, se'ls hi va realitzar un tractament cíclic. Durant el dia, es van deixar a temperatura ambiental i llum solar (no s'amaguen en cap calaix), i per la nit es van col·locar dins el refrigerador (a 4° C) i a les fosques.

b) Les plaques, preparades de la mateixa manera que en l'apartat anterior, es van portar a l'hivernacle. La variació tèrmica oscil·lava entre els 1 - 2° C de primera hora del matí fins als 25 - 30° C de l'hora de màxima insolació (al migdia). També es produïa variació lumínica, la pròpia del dia.

En cap cas hom ha utilitzat cap fitohormona (per estimular la germinació), ni cap antifúngic (per prevenir la contaminació) per no alterar artificialment les granes, atès que ens interessa obtenir un patró d'índexs de germinació en condicions naturals.

#### B) A L'HIVERNACLE:

L'estudi s'ha dut a terme a l'hivernacle del Laboratori de Botànica de la Facultat de Farmàcia de la Universitat de Barcelona. La sembra es va realitzar el dia 20/1/1992. Remarquem aquesta dada atès que els resultats s'expressen en dies a partir de la sembra.

Els 4 germinadors emprats són de plàstic negre, de 60 unitats cadascun, de 4 x 4 x 5 cm, perforats a la base. És aconsellable enterrar els germinadors lleugerament per afavorir la retenció de calor; s'omplen amb una mescla de torba (molt rica en matèria orgànica, de consistència molt flonja) i terra volcànica (material molt pedregós, que li dóna cos i millora considerablement el drenatge), en una proporció de 2:1, fins que manca 1 cm, aproximadament, d'alçada. Abans de sembrar, s'empapa bé d'aigua. S'introdueixen 2, 3 o 4 granes per unitat, procurant que quedin separades, per facilitar el trasplantament a testos en una fase posterior. S'acaba d'omplir amb la mescla de torba-terra volcànica i es torna a regar amb aspersió.

En una llibreta, cal anotar el número exacte de granes que es sembren en cada unitat i a quina població corresponen per poder dur a terme el posterior seguiment. Per facilitar la tasca, es sembren línies senceres amb granes de la mateixa població i s'indiquen amb etiquetes.

A l'inici, i durant un període aproximat d'unes tres setmanes, es va col·locar un protector de plàstic que tapava els quatre germinadors, la funció del qual era la de mantenir la humitat i l'escalfor, dos factors que sembla que afavoreixen la germinació. Els germinadors en ésser de color negre, també facilitaven la retenció de calor.

El ritme de reg és d'unes tres vegades per setmana, és a dir, cada dos o tres dies. Cal fer-ho de manera molt suau, ruixant amb una mànega que posseeixi un dispositiu que permeti convertir el raig en una pluja fina. S'haurà d'anar més en compte quan comencin a aparèixer els primers cotilèdons, ja que són estructures fràgils que es poden desenterrar amb molta facilitat.

Per a estudiar com té lloc la germinació i el creixement, cal fer un seguiment diari tot prenent nota del dia d'aparició dels cotilèdons i del dia d'aparició de la primera fulla de la roseta basal. Quan aquesta ha atès un grau de desenvolupament prou avançat per assegurar

la supervivència de la plàntula (estimat en quatre o cinc fulles de roseta per *D. verdunense* i un parell per *D. pictum*), ha estat repicada a un test de 10 cm de diàmetre, on ha tingut lloc el desenvolupament posterior. Es pren nota de la data d'eclosió de la primera flor.

Finalment, el material obtingut ha estat destinat a les experiències del capítol 4.

### 3.3. RESULTATS

#### 3.3.1. GERMINACIÓ EN PLACA DE PETRI.

La taula 3.1. recull les dades dels diferents assaigs de germinació en placa de Petri. A la vista dels resultats, es pot deduir que el poder germinatiu és molt més baix que en els germinadors. Atès que el període de germinació és relativament llarg, aproximadament un mes, existeix més risc de contaminació fúngica, per això cal extremar les precaucions. S'ha comprovat que segellant les plaques amb parafilm millora ostensiblement aquest problema. En general, *D. verdunense* ha respost lleugerament millor. No s'observen grans variacions quan es modifiquen les condicions de llum i temperatura.

#### 3.3.2. GERMINACIÓ A L'HIVERNACLE.

Abans d'iniciar aquest apartat, cal comentar que les dades obtingudes són del tot comparables perquè les granes han estat sotmeses a les mateixes condicions i a idèntics tractaments, a part que han estat sembrades el mateix dia.

La taula 3.2. recull les dades sobre la germinació, l'aparició de la primera fulla i l'aparició de la primera flor de les dues poblacions de *D. verdunense* i les dues de *D. pictum*. S'indica el nombre d'individus estudiats de cada població, l'interval i la mitjana  $\pm$  error estàndard dels dies en que té lloc cada fenomen.

La taula 3.3. indica les dades (expressades en percentatge) sobre el poder germinatiu de les granes i la mortalitat dels cotilèdons. S'han afegit les dades (també en forma de %) referides al bloqueig temporal de l'aparició dels cotilèdons per part de la coberta de la grana que detura la progressió de la germinació entre una i dues setmanes tot i que, finalment, s'acaba desprenent.



Taula 3.1. ASSAIGS DE GERMINACIÓ EN PLACA DE PETRI.

Condicions* tractament	Poblacions escollides	n <sup>br</sup> de granes semmbrades	n <sup>br</sup> de granes germinades	% de germinació	m ± ES**
1	<i>D. verdunense</i> (AP)	10	1	10	21
	<i>D. verdunense</i> (BE)	10	0	0	---
	<i>D. pictum</i> (B)	10	0	0	---
	<i>D. bolosii</i> (LN)	10	0	0	---
2	<i>D. verdunense</i> (AP)	10	1	10	48
	<i>D. verdunense</i> (BE)	10	0	0	---
	<i>D. pictum</i> (B)	20	4	20	54,0 ± 3,5
3a	<i>D. verdunense</i> (AP)	10	3	30	35,3 ± 4,05
	<i>D. pictum</i> (B)	10	0	0	---
3b	<i>D. verdunense</i> (AP)	10	1	10	30
	<i>D. pictum</i> (B)	10	0	0	---

\* Vegeu condicions en el text (3.2.2.)

\*\* m ± ES = mitjana ± error estàndard dels dies en que té lloc la germinació.

Taula 3.2. ESTUDI DE LA GERMINACIÓ I EL DESENVOLUPAMENT EN *D. verdunense* i *D. pictum*.

POBLACIONS	GERMINACIÓ			1era. FULLA			1era. FLOR		
	n	interval	m ± ES	n	interval	m ± ES	n	interval	m ± ES
<i>D. verdunense</i> (AP)	121	21-56	29,83 ± 0,66	116	35-83	47,83 ± 0,85	26	159-204	177,35 ± 2,68
<i>D. verdunense</i> (BE)	102	21-49	28,66 ± 0,59	95	35-59	42,90 ± 0,56	50	147-195	164,52 ± 1,84
<i>D. pictum</i> (B)	125	28-53	35,03 ± 0,39	118	49-77	59,98 ± 0,64	50	145-190	172,30 ± 1,09
<i>D. pictum</i> (CT)	139	28-59	41,17 ± 0,47	129	51-85	68,12 ± 0,73	35	168-207	187,02 ± 1,15

n = nombre d'individus estudiats; m ± ES = mitjana ± error estàndard; Els resultats s'expressen en dies a partir de la sembra (20/1/1992).

Taula 3.3. ASSAIGS DE GERMINACIÓ A L'HIVERNACLE.

POBLACIONS	n <sup>br</sup> de granes inicials	n <sup>br</sup> de granes germinades	% de germinació	% de mortalitat dels cotilèdons	% d'eclosió tardana dels cotilèdons
<i>D. verdunense</i> (AP)	171	121	70,8	8,3	1,6
<i>D. verdunense</i> (BE)	174	102	58,6	17,6	5,9
<i>D. pictum</i> (B)	144	125	86,8	6,4	1,6
<i>D. pictum</i> (CT)	186	139	74,7	7,2	2,15

Les corbes de les figures 3.1., 3.2., 3.3. i 3.4. obtingudes amb el programa informàtic CSS, representen d'una manera gràfica les dades de la taula 3.2. L'ajustament dels punts s'ha realitzat mitjançant el sistema dels mínims quadrats ("least squares") amb un coeficient d'inflexibilitat ("stiffness coeficient"), calculat empíricament, de 0,1. Aquest paràmetre, amb un interval de valors comprès entre 0 i 1, determina el grau amb el qual la corba ajustada depèn de les configuracions locals dels valors analitzats. Quan aquest paràmetre és baix, la corba està més influenciada pels valors individuals dels punts, obtenint-se molts pics, mentre que si és alt les corbes seran molt més planes.

Pel que fa referència a la germinació, s'observa que les poblacions de *D. verdunense* germinen abans que les de *D. pictum*. Aquestes darreres, a diferència de les altres, presenten dos ritmes lleugerament diferents, una població més ràpida i una de més lenta, tot i que en ambdues els intervals són molt similars.

Quant a l'aparició de la primera fulla de la roseta basal, també són les poblacions de *D. verdunense* les més ràpides, tot i que en aquest cas, els ritmes són lleugerament diferents. Els intervals entre les dues poblacions d'aquesta espècie són notablement desiguals. En les de *D. pictum*, els ritmes també són lleument diferents, però llurs intervals són molt més semblants. El nombre d'individus ha disminuït, encara que de manera poc significativa, degut a la mortalitat d'alguns cotilèdons (cf. taula 3.3.).

Pel que fa a l'aparició de la primera flor, es produeix un anivellament entre ambdues espècies. Tot i això, cada població té un ritme diferent. *D. pictum* (B) és el primer en florir. Els intervals són aproximadament del mateix ordre. El nombre d'individus és considerablement inferior perquè només es trasplanten a testos 50 plàntules de cada població per a les posteriors experiències. Alguns, però, no arriben a florir o no resisteixen el trasplantament. Aquest fenomen és força acusat en el cas de *D. verdunense* (AP).

En el cas de *D. pictum* (CT) tot el procés de germinació i desenvolupament és més lent. Una possible explicació seria el tractament inicial diferent que han rebut aquestes granes (han estat deshidratades i emmagatzemades al buit). Aquest fenomen també s'ha observat en d'altres granes de *D. pictum* no utilitzades en l'experiment, que han sofert el mateix tractament.

Observant les gràfiques de germinació i desenvolupament (cf. figures 3.1., 3.2., 3.3. i 3.4.), se'n pot extreure que les quatre poblacions presenten un pic de germinació força marcat. En l'aparició de la primera fulla també apareix un pic pronunciat, tot i que en les de *D. pictum* tenen pics secundaris. També es dedueix que existeix un solapament més acusat entre la germinació i l'aparició de la primera fulla en les dues poblacions de *D. verdunense*

Figura 3.1. GERMINACIÓ I DESENVOLUPAMENT DE *D. verdunense* (AP).

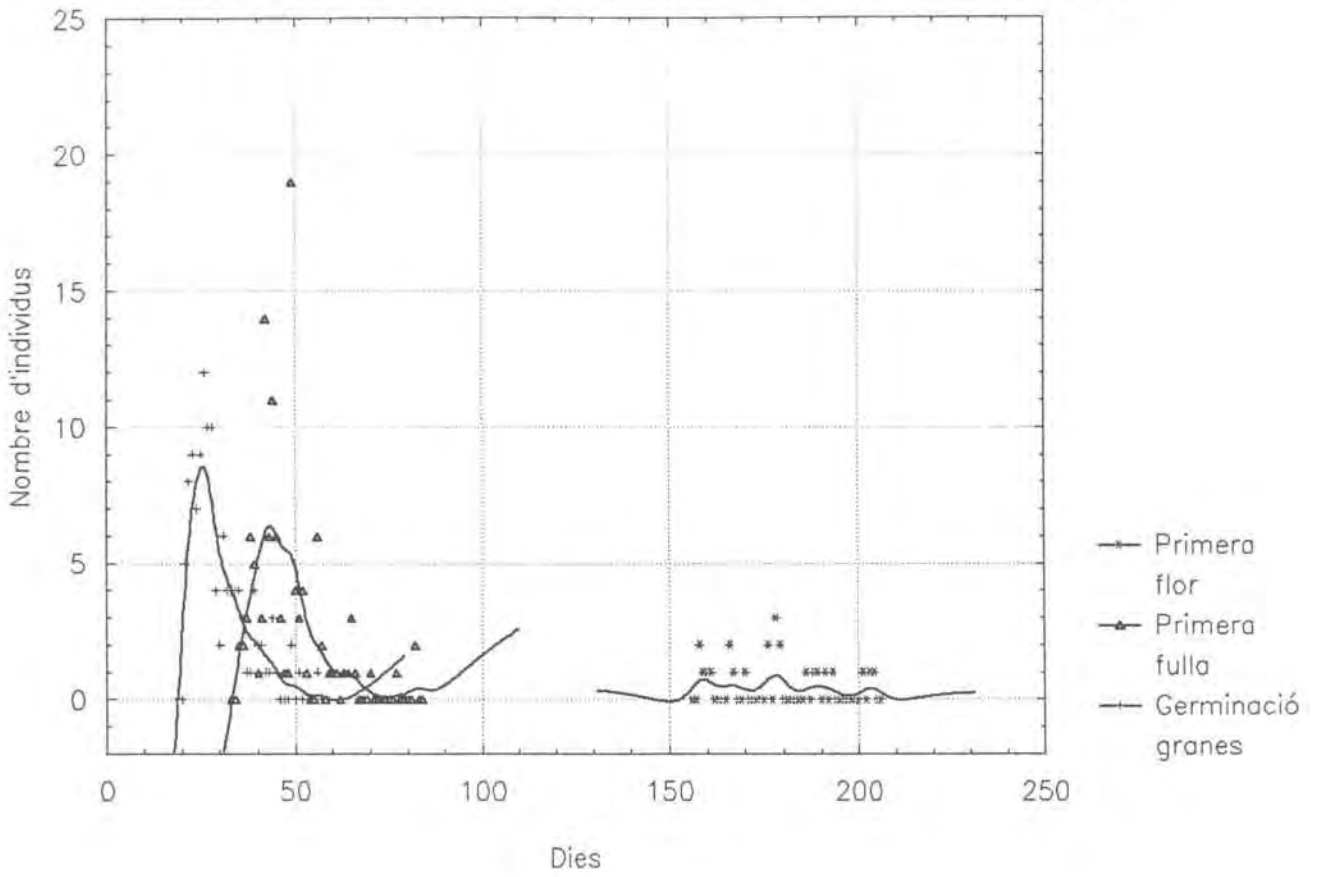


Figura 3.2. GERMINACIÓ I DESENVOLUPAMENT DE *D. verdunense* (BE).

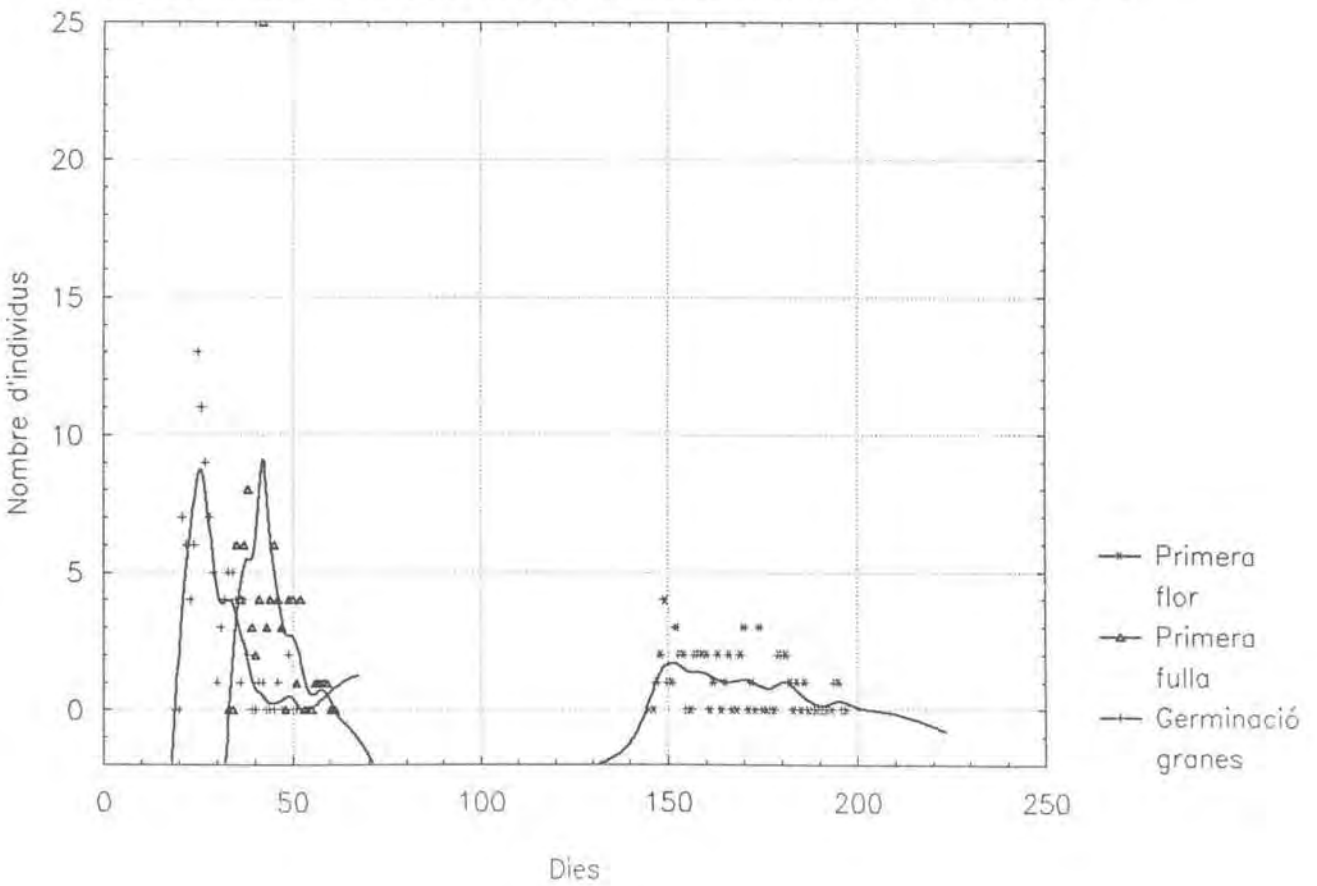




Figura 3.3. GERMINACIÓ I DESENVOLUPAMENT DE *D. pictum* (B).

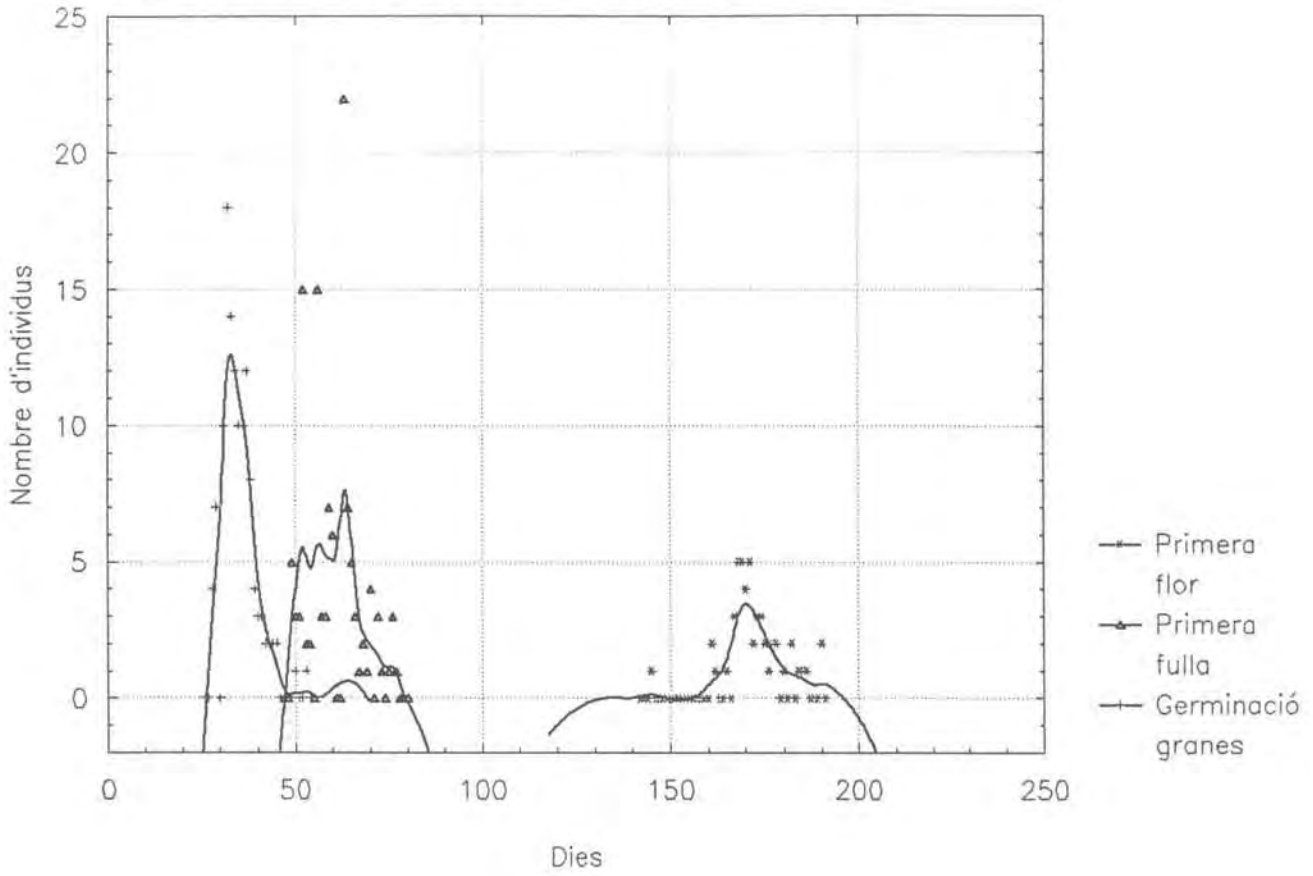
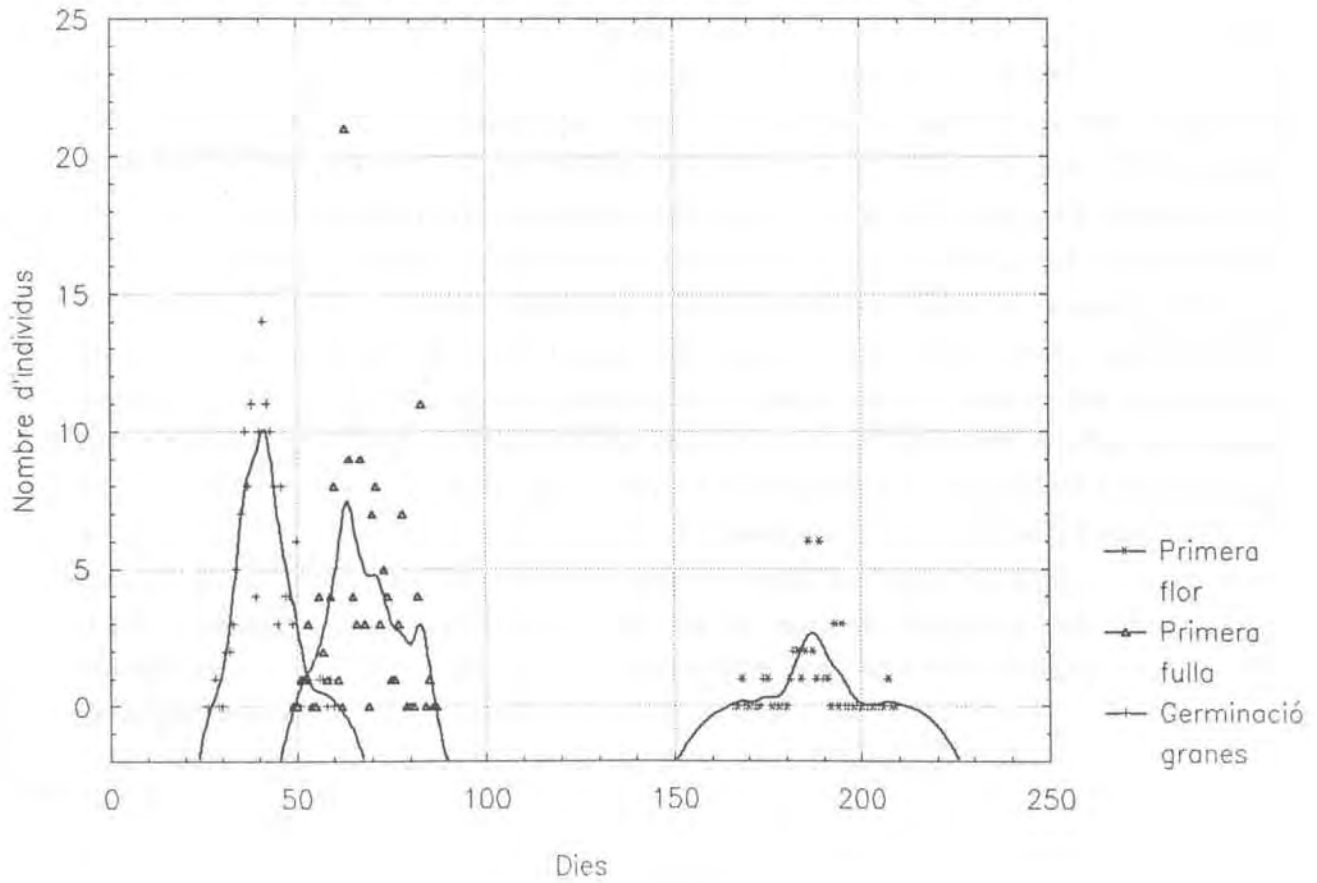


Figura 3.4. GERMINACIÓ I DESENVOLUPAMENT DE *D. pictum* (CT).



que en les de *D. pictum*. En la floració, les poblacions de *D. pictum* presenten un pic força clar mentre que les de *D. verdunense*, la corba és més aplanada i amb més pics.

Pel que fa a les dades de percentatge de germinació es pot extreure que ambdues espècies tenen poders germinatius relativament alts en aquestes condicions. Potser caldria destacar la població de *D. verdunense* (BE) que és la que el té més baix, i que curiosament té el percentatge de mortalitat dels cotilèdons més alt, en comparació a les altres. També és on es dona en major proporció el fenomen que abans esmentàvem, referible a un menor vigor de les plantes.

En el cas de l'espècie perenne *D. bolosii*, els resultats de germinació tant en placa de Petri com a l'hivernacle han estat molt negatius. De fet, no en va arribar a germinar cap.

### 3.4. DISCUSSIÓ

El període de germinació d'aquestes espècies és relativament llarg, d'aproximadament un mes, la qual cosa pot ser deguda a una manca de maduresa de les granes, ja que en general, els embrions de les ranunculàcies completen el seu creixement i diferenciació morfològica amb certa lentitud (TAMURA & MIZUMOTO, 1972).

A la vista dels resultats obtinguts, les espècies anuals (*D. verdunense*) germinen més ràpidament que les que en principi havíem considerat biennals, però que han mostrat un comportament totalment anual (*D. pictum*), fet que comentarem més endavant. No disposem de dades de les espècies perennes, puix que no va arribar a germinar-ne cap. Aquests fets depenen, en gran part, de les característiques fisiològiques de l'embrió, però també es podria relacionar amb l'estructura de la coberta de la grana. En aquest sentit, TRIFONOVA (1990) indica la tendència evolutiva de les característiques morfo-anatòmiques de les granes en la tribu *Delphineae*, que es pot resumir en una disminució del gruix de la testa degut a una disminució de la mida de les cèl·lules. Per contra, però, es produeix una tendència a augmentar el gruix de les parets de l'epidermis d'aquesta capa. A més, té lloc un canvi en la distribució de les cèl·lules que passen de tenir una disposició tangencial a radial. Dins de cada gènere, s'entreveu, a grans trets, una tendència a la reducció de la mida de la grana i quant a l'ornamentació, una tendència a l'aparició d'expansions laminars que poden estar implicades amb les estratègies de dispersió de les granes. Tot això, ens porta a considerar la possibilitat d'una disminució considerable del gruix de la testa de la grana dels tàxons anuals (filogenèticament més evolucionats), que comportaria un cert estalvi energètic en el moment de la germinació.

*D. verdunense* presenta granes de petites dimensions, de forma subglobosa, recobertes d'esquames soldades, disposades helicoidalment, fortament imbricades, que a la base defineixen una cavitat on es forma una cambra d'aire que afavoreix la dispersió anemocora (BLANCHÉ, 1991). El funicle, zona on s'uneix el primordi seminal al fol.licle, se situa en el punt diametralment oposat a aquesta cavitat. La cicatriu que queda quan es desprèn la grana madura s'anomena hílum i és per on té lloc l'aparició de la radícula i dels cotilèdons.

Les granes de *D. pictum* tenen unes majors dimensions i són de forma sectoesferoïdal, sense esquames, amb una ornamentació reticulada. Es disposen dins el fol.licle capicuaades per tal d'encaixar al màxim i aconseguir encabir-hi el major nombre de granes possible per fol.licle en el mínim espai. Per aquest motiu les formes són una mica variables. Aquest fet pot tenir una certa transcendència en l'estratègia reproductiva, atès que aquesta disposició particular no ha estat retrobada en cap altre tàxon de la tribu *Delphineae*, fora del subgènere *Staphisagria*. Representa, doncs, una millora notable en l'eficàcia dels recursos destinats a la producció de diàspores. Si hom observa detingudament els extrems d'aquestes granes, és fàcil detectar-hi una lleugera disimetria. La zona de l'hílum, que és per on germina, és l'àpex perceptiblement més angulós.

Els percentatges de germinació són significativament molt més elevats en els germinadors en condicions d'hivernacle que en placa de Petri. Aquest fet ens resulta de difícil interpretació. L'explicació cal cercar-la en l'única condició diferencial: la terra, atès que hom ha assajat la germinació en plaques de Petri dins de l'hivernacle amb molt poc èxit. Es podria aventurar l'existència de microorganismes del sòl que afavorissin el trencament dels teguments de la grana, bé l'efecte de filtre selectiu de la terra sobre la captació de les radiacions solars (PEÑUELAS, com. pers.), bé l'existència de precursors de fitohormones, o una combinació d'aquests i d'altres factors.

Les poblacions de *D. pictum* presenten percentatges de germinació més alts que les de *D. verdunense*, la qual cosa reforça la idea que té un comportament més d'annual que de biennal. A més, tots els nostres exemplars han florit el primer any i s'han trobat plecs d'individus florits que encara conservaven les fulles cotiledonars (BLANCHÉ, 1991). Tot això contradiu ABOUCAYA (1983) i VELARQUE *et al.* (1991) que defineixen el cicle d'aquesta planta com a biennal, i que fins i tot utilitzen aquest caràcter, entre d'altres, per diferenciar-lo de *D. requienii* DC., de cicle estrictament anual.

En la bibliografia hem trobat escasses dades referents a percentatges de germinació de granes procedents de poblacions naturals de *Delphinium*, per poder-ho comparar. BLANCHÉ (1991), obté poc èxit en les proves de germinació d'algunes espècies de *Delphinium*, i assoleix els millors resultats en *D. verdunense* i *D. pictum*. JANKUN (1968) parla d'un 74 % en *D. grandiflorum* L., assajat en placa de Petri amb un període de germinació d'uns 8 dies.

EPLING & LEWIS (1952), en experiències de repoblació de colònies d'individus de la secció *Delphinastrum* (plantes de cicle perenne, com *D. bolosii*) que duraren sis anys, varen aconseguir fer germinar 76 granes de 331.000 sembrades. Amb tot, són més abundants les dades de germinació de granes produïdes en encreuaments experimentals d'hibridació (LEWIS & EPLING, 1959; GAGE, 1953; LEGRO, 1961) on la resposta germinativa depèn d'altres consideracions, fonamentalment, genètiques (*cf.* capítol 4).

De fet, és força predible que els resultats de la germinació siguin molt més elevats en les espècies anuals que en les perennes. D'una banda, perquè en les primeres la perpetuació de l'espècie depèn, fonamentalment, de la grana i per l'altra, la seva ecologia (males herbes de sembrats i rostolls, marges de camins, etc.) pressuposa una gran capacitat colonitzadora.

Una possible causa que algunes granes no arribin a germinar pot ser la quantitat d'àcids grassos que conté l'endosperma, comprovat per BLANCHÉ (1991) mitjançant una tinció amb Sudan III. El seu enrancament o oxidació provocaria la pèrdua de poder germinatiu.

L'estudi comparat dels gràfics de les figures 3.1., 3.2. a 3.3., 3.4. ens permeten establir dos models de desenvolupament ben diferenciats per a *D. verdunense* i *D. pictum*.

L'inici del procés arrenca més ràpidament en *D. verdunense*. No només la germinació es produeix abans, sinó també la primera fulla de roseta basal apareix en pics anteriors als 50 dies des de la sembra. Estratègicament, aquest comportament permet una resposta ràpida a unes condicions favorables per a la germinació, necessària en els teròfits mediterranis. Per la seva banda, *D. pictum* triga més en germinar, però també a produir la primera fulla de roseta (pics entre 60-70 dies).

Aquestes diferències són més marcades si ens referim a l'aparició de la primera flor. Les poblacions de *D. pictum* presenten gràfics (figures 3.3. i 3.4.) clarament en pic, que permeten afinar molt en la fenologia i que representen explosions molt ben localitzades en el temps. Això significa un control molt precís, i d'altra banda ben necessari, quan ha de competir amb d'altres tàxons simpàtrics (*D. staphisagria* L.) amb els quals presenta aïllament fenològic (BLANCHÉ, 1991). En canvi, *D. verdunense* presenta gràfics molt més plans, amb una dispersió molt més gran de la data d'aparició de la primera flor en una mateixa població. En aquest cas, es perfila una estratègia ben diferent, de floració esglaonada de la població que inicia un ritme lent i llarg d'eclosió successiva de les flors en les múltiples ramificacions de la inflorescència, a diferència del raïm únic -o gairebé- de *D. pictum*. Així, la disponibilitat en el temps perquè actuïn els pol.linitzadors és més gran, però també ho és la probabilitat d'autofecundació o geitonogàmia (RICHARDS, 1986).



Les nostres poblacions de *D. verdunense*, sembrades a l'hivernacle, inicien la floració a meitats de juny i acaben a finals d'agost. S'ha observat, amb certa freqüència, en diverses poblacions silvestres i depenent de les condicions climatològiques (sobretot si són abundants les precipitacions a la tardor), que cap a finals de setembre o principis d'octubre en alguns individus es dona una segona floració, molt menys intensa. Coexisteixen aleshores, sobre la mateixa planta, poncelles i fol·licles madurs. Aquest fenomen també s'ha copsat en plantes de força brolles del *Rosmarino-Ericion* (SANCHÍS *et al.*, 1992), on predominaven les següents famílies: cistàcies, fabàcies i lamiàcies. Es produeixen dos màxims de floració, el primer al maig, que és l'òptim, i un segon, molt menys accentuat, a l'octubre. GUTIÁN & GUTIÁN (1990) descriu el mateix fenomen per a alguns arbusts perennifolis mediterranis.

Les dues poblacions de *D. pictum* comencen a florir a meitats de juny, l'una i a principis de juliol, l'altra, i finalitzen a finals de juliol i a meitats de agost, respectivament. El fenomen d'un segon màxim de floració abans esmentat, també s'ha observat en alguns individus de la població de Cala Tuent, trasplantats a testos, que viuen entre les fissures de les roques del rascler mallorquí (cocons). En aquest cas, la primera fou al maig i la segona al juliol.

## **4. SISTEMES DE REPRODUCCIÓ**

#### 4.1. INTRODUCCIÓ

Una part fonamental en qualsevol treball sobre biologia de la reproducció és l'estudi dels sistemes reproductius, en condicions controlades, dins d'un hivernacle. La importància d'aquest tipus d'estudis, com molt bé indica RICHARDS (1986), no és només purament botànica. Degut a l'accelerat creixement demogràfic que pateix la població mundial en els darrers segles, existeix, cada vegada més, una forta demanda d'aliments i matèries primeres que provenen, en un percentatge molt elevat, dels vegetals. El coneixement dels sistemes reproductius, junt amb les tècniques de millora genètica, poden ajudar a incrementar notòriament la producció dels conreus. Una altra aplicació important d'aquests coneixements, en especial pel que fa referència a les qüestions d'hibridació, és en el camp de la jardineria i obtenció de plantes amb finalitats essencialment ornamentals, molt desenvolupat a Anglaterra en el cas de *Delphinium* (BASSETT, 1990), i que a Catalunya ha estat objecte de diverses recerques (ALIAS, com. pers., LÓPEZ, com. pers.).

Es tracta d'intentar, d'alguna manera, conèixer les bases de les estratègies reproductives, els sistemes d'incompatibilitat genètica (si existeixen) i llurs conseqüències evolutives de les espècies de *Delphinium* que són objecte d'estudi d'aquesta Memòria, les quals són essencials per a una correcta interpretació de la morfologia floral (on recau, en bona part, el pes taxonòmic) i de l'existència de possibles formes híbrides. Dins d'un concepte biosistemàtic, l'aprofundiment en el coneixement sobre el comportament reproductiu de les plantes, reforça les bases a l'hora d'establir una delimitació entre els tàxons (ORNDUFF, 1969; WEBB, 1984).

A grans trets, dins de la reproducció sexual existeixen dos grans tipus de sistemes reproductius: l'autogàmia i l'al·logàmia, seguint la terminologia emprada per molts autors que han treballat sobre biologia de la reproducció (STEBBINS, 1957; SOLBRIG, 1976; CRUDEN, 1977; FRANKEL & GALUN, 1977; RICHARDS, 1986; etc.). En l'al·logàmia, produïda per pol·linització creuada, l'aportació de pol·len és externa a la planta i els gàmetes que es fusionaran per a la formació del zigot pertanyen a individus diferents, mentre que en l'autogàmia, generada per autofecundació, ambdós gàmetes (pol·len i òvuls o primordis seminals) provenen de la mateixa planta. Segons aquesta definició, la geitonogàmia seria un cas particular d'autogàmia, on l'intercanvi genètic té lloc a nivell de flors diferents del mateix individu. RICHARDS (1986) va introduir el terme de xenogàmia, referint-se a l'al·logàmia estricta (intercanvis entre individus diferents), per puntualitzar i no confondre aquests termes. L'autogàmia seria el resultat de l'autopol·linització de la mateixa flor. Aquest autor emprà els conceptes de "ramet" (individus o parts fisiològicament independents) i "genet" (conjunt d'unitats que deriven d'una mateixa grana).

Per portar a terme l'estudi dels sistemes reproductius, i de fet ha estat l'objectiu d'aquest capítol, hom ha calculat els valors de partenogènesi (reproducció asexual, amb producció de granes sense fecundació), autogàmia (per autofecundació), geitonogàmia, al·logàmia (pol·linització creuada intrapoblacional i interpoblacional), hibridació (al·logàmia o pol·linització creuada interespecífica) i pol·linització lliure (prova en blanc, sense fer cap manipulació), tot mesurant la fertilitat dels tractaments per mitjà de la producció de granes per flor, i la seva viabilitat mitjançant assaigs de germinació (*cf.* capítol 3).

Algunes flors hermafrodites, com és el cas de *Delphinium*, disposen de mecanismes per evitar o afavorir un determinat tipus de sistema reproductiu (FRANKEL & GALUN, 1977). D'una banda existeix la cleistogàmia (fenomen força freqüent en gramínies), terme que s'oposa al de casmogàmia, i que es tracta d'una modificació que afavoreix l'autogàmia, en la qual la pol·linització es produeix abans de l'antesi. Per l'altre costat, alguns mecanismes que favoreixen l'al·logàmia són la separació espacial entre les antereres i l'estigma (hercogàmia) i la separació temporal, per maduració en diferents períodes de temps, dels òrgans sexuals de la flor (dicogàmia). Dins d'aquesta darrera, existeixen dues possibilitats: la proteràndria o protàndria, adaptació que presenten les flors de *Delphinium*, és la més freqüent i té lloc quan els estigmes esdevenen receptius després de la maduració i dehiscència pol·línica i la proterogínia, que és el cas invers. En les plantes pol·linitzades per animals, la proterogínia és molt menys freqüent que la proteràndria (THOMSON, 1881; LLOYD & WEBB, 1986). Si la dicogàmia és perfecta, les flors, tot i ésser hermafrodites, es comporten funcionalment com a unisexuals. En cas que sigui incompleta, els autors anteriorment citats consideren que la proterogínia proporciona una millor protecció front a l'autofecundació que la proteràndria.

## 4.2. MATERIAL I MÈTODES

### 4.2.1. MATERIAL

Les poblacions de *Delphinium* que han estat utilitzades per a les experiències de l'estudi dels sistemes reproductius són: *D. verdunense* (AP) i (BE), *D. pictum* (B), (CT) i (CT)\* i *D. bolosii* (LN) i (P), descrites en el capítol 1.

El material vegetal emprat ha estat obtingut, fonamentalment, de dues maneres diferents. D'una banda, les poblacions anuals provenen de la germinació, en condicions d'hivernacle, de granes recol·lectades directament de la mateixa població natural, i posterior trasplantament de les plàntules obtingudes a testos (*cf.* capítol 3). Per l'altre costat, els tàxons perennes, donat que presenten un cicle vital més llarg i és molt possible que el primer any no assoleixin la floració, a part que hem comprovat experimentalment que, en general, els seus percentatges de germinació són molt més baixos, hom va optar pel trasplantament

d'individus a testos, conservant el seu pa de terra original, recollits directament del camp, com ja hem esmentat anteriorment.

Les campanyes de recol·lecció d'aquest material vegetal es portaren a terme a finals de març - principis d'abril, època en la qual aquestes plantes es troben en l'estat fenològic de roseta basal de fulles. Hom va creure convenient fer-ho durant el període vegetatiu perquè la planta patís el mínim possible. Malgrat tot, però, en un percentatge important de testos, setmanes més tard, quan ja semblava que havien sobreviscut al trasplantament, determinats individus començaren a presentar un pansiment evident de les fulles, que conduí a la seva mort aparent, la qual cosa va impedir el desenvolupament de la tija floral. Aquest fet ens va obligar a realitzar una segona campanya de recol·lecció de material, a principis de juny. En aquesta ocasió, es trasplantaren individus amb la tija floral amb poncelles a punt d'obrir-se.

Hem comprovat experimentalment que es tractava d'una mort aparent i que el rizoma restava viu, perquè a finals d'octubre, creiem que ocasionat per unes condicions climatològiques molt favorables (temperatures força altes i pluges relativament freqüents), s'ha produït, curiosament, un rebrotament de fulles en la majoria de testos de les dues poblacions de *D. bolosii* (aproximadament un 60 %). També ha estat observat un rebrotament en la major part de testos d'unes poblacions tunisianes de *D. emarginatum* Presl. i *D. sylvaticum* Pomel (un 66 i un 88 %, respectivament), no emprades en aquest estudi.

Al camp, el nombre d'individus que assoliren el desenvolupament de la inflorescència també esdevingué sensiblement inferior al nombre, per cert força abundant, de rosetes basals observades en ambdues poblacions de *D. bolosii*.

La quantitat de plantes utilitzades per a realitzar les experiències reproductives de cada població, ha estat fixada al voltant d'una cinquantena, per les obtingudes per germinació i prop d'una desena (degut a les dificultats que comportava el seu transport), de les trasplantades directament del camp.

#### UTILLATGE

Testos de 10 cm de diàmetre

Terra (mescla de torba amb terra volcànica 2:1) o la pròpia, si es tracta d'individus trasplantats del camp

Canyes

Fil-ferro plastificat

Etiquetes (amb cordill)

Bosses de paper fi (de 5 x 8 cm)

Pinces

Alcohol de 96°

Lupa



#### 4.2.2. METODOLOGIA

La part experimental de l'estudi dels sistemes reproductius ha estat portada a terme a l'hivernacle del Laboratori de Botànica de la Facultat de Farmàcia de la Universitat de Barcelona, durant els mesos de maig, juny, juliol i agost de 1992.

Sempre que ha estat possible, hom ha intentat treballar i mantenir el material dins de l'hivernacle, encara que durant els mesos d'estiu s'assolien temperatures molt elevades sobretot al migdia, la qual cosa podria esdevenir un factor perjudicial per al bon desenvolupament de les plantes. El problema, però, se solventava en part situant-les en les zones més ombrívols d'aquest, en les quals la temperatura es mantenia més estable. El motiu d'intentar evitar la col·locació dels testos a fora era perquè a l'hora d'embossar les flors, a l'interior de l'hivernacle, quedaven més resguardades dels agents meteorològics (pluja, vent, granís, etc.) i, en principi, dels insectes que podrien alterar els resultats.

És recomanable, sobretot quan es manipula un nombre relativament alt de plantes, distribuir-les d'una manera ordenada per poblacions i etiquetar-les bé (per exemple, amb colors diferents), per tal d'evitar possibles confusions. A nivell d'espècie no hi ha cap mena de problema perquè les diferències macromorfològiques són prou evidents, però no és així quan es considera a nivell de població.

Donada la constitució d'aquestes plantes, la inflorescència està formada per un raïm principal força llarg i prim, amb escasses ramificacions laterals en el cas de *D. bolosii* i de *D. pictum*, l'alçada de la qual pot oscil·lar entre els 0,5 a 1,5 m, mentre que en *D. verdunense* és més curta i força més ramificada, resulta gairebé imprescindible a l'hora de realitzar els encreuaments, on una part fonamental és l'embossament de les flors, apuntalar o "tutoritzar" les tiges amb canyes, les quals tindran una doble funció. Per un costat, subjectaran les tiges floríferes per tal d'evitar el seu balanceig i que es torcin degut al pes de les bosses i, per l'altre, facilitarà en alguns casos, les tasques d'embossament (sobretot en les flors de pedicel·les fràgils, es poden lligar les bosses a les canyes).

Abans d'iniciar la descripció detallada de cadascun dels tractaments utilitzats en les experiències de l'estudi dels sistemes reproductius, cal parlar de l'emasculació. És el procés mitjançant el qual s'inutilitza la part masculina de les flors. En el cas d'ésser hermafrodites, es previndran els processos d'autofecundació, si es tracta de plantes autògames. Es pot realitzar de diverses maneres: eliminació mecànica dels microsporofil·les (anteres), destrucció diferencial de les espores o inducció d'impotència masculina. La tria del mètode més eficaç té lloc tenint en compte les dimensions i morfologia floral, ritme de floració i la dehiscència de l'antera, entre d'altres consideracions (FRANKEL & GALUN, 1977). Quan la flor és prou gran de mida, com és el cas de les flors de *Delphinium*, el tipus d'emasculació més habitual

és el manual, que consisteix en una escissió mecànica de les anteres abans que es produeixi la dehiscència del pol·len.

És molt important, doncs, com ja hem dit, saber escollir el moment idoni per a realitzar l'emasculació, ja que els estams han d'estar pràcticament madurs, però que en cap d'ells s'hagi produït la dehiscència. La maduració dels estams, en general, en les flors de *Delphinium*, es fa palesa per un canvi de color: inicialment són d'un verd-grogós i van prenent coloracions porpra-liloses (cf. figura 2.2.). En les tres espècies sobre les quals s'han dut a terme les experiències, aquest moment ha resultat ésser diferent. Mentre que en *D. verdunense*, cal fer-ho quan la poncella no ha eclosionat del tot, ja que la dehiscència pol·línica en aquesta espècie és molt ràpida, en *D. bolosii* es pot fer un o dos dies després de l'antesi, i en *D. pictum*, dos, tres o fins i tot, quatre dies després de la floració.

L'operació es desenvolupa de la següent manera: mitjançant l'ajut d'unes pinces se separen els pètals laterals que solen estar recobrint els estams per la part superior o, si d'aquesta manera resulta molt difícil, es poden, fins i tot, arrancar (hem comprovat que no té cap mena d'influència en l'evolució normal dels processos de fecundació i posterior fructificació). Amb molta cura de no afectar o trencar els carpels incipients (cal recordar que és una flor proteràndrica i, per tant, el desenvolupament dels òrgans femenins és posterior, la qual cosa representa un avantatge a l'hora d'emascular), s'arrenquen o es tallen els estams amb les pinces per la part superior del filament (cf. figura 4.1.).

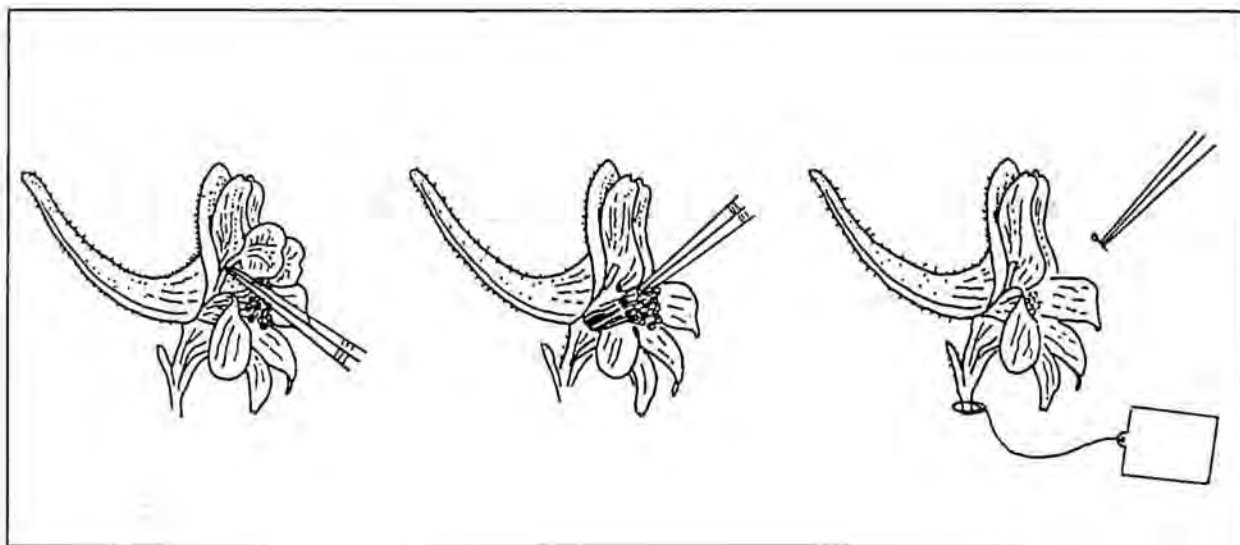


Figura 4.1. EMASCULACIÓ D'UNA FLOR DE *Delphinium*.

Un altre procediment emprat freqüentment en aquestes experiències reproductives, de què cal fer esment amb cert detall, és com es porta a terme la pol.linització manual. Després de l'emasculació, cal esperar un període determinat de temps que oscil.la entre set i deu dies aproximadament en les espècies de *Delphinium* estudiades, perquè els estigmes esdevinguin receptius (es pot copsar mitjançant l'ajut d'una lupa com la superfície estigmàtica pren forma de "V"). Durant aquest període caldrà mantenir les flors embossades per tal que no es produxi cap pol.linització forània accidental. És, doncs, aquest moment el més adient per a realitzar la pol.linització manual. Inicialment es va utilitzar la flor sencera. Hom tria com a donadora de pol.len una flor que tingui la major part dels estams dehiscent, plens de pol.len. S'arrenca, i tot tirant cap enrera les peces periàntiques, s'intenta posar en contacte els estams amb l'estigma. A vegades, però, costa molt de controlar si es diposita suficient quantitat de pol.len. Es va optar per fer-ho d'una altra manera. Amb l'ajut d'unes pinces, es tallen un o diversos estams carregats de pol.len i es "pinta" la superfície estigmàtica fins que quedi coberta. Cada vegada que es porti a terme una nova pol.linització cal rentar bé les pinces amb alcohol de 96°, per tal d'evitar possibles contaminacions. Tot i que els estigmes quedin saturats de pol.len, és recomanable tornar a embossar les flors fins que esdevé la fructificació.

L'embossament es realitza, en principi, de forma individual per a cada flor amb bosses de paper fi blanc, que es lliguen per la base amb fil-ferro plastificat de manera que no pugui entrar cap insecte. El color blanc té una raó de ser, evitar l'absorció de llum que podria incrementar la temperatura a l'interior de la bossa i afectar negativament el desenvolupament normal de la flor. Altres autors, per a d'altres plantes de diverses característiques, empen bosses de nylon o de tul (PELLMYR, 1986; JORDANO, 1990; BONET, 1991) o, fins i tot, caixes de plàstic semirígid (NIETO, 1991) o pantalles de xarxa galvanitzada (MACIOR, 1975, 1978).

#### 4.2.2.1. Descripció dels diversos tractaments:

Per a cadascuna de les flors estudiades hom ha col.locat una etiqueta lligada amb un cordill, on s'anota el dia de l'emasculació (si té lloc), i la data i el tipus de pol.linització que se li practica.

#### PARTENOGENESI:

La partenogènesi és un tipus de reproducció asexual o apomixi, tema força estudiat per STEBBINS (1941), GUSTAFSSON (1946, 1947), NYGREN (1954, 1956), HESLOP-HARRISON (1961), RUTISHAUER (1967), etc. que consisteix en la producció de granes a partir d'òvuls sense que hagi tingut lloc la fecundació, és a dir, sense la intervenció del gàmeta masculí (pol.len). Aquest assaig és important per a poder assegurar que les granes produïdes en els

altres tractaments només provenen de les pol.linitzacions efectuades. Per dur-ho a terme, cal emascular les flors i embossar-les, sense fer-hi cap més tractament.

**AUTOGÀMIA:**

L'autogàmia, que també es podria anomenar autofecundació, es realitza embossant les flors una per una, sense haver-les emasculat prèviament. D'aquesta manera s'aconsegueix que l'únic pol.len disponible per a fecundar els carpels, sigui el de la pròpia flor. Cal remarcar que es tracta d'una pol.linització passiva, ja que s'ha deixat que evolucionés lliurement, sense intentar pol.linitzar manualment amb el pol.len propi.

**GEITONOGÀMIA:**

L'estudi de la geitonogàmia, que vindria a ésser un sistema intermedi entre la autogàmia i l'al.logàmia, es porta a terme mitjançant l'emasculació de la flor, embossament d'aquesta, i quan els estigmes són receptius, es pol.linitzen manualment amb pol.len provinent de flors de la mateixa planta. Atès que la maduració floral és de tipus ascendent i són flors amb proteràndria, caldrà tenir la precaució de reservar flors de la part superior del raïm com a donadores de pol.len.

**POL.LINITZACIÓ CREUADA INTRAPOBLACIONAL (O XENOGÀMIA):**

Aquest tractament és un cas d'al.logàmia, en el qual el pol.len prové de flors d'altres plantes però que pertanyen a la mateixa població. Com en el tractament anterior, es practica l'emasculació de la flor, s'embossa, i quan els estigmes són receptius, es realitza la pol.linització manual.

**POL.LINITZACIÓ CREUADA INTERPOBLACIONAL:**

Com el seu nom indica, es tracta d'encreuaments entre individus de la mateixa espècie, però de diferents poblacions. La pauta és la mateixa, s'emascula la flor, s'embossa, es deixa que desenvolupi la part femenina i quan és el moment idoni, es pol.linitza manualment.

**POL.LINITZACIÓ CREUADA INTERESPECÍFICA :**

Aquest tipus de pol.linització entre espècies diferents també es coneix amb el nom d'hibridació. Es fa el mateix que en els casos anteriors, és a dir, emascular, embossar, esperar que l'estigma estigui receptiu i pol.linitzar manualment amb pol.len d'altres espècies de *Delphinium*.



## POL.LINITZACIÓ LLIURE:

Es mantenen les flors sense practicar cap mena de tractament. Serà el control o prova en blanc.

Alguns autors, com per exemple PELLMYR (1984, 1986) han assajat en altres ranunculàcies la pol.linització pel vent, és a dir, pol.linització anemòfila, embossant les flors, prèviament emasculades, amb bosses de fibra de vidre de 1,1 mm de malla, les quals no deixen passar cap insecte però sí el pol.len.

La taula 4.1. resumeix les principals característiques que presenten cada tipus de tractament, utilitzat per a l'estudi dels sistemes reproductius d'aquests tàxons.

Taula 4.1. CARACTERÍSTIQUES DELS DIFERENTS TIPUS DE TRACTAMENTS.

TRACTAMENT	EMASCULACIÓ	EMBOSSAMENT	POL.LINITZACIÓ	PROCEDÈNCIA
Pol.linització lliure	---	---	---	divers
Partenogènesi	+	+	---	---
Autogàmia	---	+	---	pròpia flor
Geitonogàmia	+	+	+	diferent flor de la
Pol. creuada intrapoblacional	+	+	+	diferent planta de la mateixa població
Pol. creuada intraespecífica	+	+	+	diferent població de la mateixa espècie
Pol. creuada interespecífica	+	+	+	diferent espècie de <i>Delphinium</i>

A l'hora de realitzar la part experimental dels encreuaments, el material que ha funcionat millor per a treballar, tant en la floració com en la fructificació, ha estat el provinent de les poblacions mallorquines de *D. pictum*. En el cas de *D. verdunense*, el fet de presentar una inflorescència molt ramificada de floració asincrònica, permetia disposar de



força material, però alguns individus s'assecaren abans de temps, com si viure en el test reduís els seus recursos i no tinguessin prou energia per arribar a fructificar. A part, les flors de *D. verdunense* presenten pedicel.les molt fràgils per suportar el pes de les bosses i s'havien de lligar a les canyes, en molts casos. En alguns tipus de tractaments que ho permetien, es va optar per embossar inflorescències senceres amb bosses un xic més grans. Una altra dificultat en *D. verdunense* fou deguda al pol.len, el qual als dos o tres dies de la dehiscència de les anteres, es tornava més enganxós i prenia una coloració més ataronjada. La seva deposició sobre la superfície estigmàtica durant els processos de pol.linització manual era força més costosa. Aquest fenomen no ha estat observat en les altres dues espècies. El material de les poblacions de *D. bolosii*, a part de la dificultat que suposa tenir menys material (per si alguna planta falla), algun cas les inflorescències eren força tupides i era més difícil embossar les flors. També en alguns individus els pedicel.les eren fràgils.

Un altre dels problemes que ens hem trobat, és que en algunes ocasions ha estat difícil tenir conjuntament tot el material en flor de les diferents espècies, és a dir, tenir flors donadores de pol.len amb els estams dehiscent i flors amb estigmes receptius en el mateix moment, donat que presenten períodes de floració lleugerament diferents. Aquestes petites diferències fenològiques han estat el motiu que alguna de les combinacions (sobretot en el cas de les hibridacions), ens resultés impossible d'efectuar.

(Observació: quan la flor ha estat pol.linitzada, els sèpals i pètals s'assequen i cauen molt ràpidament, mentre que en els casos de partenogènesi o simplement si es triga una mica més en pol.linitzar flors en el mateix estadi, mantenen funcionals les peces periàntiques més temps. De fet és lògic si es pensa que la funció d'aquestes parts, a part de la protecció dels òrgans sexuals, és de fer de reclam dels agents pol.linitzadors, en aquest cas majoritàriament insectes).

Per a valorar la fertilitat dels diversos assaigs de pol.linització, hom ha pres com a paràmetre la producció de granes per flor obtingudes en cada tractament (tot mirant si podria tenir alguna mena de relació amb el nombre de fol.licles que s'arribaven a desenvolupar per flor, dels tres carpels inicials). És recomanable mantenir les flors embossades fins que esdevé la fructificació, que sol durar un període aproximat d'un mes des que té lloc la pol.linització. Els carpels, una vegada s'ha produït la fecundació dels òvuls, creixen de mida i a la maduració es tornen grogosos i es van assecant. Aquesta pèrdua d'hidratació causa una contracció de la fulla carpelar que s'obre per la sutura ventral, provocant així, la seva dehiscència. Quan té lloc aquest fenomen, les granes ja són del tot madures i es desprenen amb facilitat, quedant lliures dins del fol.licle. La disposició erecta dels fol.licles i el fet que mai són oberts del tot, fa que les granes es lliurin de forma gradual, en condicions naturals (BLANCHÉ, 1991). A la maduració, les granes prenen coloracions negreses. Hom recol.lecta

les granes quan els fol·licles es comencen a obrir. Una de les finalitats de mantenir les flors embossades és, justament, la de no perdre cap grana.

Les granes produïdes hom les ha classificat en dos tipus: viables i inviables, prenent com a criteri per a separar-les, el seu aspecte morfològic. Per tant, cal remarcar que es tracta de granes presumptament viables. Per no confondre els termes hom ha optat per anomenar-les, granes desenvolupades i granes no desenvolupades, respectivament. JANKUN (1973), classifica les granes obtingudes en hibridacions i retroencreuaments entre *D. oxypealum* Borb. et Pax, *D. elatum* L. i *D. montanum* DC. en normals i abortives, segons el grau de desenvolupament de l'endosperma.

Les granes provinents dels encreuaments experimentals, una vegada han estat comptades, se separen de les restes de fol·licle i s'introdueixen en sobres de paper o vials secs i nets, per a la posterior conservació al refrigerador (a 4° C).

De cada població i tractament hom ha escollit, a l'atzar, 25 granes de les que, a priori, s'han suposat pel seu aspecte, viables (si les havia), és a dir, ben desenvolupades. Posteriorment han estat sembrades en germinadors amb terra en condicions d'hivernacle (cf. capítol 3) el dia 5/10/1992, per estudiar-ne la germinació i per tant, la veritable viabilitat.

## 4.3. RESULTATS

### 4.3.1. PRODUCCIÓ DE GRANES EN ELS DIVERSOS TRACTAMENTS

Les taules 4.2., 4.3., 4.4., 4.5., 4.6. i 4.7 recullen les dades sobre la producció de granes desenvolupades, no desenvolupades i totals per flor en els diversos tractaments (pol.linització lliure, autogàmia, geitonogàmia, pol.linització creuada intrapoblacional i interpoblacional i interespecífica, respectivament). S'indica el nombre de flors pol.linitzades, el nombre total, l'interval, la mitjana i l'error estàndard i el percentatge de granes de cada tipus, per població en cada tractament, tot en valor absolut. WASER *et al.* (1987), en un estudi sobre la distància òptima d'encreuament en *D. nelsonii* Greene expressaven els resultats en forma de producció relativa de granes per flor, no en valor absolut.

Per a la partenogènesi no valia la pena adjuntar una taula (s'han assajat entre 15 - 20 flors per població) perquè en tots els casos estudiats mai s'ha format cap grana ben desenvolupada.

La taula 4.8. recull el percentatge de granes desenvolupades (i, per tant, presumptament viables) obtingudes en tots els tractaments de cada població, perquè sigui comparable.

Taula 4.2. PRODUCCIÓ DE GRANES EN LES EXPERIÈNCIES DE POL·LINITZACIÓ LLIURE.

POBLACIÓ	N	GRANES DESENVOLUPADES			GRANES NO DESENVOLUPADES			GRANES TOTALS		
		n <sub>i</sub>	Interval	m ± ES (%)	n <sub>i</sub>	Interval	m ± ES (%)	n <sub>i</sub>	Interval	m ± ES
<i>D. verdunense</i> (AP)	32	395	2 - 24	12,34 ± 0,99 (75,82)	126	0 - 13	3,94 ± 0,62 (24,18)	521	7 - 24	16,28 ± 0,87
<i>D. verdunense</i> (BE)	27	124	0 - 15	4,59 ± 0,88 (39,74)	188	0 - 20	6,96 ± 1,26 (60,26)	312	3 - 20	11,56 ± 0,84
<i>D. pictum</i> (B)	29	234	0 - 25	8,07 ± 1,35 (47,46)	259	0 - 20	8,93 ± 1,08 (52,54)	493	5 - 26	17,00 ± 1,04
<i>D. pictum</i> (CT)	30	476	2 - 32	15,87 ± 1,61 (76,16)	149	0 - 19	4,97 ± 0,99 (23,84)	625	2 - 32	20,83 ± 1,25
<i>D. pictum</i> (CT)*	15	121	2 - 14	8,07 ± 0,75 (69,94)	52	1 - 7	3,47 ± 0,52 (30,06)	173	8 - 16	11,53 ± 0,60
<i>D. bolosii</i> (LN)	40	177	0 - 15	4,43 ± 0,56 (32,60)	366	0 - 24	9,15 ± 1,00 (67,40)	543	3 - 27	13,58 ± 1,08
<i>D. bolosii</i> (P)	16	104	1 - 19	6,50 ± 1,29 (50,00)	104	1 - 19	6,50 ± 1,22 (50,00)	208	4 - 26	13,00 ± 1,67

N = nombre de flors pol·linitzades en cada població; n<sub>i</sub> = nombre total de granes produïdes de cada tipus; m ± ES = mitjana ± error estàndard de les granes obtingudes per flor; % percentatge de granes desenvolupades i no desenvolupades, respectivament.

Taula 4.3. PRODUCCIÓ DE GRANES EN LES EXPERIÈNCIES D'AUTOGÀMIA.

POBLACIÓ	N	GRANES DESENVOLUPADES			GRANES NO DESENVOLUPADES			GRANES TOTALS		
		n <sub>i</sub>	Interval	m ± ES (%)	n <sub>i</sub>	Interval	m ± ES (%)	n <sub>i</sub>	Interval	m ± ES
<i>D. verdunense</i> (AP)	13	65	0 - 12	4,64 ± 1,19 (33,68)	128	0 - 21	9,14 ± 2,33 (66,32)	193	4 - 22	13,79 ± 1,69
<i>D. verdunense</i> (BE)	15	28	0 - 4	1,87 ± 0,36 (17,07)	136	0 - 19	9,07 ± 1,45 (82,93)	164	1 - 20	10,93 ± 1,30
<i>D. pictum</i> (B)	46	526	0 - 24	11,43 ± 1,04 (64,78)	286	0 - 16	6,22 ± 0,57 (35,22)	812	5 - 28	17,65 ± 0,91
<i>D. pictum</i> (CT)	15	151	1 - 27	10,07 ± 2,01 (59,68)	102	0 - 16	6,80 ± 1,26 (40,32)	253	8 - 28	16,87 ± 1,61
<i>D. pictum</i> (CT)*	8	79	0 - 17	9,88 ± 1,67 (67,52)	38	2 - 8	4,75 ± 0,66 (32,48)	117	8 - 22	14,63 ± 1,50
<i>D. bolosii</i> (LN)	14	108	0 - 18	7,71 ± 1,66 (38,03)	176	2 - 21	12,57 ± 1,49 (61,97)	284	12 - 30	20,29 ± 1,20
<i>D. bolosii</i> (P)	3	26	1 - 18	8,67 ± 4,06 (50,00)	26	2 - 19	8,67 ± 4,28 (50,00)	52	6 - 26	17,33 ± 4,84

N = nombre de flors pol·linitzades en cada població; n<sub>i</sub> = nombre total de granes produïdes de cada tipus; m ± ES = mitjana ± error estàndard de les granes obtingudes per flor; % = percentatge de granes desenvolupades i no desenvolupades, respectivament.

Taula 4.4. PRODUCCIÓ DE GRANES EN LES EXPERIÈNCIES DE GEITONOGÀMIA.

POBLACIÓ	N	GRANES DESENVOLUPADES			GRANES NO DESENVOLUPADES			GRANES TOTALS		
		n <sub>i</sub>	Interval	m ± ES (%)	n <sub>i</sub>	Interval	m ± ES (%)	n <sub>i</sub>	Interval	m ± ES
<i>D. verduense</i> (AP)	25	288	3 - 17	11,52 ± 0,69 (84,21)	54	0 - 6	2,16 ± 0,34 (15,79)	342	3 - 18	13,68 ± 0,77
<i>D. verduense</i> (BE)	36	327	0 - 20	9,08 ± 0,88 (75,17)	108	0 - 18	3,00 ± 0,67 (24,83)	435	4 - 21	12,08 ± 0,72
<i>D. pictum</i> (B)	41	416	2 - 19	10,15 ± 0,73 (62,84)	246	0 - 18	6,00 ± 0,59 (37,16)	662	4 - 26	16,15 ± 0,86
<i>D. pictum</i> (CT)	19	302	0 - 33	15,89 ± 2,31 (74,02)	106	0 - 20	5,58 ± 1,26 (25,98)	408	5 - 33	21,47 ± 1,58
<i>D. pictum</i> (CT)*	4	39	2 - 14	9,75 ± 2,30 (70,91)	16	3 - 5	4,00 ± 0,35 (29,09)	55	6 - 18	13,75 ± 2,36
<i>D. bolosii</i> (LN)	6	70	2 - 26	11,67 ± 3,40 (45,75)	83	5 - 21	13,83 ± 2,06 (54,25)	153	13 - 31	25,50 ± 2,60
<i>D. bolosii</i> (P)	10	86	2 - 23	8,60 ± 2,16 (70,49)	36	1 - 8	3,60 ± 0,74 (29,51)	122	5 - 26	12,20 ± 2,33

N = nombre de flors pol·linitzades en cada població; n<sub>i</sub> = nombre total de grans produïdes de cada tipus; m ± ES = mitjana ± error estàndard de les grans obtingudes per flor; % percentatge de grans desenvolupades i no desenvolupades, respectivament.



Taula 4.5. PRODUCCIÓ DE GRANES EN LES EXPERIÈNCIES DE POL.LINITZACIÓ CREUADA INTRAPOBLACIONAL.

POBLACIÓ	N	GRANES DESENVOLUPADES			GRANES NO DESENVOLUPADES			GRANES TOTALS		
		n <sub>i</sub>	Interval	m ± ES (%)	n <sub>i</sub>	Interval	m ± ES (%)	n <sub>i</sub>	Interval	m ± ES
<i>D. verdunense</i> (AP)	26	356	2 - 21	13,69 ± 0,94 (87,68)	50	0 - 6	1,92 ± 0,38 (12,32)	406	5 - 21	15,62 ± 0,87
<i>D. verdunense</i> (BE)	35	357	0 - 22	10,20 ± 1,01 (73,76)	127	0 - 15	3,63 ± 0,64 (26,24)	484	2 - 25	13,83 ± 1,06
<i>D. pictum</i> (B)	23	249	2 - 23	10,83 ± 1,42 (61,03)	159	0 - 20	6,91 ± 1,16 (38,97)	408	9 - 25	17,74 ± 0,83
<i>D. pictum</i> (CT)	28	320	1 - 24	11,43 ± 1,22 (71,27)	129	0 - 17	4,61 ± 0,73 (28,73)	449	4 - 26	16,04 ± 1,25
<i>D. pictum</i> (CT)*	6	47	1 - 11	7,83 ± 1,34 (64,38)	26	2 - 7	4,33 ± 0,73 (35,62)	73	4 - 16	12,17 ± 1,79
<i>D. bolosii</i> (LN)	7	177	15 - 38	25,29 ± 3,49 (80,09)	44	2 - 12	6,29 ± 1,32 (19,91)	221	19 - 42	31,57 ± 3,45
<i>D. bolosii</i> (P)	3	35	10 - 13	11,67 ± 0,72 (54,69)	29	4 - 14	9,67 ± 2,42 (45,31)	64	14 - 26	21,33 ± 3,03

N = nombre de flors pol.linitzades en cada població; n<sub>i</sub> = nombre total de granes produïdes de cada tipus; m ± ES = mitjana ± error estàndard de les granes obtingudes per flor. % percentatge de granes desenvolupades i no desenvolupades, respectivament.

Taula 4.6. PRODUCCIÓ DE GRANES EN LES EXPERIÈNCIES DE POL·LINITZACIÓ CREUADA INTERPOBLACIONAL.

POBLACIÓ	N	GRANES DESENVOLUPADES			GRANES NO DESENVOLUPADES			GRANES TOTALS		
		n <sub>i</sub>	Interval	m ± ES (%)	n <sub>i</sub>	Interval	m ± ES (%)	n <sub>i</sub>	Interval	m ± ES
<i>D. verdunense</i> (AP) x <i>D. verdunense</i> (BE)	1	6	6 - 6	6,00 ± 0,00 (75,00)	2	2 - 2	2,00 ± 0,00 (25,00)	8	8 - 8	8,00 ± 0,00
<i>D. verdunense</i> (BE) x <i>D. verdunense</i> (AP)	20	210	3 - 15	10,50 ± 0,77 (75,27)	69	0 - 12	3,45 ± 0,80 (24,73)	279	4 - 22	13,95 ± 1,02
<i>D. pictum</i> (B) x <i>D. pictum</i> (CT)	19	251	1 - 20	13,21 ± 1,11 (85,08)	44	0 - 10	2,32 ± 0,53 (14,92)	295	1 - 22	15,53 ± 1,05
<i>D. pictum</i> (CT) x <i>D. pictum</i> (B)	16	135	0 - 25	8,44 ± 1,85 (50,32)	133	1 - 24	8,31 ± 1,70 (49,63)	268	4 - 29	16,75 ± 1,57
<i>D. bolosii</i> (LN) x <i>D. bolosii</i> (P)	6	40	4 - 11	6,67 ± 0,90 (32,26)	84	5 - 20	14,00 ± 2,04 (67,74)	124	12 - 25	20,67 ± 1,90
<i>D. bolosii</i> (P) x <i>D. bolosii</i> (LN)	6	70	2 - 20	11,67 ± 2,46 (60,87)	45	2 - 14	7,50 ± 2,05 (39,13)	115	10 - 28	19,17 ± 2,54

N = nombre de flors pol·linitzades en cada població; n<sub>i</sub> = nombre total de granes produïdes de cada tipus; m ± ES = mitjana ± error estàndard de les granes obtingudes per flor; % percentatge de granes desenvolupades i no desenvolupades, respectivament.  
El tàxon que ocupa la primera posició actua com a receptor del pol·len i el segon, com a donador de pol·len.

Taula 4.7. PRODUCCIÓ DE GRANES EN LES EXPERIÈNCIES DE POL·LINITZACIÓ CREUADA INTERESPECÍFICA.

ESPÈCIES CREUADES (*)	N	GRANES DESENVOLUPADES			GRANES NO DESENVOLUPADES			GRANES TOTALS		
		n <sub>i</sub>	Interval	m ± ES (%)	n <sub>i</sub>	Interval	m ± ES (%)	n <sub>i</sub>	Interval	m ± ES
<i>D. verdunense</i> (BE) x <i>D. pictum</i>	10	1	0 - 1	0,10 ± 0,09 (0,79)	125	8 - 16	12,50 ± 0,75 (99,21)	126	8 - 16	12,6 ± 0,78
<i>D. verdunense</i> (BE) x <i>D. bolosii</i>	10	0	0	0 (0,00)	155	12 - 20	15,50 ± 0,76 (100,00)	155	12 - 20	15,50 ± 0,76
<i>D. pictum</i> (B) x <i>D. verdunense</i>	10	1	0 - 1	0,01 ± 0,09 (0,46)	217	20 - 24	21,70 ± 0,38 (99,54)	218	20 - 24	21,80 ± 0,34
<i>D. pictum</i> (CT) x <i>D. verdunense</i>	5	0	0	0 (0,00)	80	14 - 19	16,00 ± 0,85 (100,00)	80	14 - 19	16,00 ± 0,85
<i>D. pictum</i> (CT)* x <i>D. bolosii</i>	4	0	0	0 (0,00)	59	11 - 19	14,75 ± 1,43 (100,00)	59	11 - 19	14,75 ± 1,43
<i>D. bolosii</i> (P) x <i>D. pictum</i>	2	0	0	0 (0,00)	61	29 - 32	30,50 ± 1,06 (100,00)	61	28 - 32	30,50 ± 1,06

N = nombre de flors creuades; n<sub>i</sub> = nombre total de granes produïdes de cada tipus; m ± ES = mitjana ± error estàndard de les granes obtingudes per flor; % percentatge de granes desenvolupades i no desenvolupades, respectivament.

(\*) La primera espècie és la receptora, per tant, la que aporta els òrgans femenins (carpels), la segona és la donadora de pol·len.

Taula 4.8. PERCENTATGE DE GRANES DESENVOLUPADES PRODUIDES EN ELS DIVERSOS TRACTAMENTS.

POBLACIONS	TRACTAMENTS							
	Pol.limitació lliure	Partenogènesi	Autogàmia	Geitonogàmia	Pol. creuada intrapoblacional	Pol. creuada interpoblacional	Pol. creuada interespecífica	
<i>D. verdunense</i> (AP)	75,82	0	33,68	84,21	87,68	75,00	---	
<i>D. verdunense</i> (BE)	39,74	0	17,07	75,17	73,76	75,27	0,79	
<i>D. pictum</i> (B)	47,46	0	64,78	62,84	61,03	85,08	0,46	
<i>D. pictum</i> (CT)	76,16	0	59,68	74,02	71,27	50,32	0	
<i>D. pictum</i> (CT)*	69,94	0	67,52	70,91	64,38	---	0	
<i>D. bolosii</i> (LN)	32,60	0	38,03	45,75	80,09	32,26	---	
<i>D. bolosii</i> (P)	50,00	0	50,00	70,49	54,69	60,87	0	

(Pol. = Pol.limitació).

En general, si s'analitza a primer cop d'ull totes les dades que apareixen en les taules, s'entreveu una lleugera disminució de la producció de granes totals, sobretot si es compara amb el nombre d'òvuls que apareix per mitja a la taula de l'índex P/O (cf. capítol 2), de cada població estudiada. Aquest fet ens porta a pensar que, malgrat la germinació, el creixement, la floració i fructificació semblen aparentment normals, aquestes plantes no deixen de patir un cert estrès en viure en torretes a l'hivernacle, en unes condicions diferents a les naturals.

El gènere *Delphinium* presenta un fruit format per tres fol·licles, encara que en algun cas, aquest nombre pugui variar. En les nostres experiències a l'hivernacle no sempre s'han desenvolupat bé tots tres. La taula 4.9. reflecteix el percentatge de flors que han desenvolupat un, dos o els tres fol·licles, en cadascun dels tractaments. Si s'analitzen els resultats, hom pot observar que la tendència general, amb percentatges alts, és a desenvolupar-los tots tres. En menor proporció, n'aborta un i és encara menys freqüent que n'abortin dos. En línies generals, s'han desenvolupat millor els fol·licles que han estat pol·linitzats artificialment fins a saturació de l'estigma (tractaments de geitonogàmia, pol·linització creuada intra i interpoblacional) que els no manipulats (pol·linització lliure i autogàmia).

#### 4.3.2. GERMINACIÓ DE LES GRANES PRODUÏDES EN ELS TRACTAMENTS

La taula 4.10. recull les dades dels percentatges de germinació totals, % d'eclosió tardana dels cotilèdons (cf. capítol 3) i % de cotilèdons anòmals amb tres fulles, en lloc de dues. Curiosament, només han aparegut fenòmens d'aquest tipus, en molt baixa proporció en les poblacions del tàxon *D. pictum*, que pot indicar alguna malformació de la grana. No són atribuïbles a un tractament determinat, ja que es produeixen una mica a l'atzar. Els percentatges de germinació detallats per tractament estan indicats a la taula 4.11., calculats sobre les 25 granes que s'han posat a germinar. La taula 4.12. indica el percentatge de granes germinades del total de granes produïdes, per extrapolació. El motiu d'adjuntar aquesta segona taula és perquè té en compte alhora la producció de granes i la germinació. Cal destacar els baixíssims resultats que ha donat les dues poblacions del tàxon *D. bolosii*, en certa manera esperables pel seu caràcter perenne.

Les corbes de les figures 4.2., 4.3., 4.4., 4.5. i 4.6. que han estat obtingudes amb el programa CSS, són del mateix tipus que les trobades en el capítol 3. Són corbes calculades mitjançant un ajustament dels mínims quadrats ("least squares") i amb el mateix coeficient d'inflexibilitat ("stifness coeficient") de 0,1, que representen d'una manera gràfica la germinació i desenvolupament de la primera fulla de la roseta basal de les granes produïdes en cadascun dels tractaments, de les poblacions estudiades.

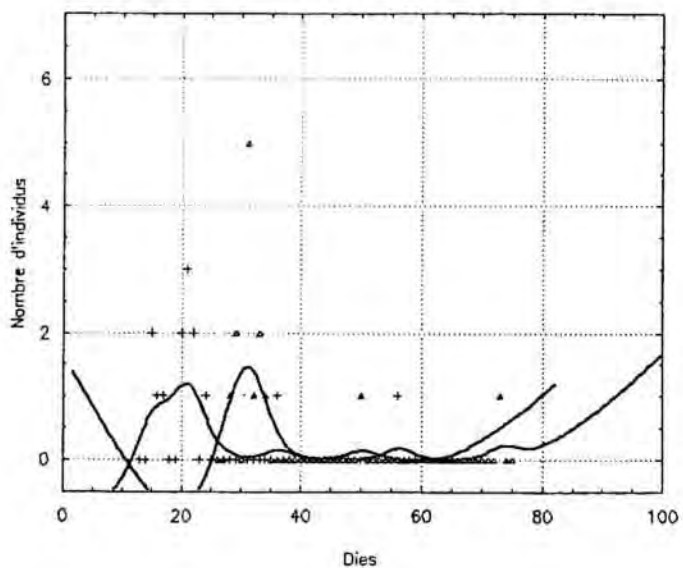


Taula 4.9. PERCENTATGE DE FLORS QUE DESENVOLUPEN UN DETERMINAT NOMBRE DE FOLLICLES.

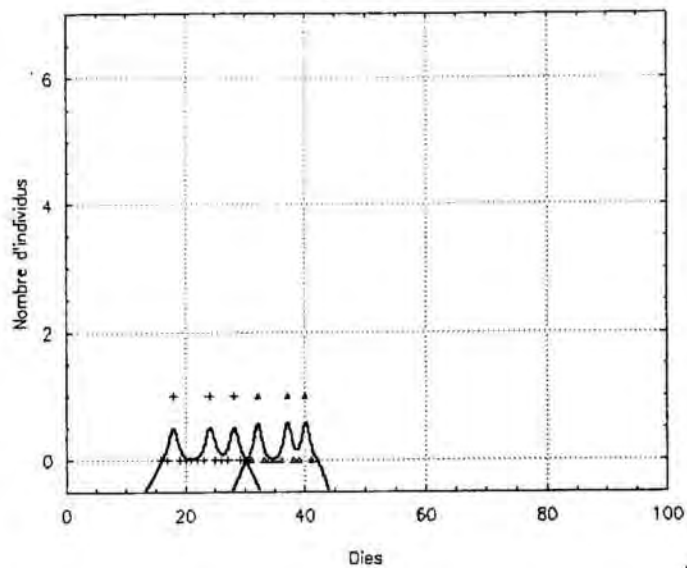
POBLACIÓ	TRACTAMENTS														
	Pol.limitació lliure			Autogàmia			Geitonogàmia			Pol. creuada intrapoblacional			Pol. creuada interpoblacional		
	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3
<i>D. verdunense</i> (AP)	15,63	15,63	68,75	28,57	14,29	57,14	4,00	4,00	92,00	11,54	11,54	88,46	---	---	100,00
<i>D. verdunense</i> (BE)	18,52	3,70	77,78	26,67	6,67	66,67	---	11,11	88,89	20,00	5,71	74,29	---	---	100,00
<i>D. pictum</i> (B)	3,45	17,24	79,31	4,35	10,87	84,78	4,88	19,51	75,61	---	21,74	78,26	5,26	10,53	84,21
<i>D. pictum</i> (CT)	6,67	6,67	86,67	6,67	---	93,33	5,26	5,26	89,47	7,14	14,29	78,57	12,50	12,50	75,00
<i>D. pictum</i> (CT)*	---	20,00	80,00	---	25,00	75,00	---	---	100,00	16,67	---	83,33	---	---	---
<i>D. bolosii</i> (LN)	35,00	27,50	37,50	7,14	28,57	64,29	---	---	100,00	---	28,75	71,43	---	16,67	83,33
<i>D. bolosii</i> (P)	31,25	31,25	37,50	33,33	---	66,67	10,00	30,00	60,00	---	3,33	66,67	---	---	100,00

(\*) = nombre de fol·licles desenvolupats per flor; (POL. = pol.limitació).

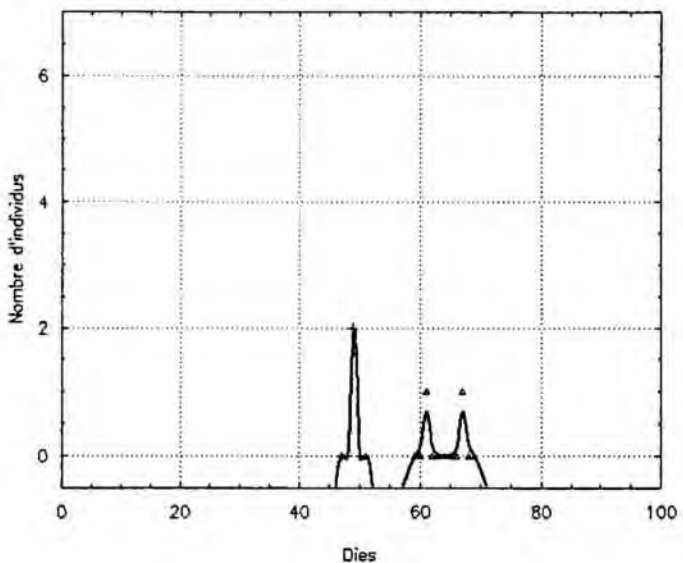
AUTOGÀMIA



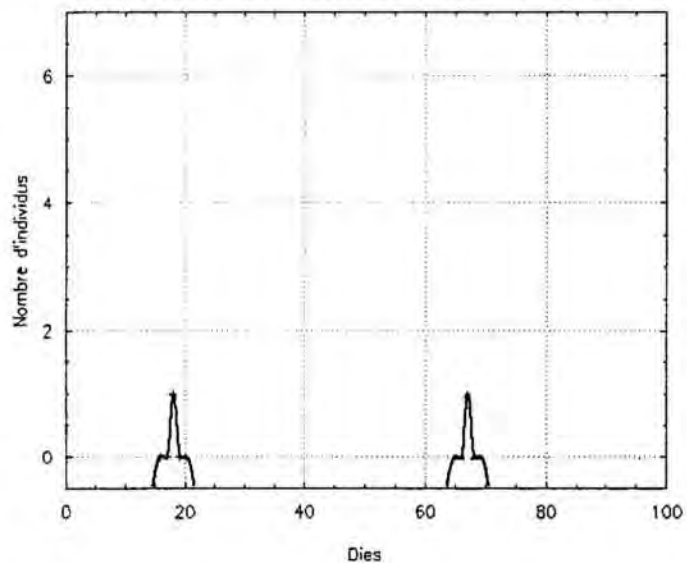
GEITONOGÀMIA



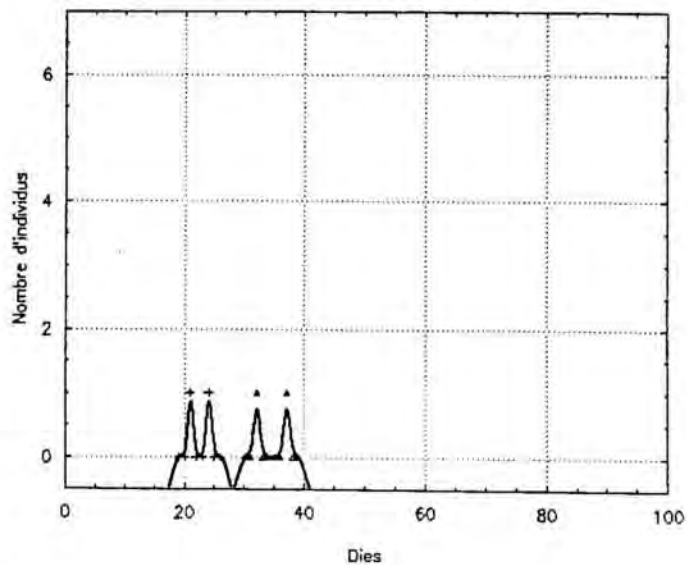
POL.LINITZACIÓ CREUADA INTRAPOBLACIONAL



POL.LINITZACIÓ CREUADA INTERPOBLACIONAL



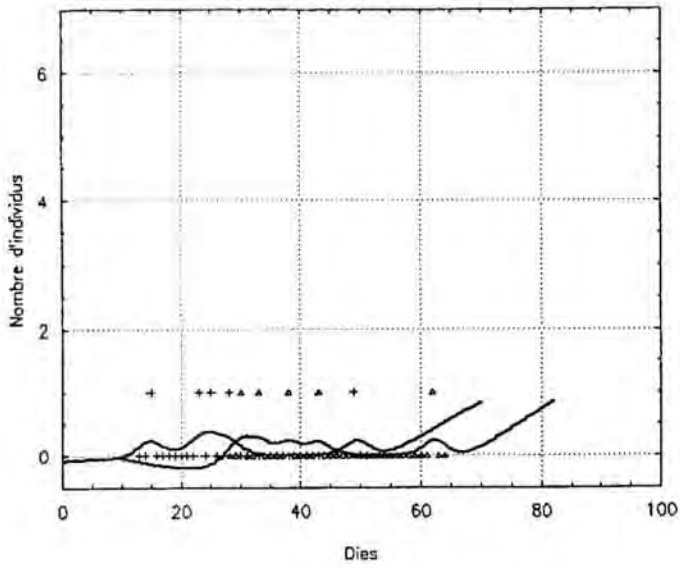
POL.LINITZACIÓ LLIURE



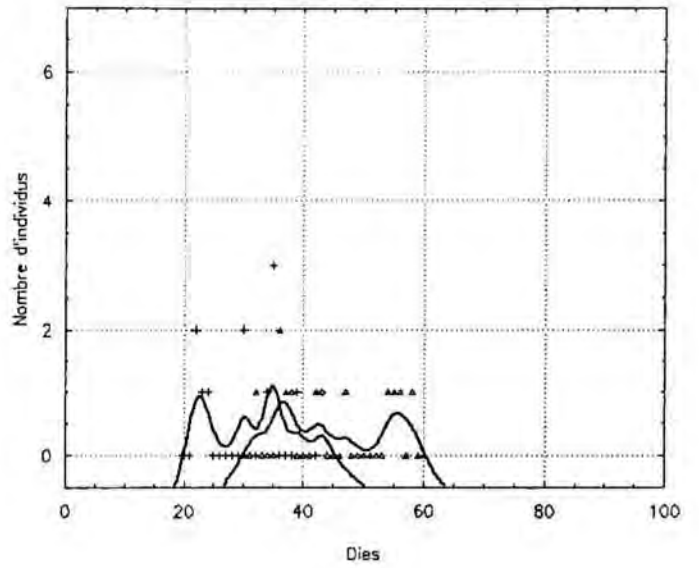
— Primera fulla  
 - - Germinació granes

Figura 4.2.  
**GERMINACIÓ I DESENVOLUPAMENT**  
**PER TRACTAMENTS DE:**  
*D. verdunense* (AP).

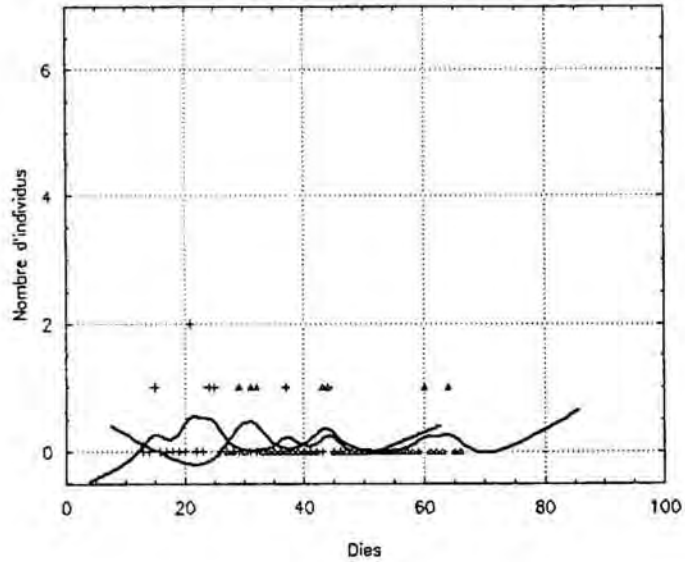
AUTOGÀMIA



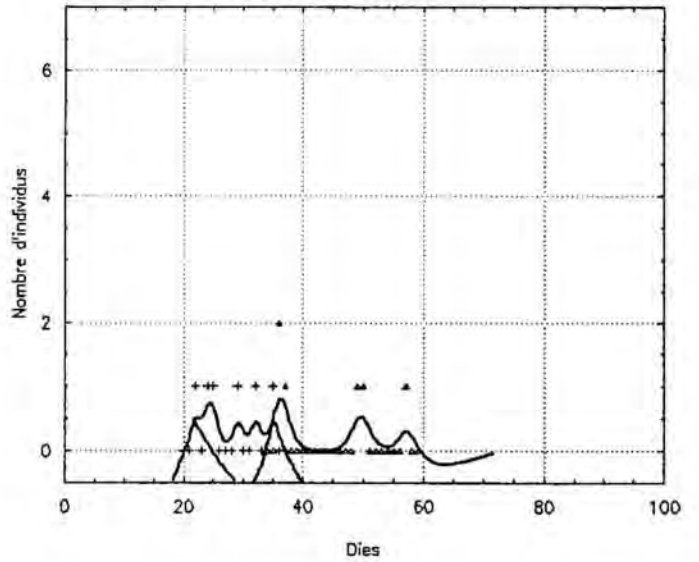
GEITONOGÀMIA



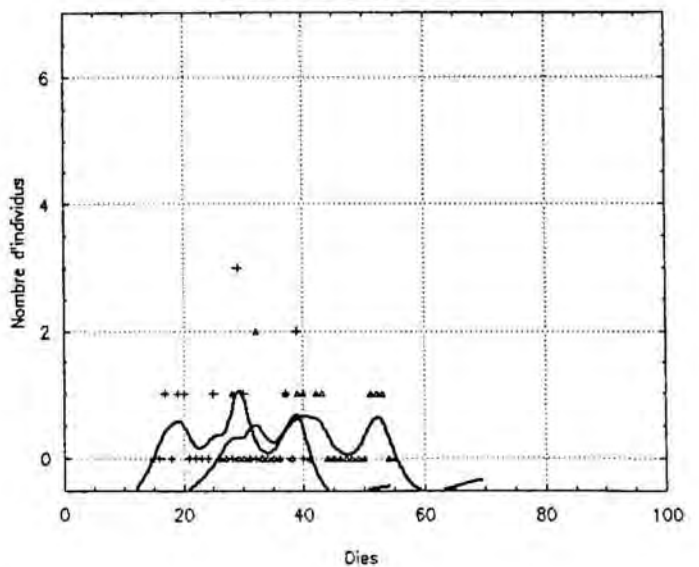
POL.LINITZACIÓ CREUADA INTRAOBLACIONAL



POL.LINITZACIÓ CREUADA INTEROBLACIONAL



POL.LINITZACIÓ LLIURE



— Primera fulla  
 - - - Germinació granes

Figura 4.3.  
 GERMINACIÓ I DESENVOLUPAMENT  
 PER TRACTAMENTS DE:  
*D. verdunense* (BE).

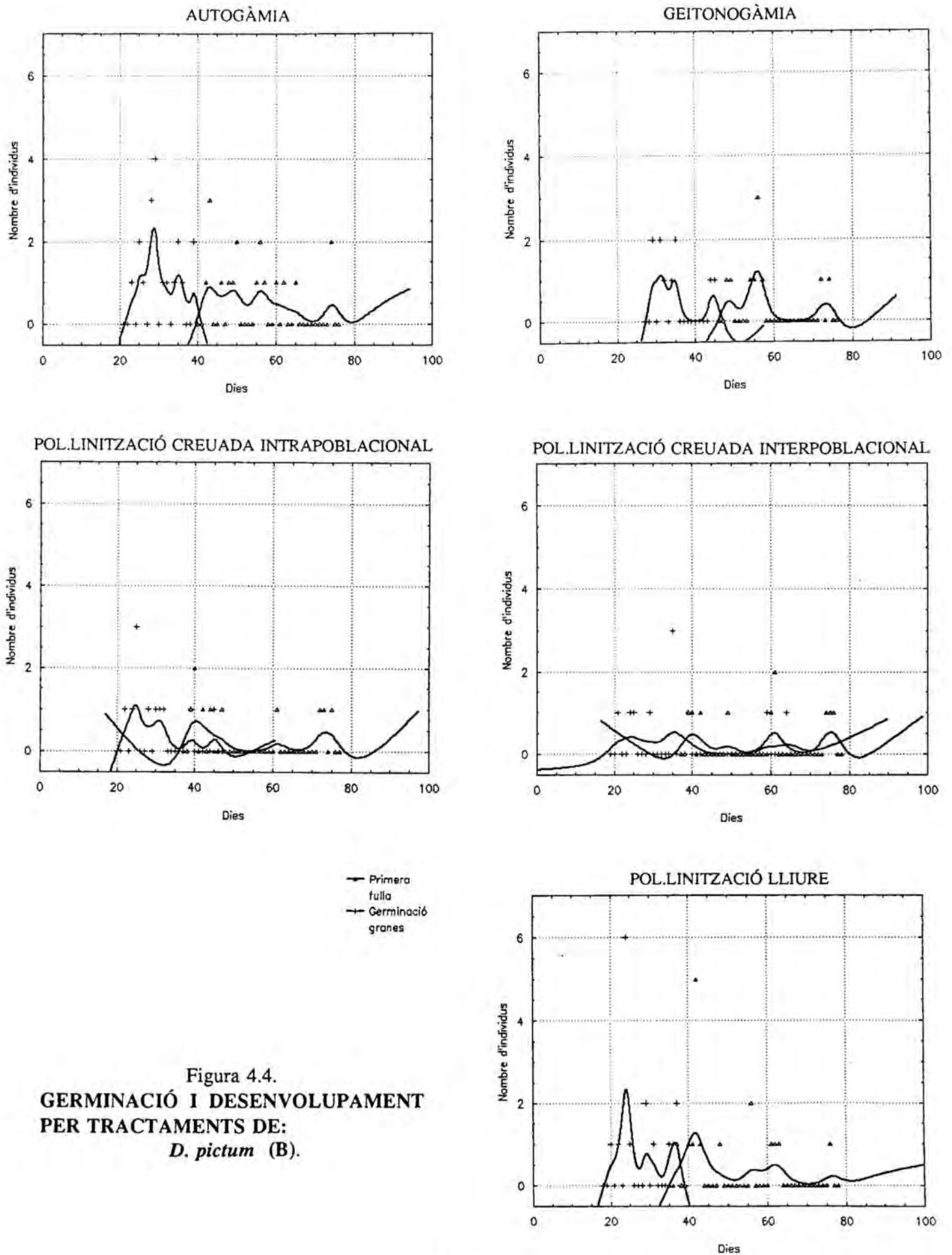
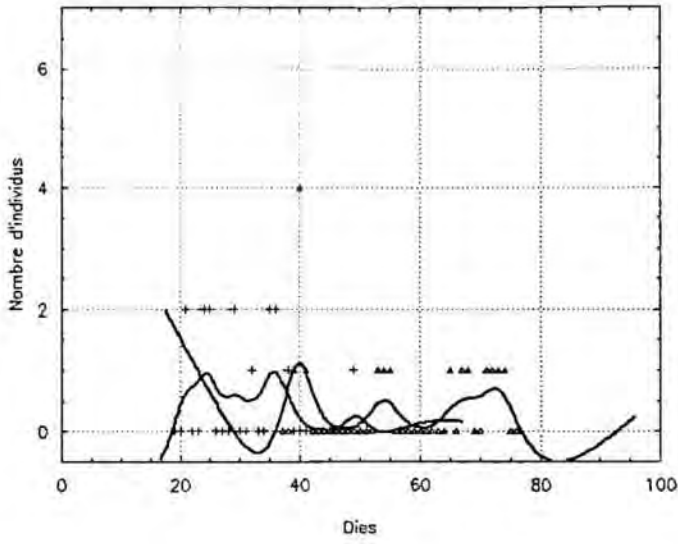
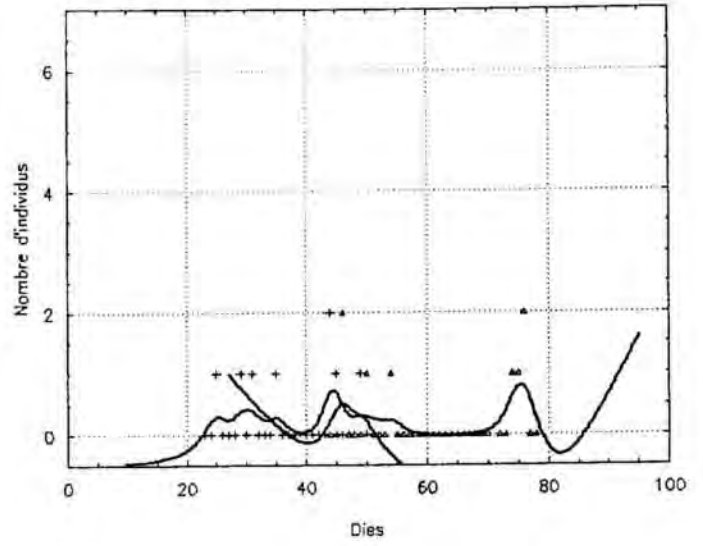


Figura 4.4.  
GERMINACIÓ I DESENVOLUPAMENT  
PER TRACTAMENTS DE:  
*D. pictum* (B).

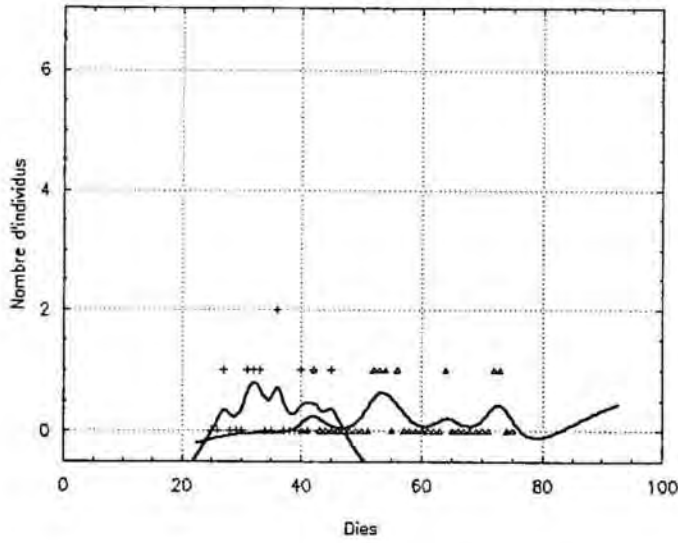
AUTOGÀMIA



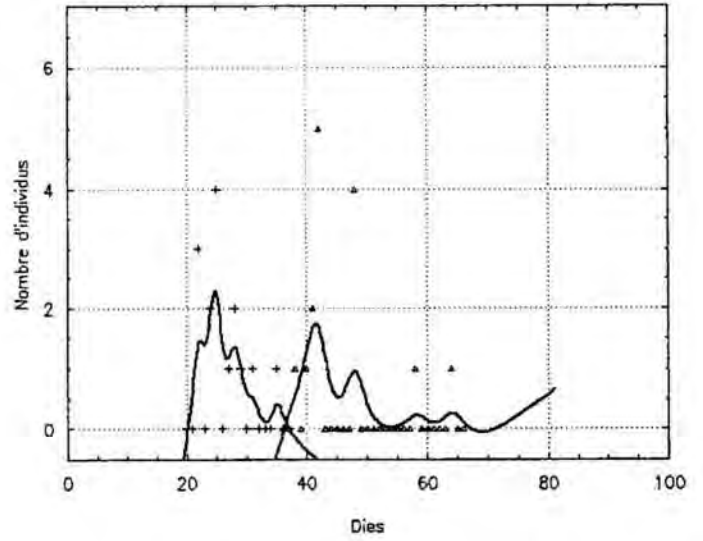
GEITONOGÀMIA



POL.LINITZACIÓ CREUADA INTRAPOBLACIONAL



POL.LINITZACIÓ CREUADA INTERPOBLACIONAL



— Primera fulla  
 - - - Germinació granes

POL.LINITZACIÓ LLIURE

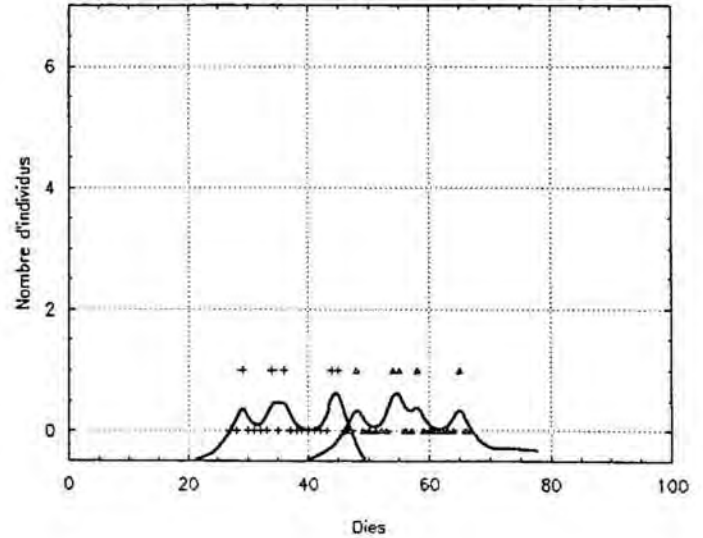
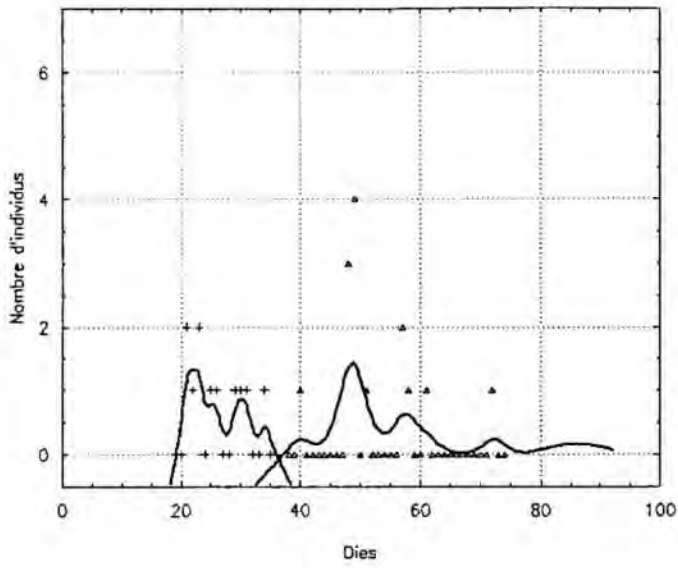


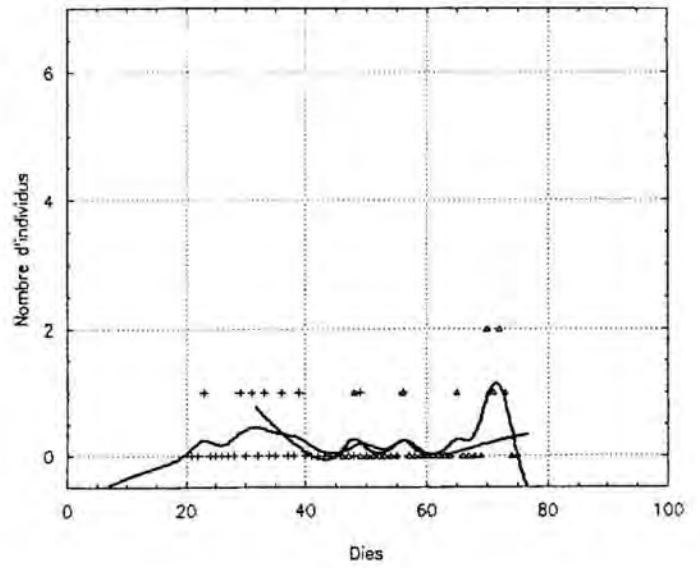
Figura 4.5.  
**GERMINACIÓ I DESENVOLUPAMENT**  
**PER TRACTAMENTS DE:**  
*D. pictum* (CT).



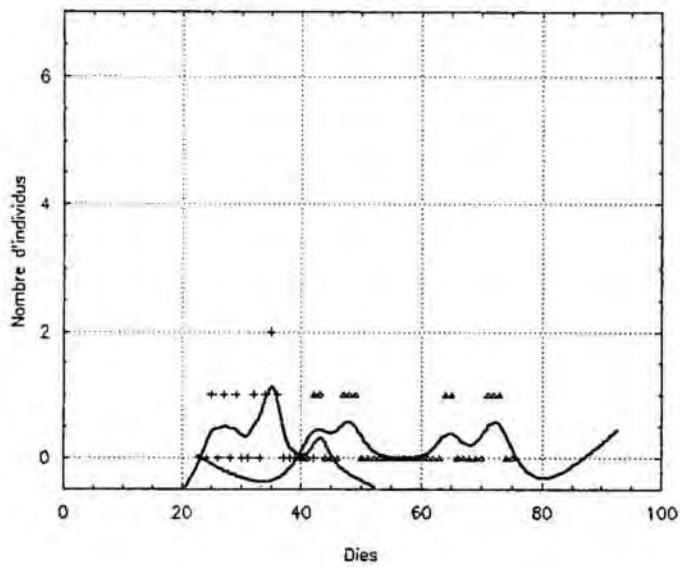
AUTOGÀMIA



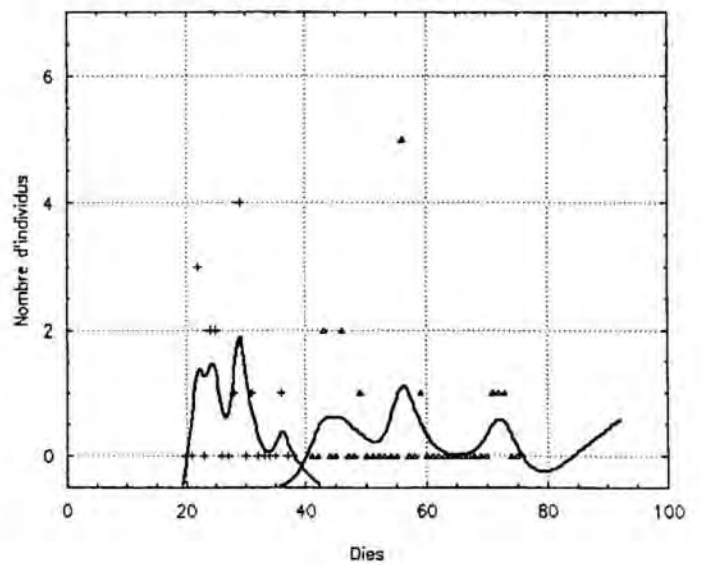
GEITONOGÀMIA



POL·LINITZACIÓ CREUADA INTRAOBLACIONAL



POL·LINITZACIÓ LLIURE



— Primera fulla  
 - - - Germinació granes

Figura 4.6.  
**GERMINACIÓ I DESENVOLUPAMENT**  
**PER TRACTAMENTS DE:**  
*D. pictum* (CT)\*.

Malauradament, hom no ha pogut estudiar el comportament de les dues poblacions de *D. bolosii*, ni fer els respectius gràfics atès que els percentatges de germinació han estat nuls, la qual cosa ens porta a pensar que les granes no eren prou madures.

A l'hora de realitzar aquests gràfics, ens hem adonat de dues qüestions de tipus metodològic que convindria esmentar i que poden influir, d'alguna manera, en els resultats. D'una banda, atès els valors baixos dels percentatges de germinació obtinguts en alguns tractaments, el nombre de granes que hem posat a germinar hauria d'haver estat una mica més elevat per estudiar el tipus de comportament, ja que s'han obtingut algunes gràfiques que presentaven pocs punts i la corba és menys representativa, a part que quan més gran és el nombre de granes, menys es poden atribuir els resultats a qüestions d'atzar. Per l'altre costat, una variable que també cal tenir en compte és la data en que s'ha realitzat la sembra. Caldria estudiar més acuradament, el període de temps que requereixen aquestes granes per assolir completament la maduració i donar el màxim de germinació. També podria influir els períodes de llum i temperatura, que són diferents segons el moment de l'any.

Taula 4.10. ASSAIGS DE GERMINACIÓ DE LES GRANES DELS ENCREUAMENTS.

POBLACIONS	n <sup>br</sup> granes inicials	n <sup>br</sup> granes germinades	% de germinació	% eclosió tardana dels cotilèdons	% de cotilèdons amb 3 fulles
<i>D. verdunense</i> (AP)	105	23	21,9	0	0
<i>D. verdunense</i> (BE)	125	41	32,8	0	0
<i>D. pictum</i> (B)	125	66	52,8	1,5	1,5
<i>D. pictum</i> (CT)	125	53	42,4	5,6	9,4
<i>D. pictum</i> (CT)*	100	47	47,0	2,1	0
<i>D. bolosii</i> (LN)	125	0	0	0	0
<i>D. bolosii</i> (P)	125	0	0	0	0

Taula 4.11. PERCENTATGE DE GERMINACIÓ DE LES GRANES OBTINGUDES DELS DIVERSOS TRACTAMENTS.

POBLACIONS	TRACTAMENTS								Total
	Pol.limització lliure	Partenogènesi	Autogàmia	Geitonogàmia	Pol. creuada intrapoblacional	Pol. creuada interpoblacional	Pol. creuada interespecífica		
<i>D. verdunense</i> (AP)	12	---	56	12	8	20	---	21,9	
<i>D. verdunense</i> (BE)	44	---	20	48	28	24	0	32,8	
<i>D. pictum</i> (B)	64	---	76	40	44	40	0	52,8	
<i>D. pictum</i> (CT)	20	---	64	32	36	60	---	42,4	
<i>D. pictum</i> (CT)*	56	---	56	36	40	---	---	47	
<i>D. bolosii</i> (LN)	0	---	0	0	0	0	---	0	
<i>D. bolosii</i> (P)	0	---	0	0	0	0	---	0	

Hom ha posat a germinar 25 granes presumptament viables per cada tractament, excepte les híbrides que la producció era menor.

"---" indica els casos on no s'han obtingut granes viables, o no s'han dut a terme.

**Total** expressa el percentatge global de granes germinades per cada població.

Taula 4.12. % DE GRANES GERMINADES DEL TOTAL DE GRANES PRODUÏDES EN ELS DIVERSOS TRACTAMENTS.

POBLACIONS	TRACTAMENTS							
	Pol.limitació lliure	Partenogènesi	Autogàmia	Geitonogàmia	Pol. creuada intraoblacional	Pol. creuada interoblacional	Pol. creuada interespecífica	
<i>D. verdunense</i> (AP)	9,09	---	18,86	10,10	7,01	15,00	---	
<i>D. verdunense</i> (BE)	17,48	---	3,41	36,08	20,65	18,06	0	
<i>D. pictum</i> (B)	30,37	---	49,23	25,13	26,85	34,03	0	
<i>D. pictum</i> (CT)	15,23	---	38,19	23,68	25,65	30,22	---	
<i>D. pictum</i> (CT)*	39,16	---	37,81	25,52	25,73	---	---	
<i>D. bolosii</i> (LN)	0	---	0	0	0	0	---	
<i>D. bolosii</i> (P)	0	---	0	0	0	0	---	

(Pol.= Pol.limitació)

## 4.4. DISCUSSIÓ

### 4.4.1. PRODUCCIÓ DE GRANES

#### PARTENOGÈNESI

La partenogènesi dona resultats totalment nuls, és a dir, que en els tàxons de *Delphinium* experimentats no es produeixen granes per aquesta via reproductiva. De fet, no són esperables fenòmens de reproducció no sexual en les espècies anuals, però en les perennes tampoc han tingut lloc. En aquestes darreres, però, sí que es donen fenòmens de reproducció asexual per creixement dels òrgans subterranis (reproducció vegetativa). Fins i tot, la fragmentació pot donar lloc a la formació de nous individus. Aquesta propietat ha estat força emprada en jardineria i BASSETT (1992) en descriu la tècnica.

#### POL.LINITZACIÓ LLIURE

Els resultats de la pol.linització lliure, que teòricament haurien de ser els més alts, i que d'alguna manera reflecteixen o intenten reflectir el comportament al camp, han estat relativament baixos, fins i tot si es compara amb alguna reproducció forçada com ara la geitonogàmia. Això pot interpretar-se com que la baixa presència de vectors pol.linitzadors (insectes) a l'hivernacle, comporta un nombre de pol.linitzacions efectives més baix, que no pas quan dipositem pol.len artificialment fins a la saturació de l'estigma. Per tant, no es estrany que s'obtinguin aquests valors. Una prova força evident que les visites d'insectes a l'hivernacle han estat significativament menors, ha estat el fet que les flors presentaven clarament més nèctar que les observades al camp. JORDANO (1990), en un estudi sobre 3 espècies de *Lonicera* L., també obté percentatges de producció de fruits més baixos en pol.linització lliure, en general, que en pol.linització creuada.

#### AUTOGÀMIA

Sorprenentment, l'autogàmia dona alguns èxits, cosa teòricament no explicable en espècies altament especialitzades en la pol.linització per insectes (MÜLLER, 1883).

Les dades bibliogràfiques de què disposem són escasses per saber si es tracta d'un fet aïllat o no. L'autogàmia també ha estat observada per HONG DE-YUAN (1988) en una *Consolida* (DC.) S. F. Gray (gènere filogenèticament molt proper a *Delphinium*, sobretot als anuals) concretament en *Consolida teheranica* (Boiss.) Hong, el qual va obtenir 9 granes viables de dues flors embossades. No mostrava mecanismes de proteràndria.



Aquests resultats, però, no concorden gaire amb els obtinguts per MACIOR (1975, 1978) en experiències d'autofecundació de l'espècie americana *D. tricornis* Mich., el qual va obtenir que pràcticament no s'autofecundaven, amb unes taxes d'un 0 a 0,8 %. L'autor, en vista dels seus resultats concloïa la dependència absoluta d'aquelles flors amb els insectes pol·linitzadors per assegurar la reproducció. ZIMMERMAN (1983), també detecta una disminució del nombre de granes produïdes per autofecundació en una altra espècie americana, *D. nelsonii* Greene. Encara que s'ha de tenir en compte que en aquest camp, és molt difícil de generalitzar i d'extrapolar fenòmens.

Sigui com sigui, en els tàxons que hem estudiat, existeix la capacitat d'autogàmia. Es podrien donar circumstàncies a l'atzar, determinats moviments dels insectes, etc. que ho afavorissin. I en tal cas, podria haver-hi descendència, com ho demostren els relativament alts percentatges obtinguts en els assaigs de germinació. Això és important perquè genèticament ho permeten, és a dir, es tracta d'espècies genèticament autocompatibles, en els tres casos. Els valors del percentatge de granes desenvolupades ha estat considerablement diferent pels tres tàxons considerats. *D. pictum*, registrava els més alts, entre un 60 - 67 %, el seguia *D. bolosii*, amb un 38 - 50 % i finalment, *D. verdunense* amb un 17 - 33 %, és en aquesta espècie on sembla que funcionen millor els mecanismes de dicogàmia o on potser hi ha més incompatibilitat genètica.

Altrament, l'autogàmia podria ser un recurs enfront la manca de pol·linitzadors, com s'ha vist en el cas de la flor de *Digitalis* L. Al igual que *Delphinium*, és una flor zigomòrfica molt vistosa, amb mecanismes de proteràndria, altament especialitzada en la pol·linització per insectes (MÜLLER, 1883), però a manca de vectors emprà l'autogàmia per assegurar la descendència (MÜLLER, *l. c.*; RICHARDS, 1986), encara que això comporti una disminució de la variabilitat genètica.

#### GEITONOGÀMIA

La geitonogàmia és força alta en tots tres casos, potser un xic més baixa que la pol·linització creuada, en general, però depèn del tàxon considerat. El percentatge de granes desenvolupades és sensiblement major en *D. verdunense*, que en els altres dos. Les pol·linitzacions en espècies amb la inflorescència molt ramificada, com justament seria el cas dels tàxons anuals, comporten, probablement, molta geitonogàmia (BLANCHÉ, 1991), deguda a les visites per part dels vectors pol·linitzadors, de branca en branca del mateix individu, cosa que les nostres observacions al camp també demostren (*cf.* capítol 5). En *D. pictum* i *D. bolosii*, és menys probable però també es dona. La geitonogàmia, tot i semblar una característica negativa i empobridora, hem comprovat que reproductivament té lloc i és molt

més similar, en eficàcia en les nostres espècies, a la pol.linització creuada, tot i que alguns autors (RICHARDS, 1986) la consideren més propera a l'autogàmia.

#### POL.LINITZACIÓ CREUADA INTRAPOBLACIONAL I INTERPOBLACIONAL

Els resultats dels percentatges de producció de granes desenvolupades en la pol.linització creuada són força alts, en ambdós casos. De fet, la forma de la corolla adaptada a la pol.linització entomòfila, els mecanismes de dicogàmia i l'índex P/O semblen apuntar que l'allogàmia sigui el sistema reproductiu predominant en aquests tàxons.

La pol.linització interpoblacional és efectiva en uns percentatges alts, tot i que aquests tipus d'encreuaments, en la natura, probablement no tinguin lloc degut a barreres d'aïllament de tipus geogràfic. Aquest fet ens porta a pensar que les diferències genètiques entre les poblacions estudiades són relativament petites.

L'espècie *D. bolosii* dona, en general, percentatges més baixos que les altres dues. Això podria estar relacionat amb el seu caràcter aneuploide que la faci més imperfecta a l'hora de reproduir-se. En espècies perennes, és molt possible que la reproducció vegetativa sigui més elevada i que, d'alguna manera, ho compensi. Normalment, a nivell de població, la del Priorat sembla que respon millor que la de La Noguera, com si estés més estabilitzada, però cal remarcar que la pol.linització creuada intrapoblacional és molt alta a La Noguera, superant-se alguna barrera provocada per l'aneuploidia. Es tracta de poblacions diferenciades.

En *D. pictum* els resultats són similars, potser una mica més baixos en la població de Cala Tuent, Mallorca, la qual cosa sembla indicar que no hi ha massa diferències entre poblacions. En *D. verdunense*, aquesta semblança és encara, potser, més marcada.

#### HIBRIDACIÓ (O POL.LINITZACIÓ CREUADA INTERESPECÍFICA)

Respecte el paper de la hibridació en el gènere *Delphinium*, hi ha hagut algunes controvèrsies entre els diferents autors. Ja en temps de Linné es plantejaven aquests temes. El propi LINNÉ (1735) creia que *D. hybridum* L. (nom que ha estat modificat, actualment *D. cuneatum* Stev. ex DC.) era un híbrid entre *D. elatum* L. i *Aconitum napellus* L. (CHOWDHURI *et al.*, 1958). LEGRO (1961) apunta que, segons la literatura, sembla que no hagi d'ésser difícil l'obtenció d'híbrids, però assenyala la possibilitat de barreres d'encreuament degudes als diferents nivells de ploïdia (essencialment, entre diploides i tetraploides). Aquesta idea ve reforçada pels resultats que obté JANKUN (1973) de baixa viabilitat de la F1 entre parentals de diferent nivell de ploïdia i relativament alts en híbrids obtinguts de tetraploides. Aquest

autor va obtenir una disminució de la viabilitat considerable creuant tàxons una mica allunyats filogenèticament dins la mateixa subsecció, com *D. oxysepalum* i *D. elatum* L.

Amb tot, existeixen poques espècies de les quals se'ls hagi reconegut el seu possible origen híbrid, segons les dades que disposem. Són: *D. gypsophyllum* Ewan, *D. belladonna* Hort. ex Bergm., *D. ruysii* Hort. ex Ruys i *D. kotulae* Pawl. O bé, es tracta d'híbrids obtinguts de manera artificial; cap d'ells, però, pertany a la flora de la Mediterrània occidental. Segons GAGE (1953) la majoria de formes híbrides i cultivars deriven de, relativament, poques espècies: *D. grandiflorum* L., *D. elatum* L., *D. tatsienense* Franch., *D. cardinale* Hook i *D. nudicaule* Torr. & Gray, que es corresponen força amb els que indica BASSETT (1990). Això pot indicar dues coses: que aquestes espècies ja han funcionat prou bé, i que la resta o bé, no s'ha provat o s'híbriden pitjor.

Dels nostres resultats sobre pol.linització creuada interespecífica se'n pot extreure que entre aquestes espècies pràcticament no es produeixen fenòmens d'híbridació, atribuïble probablement a incompatibilitats de tipus genètic interespecífic, la qual cosa era un fet força esperable ja que pertanyen a grups taxonòmicament força diferenciats (totes tres espècies pertanyen a un subgènere diferent).

*D. bolosii* no s'ha creuat amb cap dels altres dos, segurament perquè és filogenèticament llunyà. A part, la seva condició d'aneuploide faria que l'hipotètic aparellament de cromosomes en les meiosis fos difícil.

En canvi, és un fet significatiu que entre *D. pictum* i *D. verdunense* pot haver-hi encreuament, en els dos sentits, però amb un percentatge molt baix. Semblen presentar alguna afinitat filogenètica, però ha de ser poca, sobretot si tenim en compte la notable diferència de la morfologia i mides dels cromosomes d'ambdues espècies. Les granes, fruit d'aquests encreuaments, no han germinat.

#### 4.4.2. GERMINACIÓ

##### 4.4.2.1. Percentatges de germinació

Dels resultats dels percentatges de germinació de les granes obtingudes en els diversos tractaments, en podem extreure que les granes de les dues poblacions de *D. bolosii*, tot i estar aparentment ben desenvolupades, no han assolit el grau de maduració adequat. Com indicava TAMURA & MIZUMOTO (1972), les ranunculàcies, en general, completen el cicle de maduració de la grana més lentament. Podria ser atribuïble a d'altres problemes de caire genètic, però

en general les granes de les estirps perennes germinen pitjor (cf. capítol 3). Finalment, la condició d'aneuploide d'aquest tàxon (i la conseqüent baixa fertilitat dels gàmetes) pot acabar d'explicar la baixa qualitat de la descendència, tot i que externament, les granes es desenvolupen correctament.

Quant als tractaments en concret, cal destacar els valors de fertilitat sorprenents i de moment difícils d'explicar, que ha donat l'autogàmia, en especial en *D. pictum*, ja que si es considera la taula 4.12. és a dir, relacionat amb la producció de granes, per a *D. verdunense* és força més petit. Per tant, com a conclusió podem dir que aquestes plantes permeten l'autogàmia i les granes són fèrtils, tot i que això comporti una disminució de la varibilitat genètica. Caldria demostrar si al camp, també es dona.

La pol.linització creuada ha donat percentatges relativament semblants. Les poques granes obtingudes en la pol.linització creuada interespecífica no han germinat, la qual cosa demostra que existeixen barreres filogenètiques entre les dues espècies.

#### 4.4.2.2. Germinació i desenvolupament

L'estudi de la capacitat de germinació i desenvolupament de la primera fulla ens pot indicar indirectament, l'eficàcia reproductiva real de cadascun dels diversos tractaments. Per tant, és una estimació de la qualitat de la descendència obtinguda. Especialment, el retard de la germinació i desenvolupament pot ser indicativa de la maduració més difícil de l'embrió i de la grana.

A primer cop d'ull de les gràfiques obtingudes i, comparant amb els patrons o models de germinació del capítol 3 per a les poblacions de *D. verdunense* i *D. pictum* considerades en aquest estudi (assaigs de germinació de granes que provenien de les respectives poblacions naturals), el que es pot concloure és que les diferències són poc marcades i, sovint guarden més relació amb el nombre total de granes assajades, que a d'altres factors. D'això se'n desprèn que una vegada s'ha format la grana i ha germinat, la seva qualitat és més o menys la mateixa. Cal tenir en compte, però, que en aquest cas, les diferències que han aparegut no són atribuïbles a variants ecològiques, com podrien ser les experiències del capítol 3, perquè totes les granes han estat formades en les mateixes condicions (les de l'hivernacle). Per tant, han de ser atribuïbles a d'altres factors intrínsecs o genètics de cada població.



## COMENTARIS PER ESPÈCIES

***D. verdunense***

La població (AP) s'assembla força a la figura 3.1., sobretot l'autogàmia, la geitonogàmia i la pol.linització lliure, tot i que és la població en que la germinació ha estat més baixa. Potser caldria matisar un lleuger avançament en la germinació de les granes produïdes per autogàmia. En canvi, les pol.linitzacions creuades, que teòricament semblen ser les més bones, han donat pitjors resultats i les gràfiques són lleugerament diferents. En la pol.linització creuada intrapoblacional, la germinació i desenvolupament es retarden (potser les granes no estan del tot desenvolupades) mentre que en la interpoblacional, germina quan toca, però la primera fulla tarda molt en aparèixer.

La població (BE), en general, tots els tractaments donen gràfiques semblants. L'autogàmia s'assembla a la de l'altra població, però s'allarga una mica. La geitonogàmia i la pol.linització lliure són pràcticament iguals. En aquest cas, les pol.linitzacions creuades han funcionat millor. La intrapoblacional no és tan tardana, però també s'allarga. En l'interpoblacional es produeix un lleuger retard en la germinació i desenvolupament.

***D. pictum***

En la població (B) s'entreveu una tendència a presentar dos tipus de gràfics, els de la pol.linització lliure, autogàmia i geitonogàmia, molt semblants al model patró (*cf.* figura 3.3.) amb un pic de germinació força marcat i el de desenvolupament més allargat i els de les pol.linitzacions creuades, corbes més planes i més allargades. És considerable la semblança entre l'autogàmia i la pol.linització lliure, la qual cosa podria lligar amb el fet que, donada la baixa presència d'insectes a l'hivernacle, les pol.linitzacions podrien atribuir-se a encreuaments autògams.

La població (CT) presenta lleugeres diferències. Potser destaca la pol.linització creuada interpoblacional, que mentre a la resta de poblacions presenta una tendència a allargar-se, aquí té dos pics marcats, és a dir, les granes es concentren més. També a diferència de les altres gràfiques, en el cas de la geitonogàmia es produeix un pic al final del període de desenvolupament de la fulla.

Amb tot, aquestes diferències s'han de considerar menors i concloure que el comportament de les granes és relativament similar.



Com a reflexió final d'aquest apartat, hem d'insistir en la singularitat de l'inesperada existència d'autogàmia (o com a mínim, de possibilitat d'autogàmia). Això ha de fer insistir en l'estudi del comportament a les poblacions naturals amb pol.len marcat per verificar si es dona realment aquesta circumstància. Tanmateix, l'estudi dels sistemes de reproducció dels vegetals és encara molt lluny d'atènyer un abast taxonòmic prou diversificat. Per tant, se'ns poden escapar molts fets que, a mesura que vagin essent coneguts, potser no significaran sorpreses tan espectaculars com detectar possibilitat d'autogàmia en espècies teòricament al.lògames.

En les nostres espècies, l'existència d'aquest fenomen en *D. pictum* pot vincular-se a dues hipòtesis de treball, que caldrà aprofundir en futures recerques:

a) Es tracta d'un paleoendemisme (ABOUCAÏA, 1983 ; VELARQUE *et al.*, 1991) d'àrea relíctica i que, per tant, ha pogut desenvolupar sistemes reproductius alternatius en cas de colònies poc nombroses i aïllades.

b) Es tracta d'un tàxon vinculat filogenèticament de ben a prop amb *D. staphisagria*, que és l'espècie del gènere amb l'esperó més curt (al voltant de 3-4 mm) (*cf.* BLANCHÉ & MOLERO, 1986). Aquesta diferència tant respectable amb la resta de *Delphinium*, fa que no tingui cap sentit aparent la limitació de l'accés dels insectes a la flor en virtut de la llargada de les trompes (fins a 15-20-25 mm, en la resta d'espècies). En permetre una visita de flors més diversa (flor poliflora), es perd especificitat en l'al.logàmia i els moviments que afavoreixen l'autogàmia es poden donar amb més freqüència.

Pel que fa als percentatges elevats d'autogàmia experimental observats en *D. bolosii*, pensem que poden ser atribuïbles més aviat a les alteracions genètiques produïdes per la condició d'aneuploide, tot i que l'aïllament gran de les escasses poblacions conegudes podria explicar el fenomen de manera paral.lela a com ho suposem en *D. pictum*. Abans d'atribuir aquestes característiques a condicions intrínseques del grup *D. fissum* Walds. & Kit., caldrà ampliar l'estudi a d'altres tàxons occidentals del grup (*D. fissum* subsp. *sordidum* o *D. fissum* var. *narbonense*). Finalment, l'autogàmia detectada a *D. verdunense*, és la més baixa.

Una altra hipòtesi a considerar seria que l'autogàmia fos un mecanisme "normal" en aquestes plantes, i que totes les especialitzacions i adaptacions de la corolla a la pol.linització per insectes, la proteràndria, etc. anessin encaminats a evitar-la, ja que, en principi, aquest sistema reproductor comporta una disminució de la variabilitat genètica.

Sigui com sigui, encara es coneix poc de les 750 espècies que componen aproximadament la tribu. Si bé en la majoria de les conegudes, l'al.logàmia és estricta, encara és d'hora per a poder generalitzar.

## **5. BIOLOGIA DE LA POL.LINITZACIÓ**

## 5.1. INTRODUCCIÓ

En la natura existeix un bon nombre d'insectes que, d'una manera regular, visiten les flors perquè s'alimenten del seu pol·len o el seu nèctar. Aquests insectes, que sovint han desenvolupat tota una sèrie de caràcters morfològics per a adaptar-se a aquests hàbits florícoles, se'ls coneix de manera més específica com antòfils. El fet que, alhora que s'alimenten, s'emportin, voluntàriament o involuntàriament, adherits al seu cos un nombre molt elevat de grans de pol·len que són transportats fins a una altra flor, fa que aquests antòfils també s'anomenin insectes pol·linitzadors.

D'altra banda, en el decurs del temps, les plantes han evolucionat amb una clara tendència cap l'hermafroditisme (CREPET, 1983), la qual cosa ha afavorit, de manera especial, la pol·linització per antòfils ja que aquests poden, en una mateixa visita, recollir i dipositar pol·len en una mateixa flor. Les plantes que tenen com a principal vector en el transport del pol·len als antòfils, són designades com a plantes entomòfiles. Són les més freqüents dins dels ecosistemes de les zones temperades.

L'èxit de l'estratègia pol·linitzadora rau, fonamentalment, en dos factors. En primer lloc, és molt important l'adherència del pol·len, ja que aquest ha de quedar ben enganxat a l'antòfil mentre dura el viatge i, posteriorment, desprendre's del seu cos per enganxar-se a l'estigma. En segon lloc, les plantes han d'oferir alguna recompensa als antòfils per tal d'assegurar la regularitat de les visites. Per aquestes dues raons, les plantes entomòfiles tenen un pol·len molt enganxós i ofereixen pol·len o bé nèctar com a aliment als insectes que les visiten (FAEGRI & PIJL, 1979). Resumint, sembla que aquesta relació planta-antòfil es comporta com un sistema "d'economia de mercat", ja que s'intercanvia un "bé" per un "servei". El servei a la planta és donat pel pol·linitzador en transportar el pol·len d'una flor a l'estigma d'una altra flor. El bé el dona la planta al pol·linitzador en forma d'aliment.

D'aquesta manera s'ha establert en molts casos una evolució paral·lela entre la d'aquestes plantes i l'evolució dels seus visitants antòfils (LOKEN, 1981). Aquestes adaptacions d'uns i altres, coneguda com a co-evolució (FAEGRI & PIJL, 1979), té com a principal finalitat optimitzar al màxim el procés de recol·lecció del pol·len i nèctar per part dels antòfils i, des del punt de vista de les plantes, aprofitar la mobilitat d'aquests insectes per a assegurar la reproducció creuada (al·logàmia) entre individus diferents de la mateixa espècie. Aquesta marcada interdependència i adaptació mútua, que es pot catalogar com a mutualisme (BOSCH, 1986), ha aconseguit arribar a cotes sorprenentment altes. Serveixi com a exemple, el cas d'algunes orquidàcies, considerades per molt botànics com una de les famílies més evolucionades dins les angiospermes, on s'han observat moltes espècies que només poden ésser pol·linitzades pel mascle d'un insecte determinat. Així, les abelleres (*Ophrys* sp.), fàcils de veure a la primavera als prats secs i brolles de la terra baixa mediterrània, tenen el label

que representa la imatge d'un fals insecte amb la forma, els colors, el quimisme olorós que actua a distància i la disposició dels pèls a l'abdomen igual als de la femella d'un determinat antòfil. Això actua com un autèntic parany per a atreure els mascles, més si tenim en compte que l'eclosió dels ous dels mascles es produeix en el moment de màxima floració de les abelleres i abans de l'eclosió dels ous de les femelles (FARRÀS, 1988).

Amb l'anterior exemple hem volgut ressaltar la importància, en termes evolutius, de l'eficàcia reproductora (més coneguda pel mot anglès "fitness") com un mecanisme que asseguri la supervivència i expansió d'una determinada espècie vegetal. En aquest marc, la tribu *Delphineae*, i en particular el gènere *Delphinium*, representa un bon exemple de grup evolucionat dins la família de les ranunculàcies atès el grau d'especialització que han assolit les flors d'aquesta tribu (*cf.* capítol 2.1).

Recordem que les flors de *Delphinium* estan especialment adaptades a la pol.linització per insectes (MÜLLER, 1883) (molts estams que permeten el nodriment dels antòfils, producció de nèctar en altes quantitats, emmagatzematge del nèctar en esperons que obliga als insectes a realitzar determinats moviments i, per últim, proteràndria marcada, que evita, dins el possible, l'autogàmia). Per altre costat, hem vist en l'apartat anterior (*cf.* capítol 4) que no sembla possible la partenogènesi com a sistema reproductor, alhora que no sembla que hi hagi mecanismes d'incompatibilitat. Amb tot, l'autogàmia, tot i que factible en teoria, sembla que podria tenir uns índexs baixos en poblacions naturals (MACIOR, 1975, 1978) degut a la proteràndria d'aquestes plantes. La impressió que s'obté en considerar tota aquesta informació és que el gènere *Delphinium* necessita forçosament de l'activitat d'un pol.linitzador per a produir llavors en quantitat i qualitat suficients. Cal incidir amb l'extrema importància d'aquest últim aspecte; tot i que algunes espècies d'aquest gènere es mostrin com a autocompatibles, no sembla que l'autogàmia es doni de manera espontània i efectiva. La manca o davallada dels vectors pol.linitzadors tindria com a resultat una menor producció de granes i unes taxes de germinació probablement menors en les granes produïdes per autogàmia. Les conseqüències representarien un ràpid empobriment de les poblacions i, a la fi, la mort evolutiva de l'espècie.

### 5.1.1. ELS INSECTES ANTÒFELS

En primer lloc cal diferenciar bé aquells insectes que actuen com a veritables antòfils d'aquells altres la presència dels quals sobre les flors és purament accidental, ja que hi cerquen només un amagatall o un lloc de cacera o d'aparellament. Fins i tot, alguns insectes amb hàbits florícoles ben definits, tampoc actuen com a pol.linitzadors. Aquest és el cas d'algunes formigues que, atesa la seva petita mida, poden arribar als nectaris sense tocar cap estam (HERRERA *et al.*, 1984). Un altre exemple ve donat per alguns insectes amb aparell



bucal picador-xuclador que s'han espavilat per extreure el nèctar de les flors perforant la corolla de tal manera que no s'impregnen mai de pol·len. Són els anomenats lladres de nèctar (INOUE, 1980, 1983).

L'eficàcia de la pol·linització depèn, en bona part, de la capacitat mòbil del tipus d'antòfil que visita la flor. Així els antòfils alats poden fer més visites per unitat de temps que no pas un escarabat que pot passar-se molta estona damunt la mateixa flor. Aquest aspecte és d'enorme importància en aquelles espècies que són autoincompatibles. D'aquesta manera, els insectes alats poden visitar un nombre elevat d'individus d'una població produint moltes pol·linitzacions creuades (reproducció al·logama) mentre que aquells que no ho són tan sols van de flor en flor però sense moure's del mateix individu amb la qual cosa afavoreix l'autopol·linització (reproducció per autogàmia o geitonogàmia).

També tenen una certa importància els hàbits alimentaris, fortament relacionats amb el tipus d'aparell bucal, d'aquests insectes. Per posar un exemple, les papallones amb les seves espiritrompes, i les abelles i abellots amb les seves probòscides poden aconseguir el nèctar sense fer malbé cap estructura de la flor; ben al contrari dels escarabats i espècies afins que, amb el seu aparell bucal mastegador, sovint s'enduen el pol·len tot menjant-se tota la flor o bona part d'ella (*cf.* figura 5.1.).

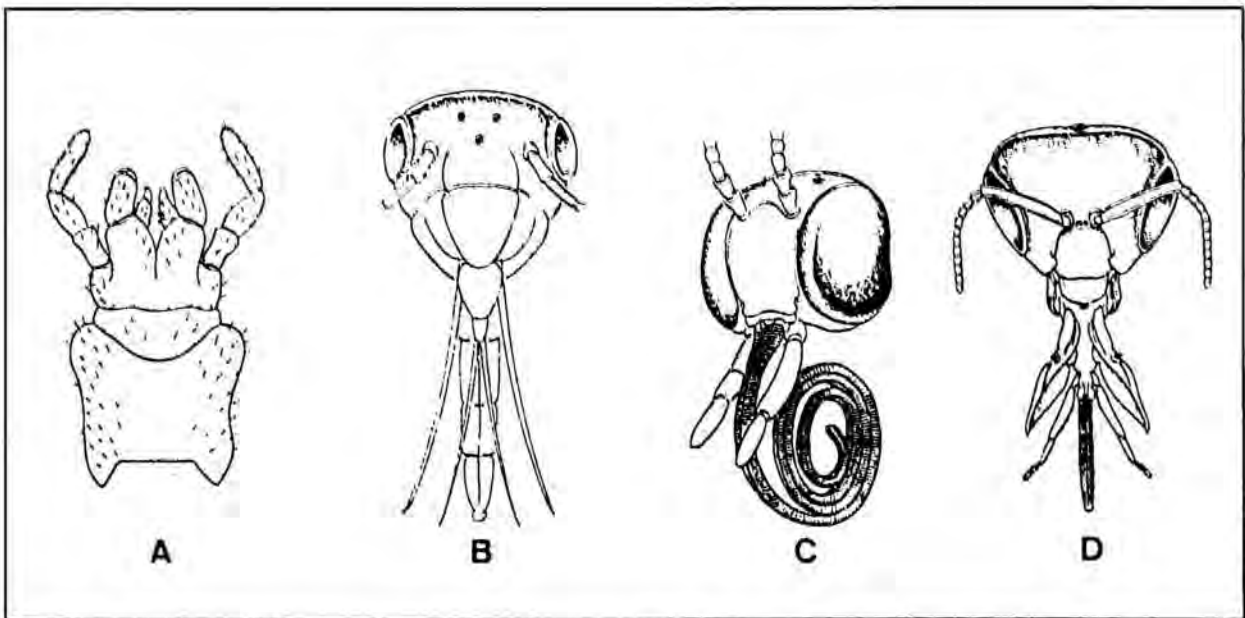


Figura 5.1. TIPOLOGIA DELS APARELLS BUCALS DELS INSECTES (BLAS, 1987).

- A.- Mastegador (coleòpters)
- B.- Picador-xuclador (heteròpters i dípters)
- C.- Llepador-xuclador o espiritrompa (lepidòpters)
- D.- Mastegador-llapador (himenòpters)



No podem oblidar, per últim, l'extrema importància de l'especificitat del sistema mutualista antòfil-planta. La constància de les visites a un grup molt reduït d'espècies vegetals evita que es produeixi un excés de pol.linitzacions heteroespecífiques que, en conseqüència, faria davallar molt l'eficàcia de la pol.linització, degut, essencialment, a dos motius. D'una banda, significa una despesa inútil per a la planta i, per l'altra, se satura l'estigma i es dificulta la germinació del pol.len conespecífic (RATHCKE, 1983). A la planta li interessa, doncs, adaptar-se per facilitar el reconeixement per part dels antòfils mitjançant tota mena de reclams òptics o bé olfactius (atraients secundaris) i oferint recompenses alimentàries (atraients primaris) (FAEGRI & PUL, 1979). Fins i tot, l'emmagatzamatge del nèctar en profundes cavitats (cas dels *Delphinium*) representa una adaptació per tal que ben pocs antòfils siguin capaços de cercar-lo a tan extrema profunditat. Tots aquests mecanismes estan encaminats a fer arribar pol.len conespecífic amb l'única finalitat de produir granes i perpetuar, d'aquesta manera, l'espècie. Des del punt de vista dels insectes, els quals són capaços de distingir, en major o menor grau, tipus de flors, associar-les a les recompenses que els hi ofereixen i escollir les que els hi resultin més profitoses (BOSCH, 1986), aquesta constància també els hi és beneficiosa, ja que han d'aprendre a "manipular" les flors visitades (com entrar a la corolla, localitzar els nectaris, com recollir el pol.len, etc.). Aquest aprenentatge els permet augmentar el nombre de visites per unitat de temps, així com l'eficàcia recol.lectora (EICKWORT & GINSBERG, 1980).

D'entre els grups d'insectes que actuen com a pol.linitzadors esmentarem per ordre creixent d'importància, els heteròpters, els coleòpters, els dípters, els lepidòpters i els himenòpters, tenint en compte, però, que molts altres ordres poden actuar com a pol.linitzadors de manera ocasional (KEVAN & BAKER, 1983).

#### ELS HETERÒPTERS (xinxes)

Algunes formes terrestres com els tígids i els mírids (xinxes de les plantes) tenen una especialització alimentària vegetal, bé nodrint-se amb el pol.len, menjant-se les mateixes flors o d'altres òrgans de les plantes. Sens dubte, aquests són els menys importants des del punt de vista de la pol.linització i tan sols, de manera excepcional, poden, en un nombre molt reduït d'espècies vegetals, tenir un paper rellevant en el transport del pol.len.

#### ELS COLEÒPTERS (escarabats)

Aquests insectes prengueren importància com a pol.linitzadors en el Permtriàsic, justament quan els espermatòfits aconseguiren una gran radiació, poblant bona part de la superfície terrestre (CARPENTER, 1976; LOKEN, 1981). Cal considerar aquest grup, doncs, com

els antòfils més primitius, idea que ve recolzada per les minses adaptacions d'aquests insectes als costums florícoles. Els mordèl.lids, oedemèrids, cerambícids, clèrids, escarabèids, elatèrids, nitidúlids, melfrids, cantàrids i brúquids són els que més visiten les flors (KEVAN & BAKER, 1983) alimentant-se del pol.len i, ocasionalment del nèctar, que no poden xuclar a causa de l'aparell bucal mastegador (*cf.* figura 5.1.A), però també poden nodrir-se dels primordis seminals (BORROR *et al.*, 1981) la qual cosa representa, en aquest últim cas, un estrall per a la planta. Les flors pol.linitzades principalment per coleòpters s'anomenen cantaròfiles (FAEGRI & PUL, 1979).

#### ELS DíPTERS (mosques i mosquits)

De la nostra fauna, els més lligats als hàbits florícoles són els bombílids, els sírfids i els conòpids. Aquests grups presenten un aparell bucal tipus xupador o picador-xuclador (*cf.* figura 5.1.B) que els facilita l'extracció del nèctar en aquelles flors que el tenen força a l'abast. També poden ingerir fàcilment pol.len perquè l'insecte prèviament el mulla amb saliva (PROCTOR & YEO, 1973). Tenint en compte que són molt més mòbils i amb els sentits més desenvolupats que els coleòpters (LOKEN, 1981), i que realitzen moviments més precisos a l'hora d'extreure'n el nèctar (FAEGRI & PUL, 1979), és fàcil suposar que aquest grup juga un paper pol.linitzador més important que els dos grups anteriors. Les plantes adaptades a la pol.linització per dípters es coneixen com a miòfiles (FAEGRI & PUL, 1979).

#### ELS LEPIDÒPTERS (papallones)

Gairebé la totalitat de papallones de vida diürna i bona part de les de vida nocturna s'alimenten bàsicament del nèctar de les plantes. La importància d'aquests pol.linitzadors ve determinada pel fet de posseir un aparell bucal llarguíssim i enrotllable, anomenat espiritrompa (*cf.* figura 5.1.C) capacitat per arribar al nèctar de flors amb corol.les tubulars profundes, com podria ser el cas de *Delphinium*. Són, precisament, aquest tipus de plantes on els lepidòpters representen un rol important com a pol.linitzadors. Les flors adaptades a la pol.linització per papallones diürnes s'anomenen psicòfiles, i si es tracta de nocturnes, falenòfiles (FAEGRI & PUL, 1979). Per tal d'optimitzar aquesta col.laboració, la flor s'ha anat fent més conspícua amb formes, colors, esquemes i olors ben diferenciades. D'aquesta manera els lepidòpters poden reconèixer amb facilitat una determinada espècie i visitar amb més probabilitat flors del mateix tàxon deixant, així, el pol.len en els estigmes adequats.

Amb tot, alguns autors (WICKLUND *et al.*, 1979, 1982; LAZRI & BARROWS, 1984) consideren les papallones diürnes com a lladres de nèctar, donada la seva morfologia (trompa i potes molt llargues que dificulten el contacte del cos amb els estams) no arriben a

pol.linitzar, però d'altres autors (LEVIN & BERUBE, 1971; COURTNEY *et al.*, 1982), en canvi, han demostrat la seva eficàcia pol.linitzadora.

#### ELS HIMENÒPTERS (abelles i abellots)

Aquests són els insectes considerats pol.linitzadors per autonomàsia (BAKER & HURD, 1968; HEINRICH & RAVEN, 1972; PROCTOR & YEO, 1973; JAEGER, 1976; FAEGRI & PIJL, 1979; EICKWORT & GINSBERG, 1980; etc.). Convé diferenciar, però, en dos grups els himenòpters. En el primer, format pels esfècids, eumènids i vèspids, tenen les peces bucals curtes i de tipus mastegador, tot i que estan adaptades per a llepar. Així la seva importància com a pol.linitzadors no depassa la que puguin tenir els dípters.

El segon grup reuneix tots els apoïdeus, que són considerats com els millor adaptats a explotar el pol.len. Aquest fet es deu a què, tant els adults com les larves, s'alimenten exclusivament de nèctar i pol.len, i això els obliga a dependre inexcusablement de les visites a les flors (anomenades mel.litòfiles, FAEGRI & PIJL, 1979) ja que han d'abastir d'aliments els nius. Hom calcula que entre un 70-95 % dels antòfils de les nostres latituds pertanyen a aquest grup (BOSCH, 1987).

Els apoïdeus estan molt ben adaptats per a executar la funció de recollida de pol.len i nèctar. En primer lloc, tenen un aparell bucal tipus mastegador-llepador (*cf.* figura 5.1.D) sovint robust i molt llarg que els permet accedir als nectaris més amagats. També tenen els cos recobert de pèls que facilita l'adherència del pol.len (ROBERTS & VALLESPÍR, 1978) i, fins i tot, algunes abelles disposen d'unès estructures anomenades escopes o corbícules especialment concebudes per al transport del pol.len (JANDER, 1976; MICHENER *et al.*, 1978), (es tracta de pol.len amassat en una mena de cistellets situats a les túbies posteriors, molt freqüent en abelles, *Apis mellifica*, i abellots, *Bombus* sp.). Si anatòmicament aquests insectes ja estan ben adaptats als costums florícoles, no ho és menys la seva capacitat per a manipular algunes flors amb destresa, habilitat i precisió (EICKWORT & GINSBERG, 1980). Uns sentits molt desenvolupats els hi permeten, igualment, reconèixer les diferents espècies vegetals la qual cosa implica una certa constància en les visites (GRANT, 1950; FREE, 1970). Per últim, les espècies socials (com l'abella de la mel) tenen un major protagonisme pol.linitzador puix els seus rituals d'aparellament permeten concentrar un gran nombre d'individus en les plantes que ells consideren més productives.

Un índex d'aquest mutualisme, que gairebé podríem catalogar com d'obligat, és el nombre total d'espècies d'abelles en la conca mediterrània occidental que hom calcula que supera el miler (PÉREZ-IÑIGO, 1982). En l'àmbit mundial aquesta diversitat només és superada per l'estat nord-americà de Califòrnia amb gairebé dues mil espècies d'abelles. Paral.lelament, hom coneix que entre un 70 i 90 per cent de les plantes que pertanyen a ecosistemes de clima



mediterrani, són espècies entomòfiles, o sia, pol.linitzades per insectes. Aquestes xifres donen una idea del grau de relació i d'interdependència del sistema flor-pol.linitzador. Altrament, alguns investigadors s'han aventurat a postular que la major diversitat florística que existeix a la conca mediterrània enfront la de latituds més septentrionals, podria tenir a veure amb una major eficàcia dels sistemes pol.linitzadors que afavoririen la reproducció creuada estimulants, d'aquesta manera, l'especiació.

### 5.1.2. LA POL.LINITZACIÓ EN *DELPHINIUM*

Les observacions sobre la pol.linització en *Delphinium*, han estat dutes a terme per MÜLLER (1883); ROBERTSON (1889, 1929); CLEMENTS & LONG (1923); EPLING & LEWIS (1952); LEWIS & EPLING, 1959; GRANT & GRANT (1968); SCHLISING & TURPIN (1971), MACIOR (1975, 1978); WASER & PRICE (1990); etc.

De fet, les flors de *Delphinium* s'acorden a la clàssica "síndrome de pol.linització per abellots" (MÜLLER, 1883, KNUTH, 1895-1905, BAKER & HURD, 1968, FAEGRI & PIJL, 1979). Les característiques de les flors que presenten aquesta síndrome segons FAEGRI & PIJL (*l. c.*) són: flors zigomòrfiques, amb gran efecte de profunditat, mecànicament fortes, amb estructures adequades per a l'aterratge de l'insecte. Colors vius, generalment grocs o blaus, sovint presenten guies de nèctar. Oloros fresques, no molt fortes. Nèctar amagat profundament, en quantitats moderades. Els òrgans sexuals solen estar amagats.

En les espècies estudiades prèviament (majoritàriament americanes), tot sembla apuntar que existeix certa especificitat quant a la pol.linització d'aquestes flors, per part dels abellots. En aquest sentit, PESSON & LOUVEAUX (1984) consideren els abellots del gènere *Bombus* els millors, i potser els únics, pol.linitzadors d'*Aconitum*, *Delphinium* i *Aquilegia*. Fins i tot, assenyalen la coincidència que es produeix en l'àrea de distribució mundial entre els gèneres d'*Aconitum* i *Bombus*.

FAEGRI & PIJL (1979) defensen que la raó principal per la qual flors relativament simples com les d'*Aconitum* o *Delphinium* depenen exclusivament dels abellots per a la seva pol.linització, és la distància del nèctar i la seva accesibilitat. Han de ser insectes robusts i suficientment forts, capaços de separar els pètals laterals i introduir el cap per xuclar el nèctar contingut dins l'esperó.

Malgrat aquesta síndrome i la tendència a l'especificitat anteriorment esmentada, algunes espècies americanes són també pol.linitzades per colibrís (GRANT & GRANT, 1968; SCHLISING & TURPIN, 1971; MACIOR, 1975; WARNOCK, 1981; GUERRANT, 1982; WASER & PRICE, 1990; INOUE *et al.* 1991).

## 5.2. MATERIAL I MÈTODES

### 5.2.1. MATERIAL

El treball de camp d'observació del comportament i captura dels possibles vectors pol.linitzadors, ha estat efectuat en aquelles poblacions de *Delphinium* escollides prèviament per a la realització de la totalitat dels estudis presents en aquesta Memòria. És important que es tracti de les mateixes poblacions on s'ha recollert granes i el material vegetal emprat pels estudis de germinació i dels sistemes reproductius, duts a terme a l'hivernacle del Laboratori de Botànica, perquè els resultats siguin del tot comparables. Malauradament, per motius de desplaçament i de temps, la població mallorquina de *D. pictum* de Bóquer no ha pogut ser visitada, i per tant, no s'hi va poder dur a terme el treball de camp.

### DESCRIPCIÓ DE LES POBLACIONS

Tot i que en les descripcions de les poblacions ja han estat referenciades en el capítol inicial, en aquest apartat ens disposem a adjuntar, de manera sintètica, algunes dades complementàries sobre els dies i hores d'observació, les condicions climatològiques durant la realització de la tasca, les taques estudiades i el nombre d'individus que les composaven. S'indica també, la mitjana i l'error estàndard del nombre de branques laterals per individu i la mitjana i l'error estàndard del nombre de flors per individu, l'estat fenològic de les mateixes durant aquest període, i alguna observació que pugués tenir alguna mena de trascendència en el tema, per a cadascuna de les poblacions estudiades.

#### *D. verdunense* (AP)

Dies d'estudi	Hores*	Condicions climatològiques
18/7/92	6	Sol molt fort, poc vent, una mica més a la tarda.
19/7/92	5	Dia molt assolellat, vent molt suau, temperatures altes.
1/8/92	4	Sol molt fort, vent suau.
2/8/92	3	Sol fort, vent suau.
5/8/92	4	Tapat, sense vent, a la tarda surt el sol.
	20	

\* Hores d'observació al camp, l'ombregat indica el total d'hores.



## Taca estudiada:

Nombre d'individus: 35

Nombre de ramificacions per individu:  $7,4 \pm 0,8$ Nombre de flors per individu:  $92,6 \pm 4,8$ 

Estat fenològic:

En flor, algunes poncelles encara per obrir-se (són inflorescències molt ramificades que floreixen de forma gradual), alguns individus ja presenten fruits, però encara no estan madurs.

Observacions:

Pràcticament no apareixen esperons foradats.

*D. verdunense* (BE)

Dies d'estudi	Hores*	Condicions climatològiques
21/8/92	3	Dia plujós i núvol.
26/8/92	5	Dia rúfol, amb intervals de sol i 4 gotes. Temperatures altes.
	8	

\* Hores d'observació al camp, l'ombreat indica el total d'hores.

## Taca estudiada:

Nombre d'individus: 15

Nombre de ramificacions per individu:  $7,5 \pm 0,6$ Nombre de flors per individu:  $131,1 \pm 30,2$ 

Estat fenològic:

La meitat aproximadament en flor i l'altra meitat en fruit.

Observacions:

Apareix un 5 % dels esperons foradats. Notable presència de cargols i orugues.

*D. pictum* (CT)

Dies d'estudi	Hores*	Condicions climatològiques
9/6/92	5	Dia assolellat, una mica de vent.
10/6/92	7	Dia força tapat, amenaçant pluja. A la tarda millora. Fa fred.
	12	

\* Hores d'observació al camp, l'ombreat indica el total d'hores.

## Taca estudiada:

Nombre d'individus: 5 (el primer dia) / 32 (el segon dia).

Nombre de ramificacions per individu:  $3 \pm 1$

Nombre de flors per individu:  $30 \pm 2,6$

## Estat fenològic:

La majoria d'individus presenten la meitat de les flors que ja es troben en estadi de fructificació.

## Observacions:

Pràcticament no s'observen esperons foradats. Notable presència d'orugues que es mengen les peces florals.

*D. bolosii* (LN)

Dies d'estudi	Hores*	Condicions climatològiques
20/6/92	7	Dia una mica tapat, sobretot al matí. Plou al vespre.
21/6/92	8,5	Dia molt assolellat (a la nit ha plogut).
22/6/92	2	Dia un xic tapat, quatre núvols, vent suau.
4/7/92	5	Dia força destapat.
5/7/92	4,5	Dia molt assolellat.
	27	

\* Hores d'observació al camp, l'ombregat indica el total d'hores.

## Taca estudiada:

Nombre d'individus: 9 / 10 / 16

Nombre de ramificacions per individu:  $2 \pm 0,2$

Nombre de flors per individu:  $34,68 \pm 4,9$

## Estat fenològic:

Els primers dies d'observació, totes les plantes en floració, amb algunes poncelles per obrir-se, sense cap fruit. La segona vegada, la meitat de flors aproximadament ja havien fructificat.

## Observacions:

Un percentatge molt elevat de flors presenten l'esperó foradat.

*D. bolosii* (P)

Dies d'estudi	Hores*	Condicions climatològiques
27/6/92	4	Matí assoleiat, a la tarda un xic tapat, però no amenaça pluja.
28/6/92	8,5	Dia assoleiat, un xic de vent a la tarda.
29/6/92	7	Dia assoleiat, vent fort al migdia.
9/7/92	6	Dia un xic tapat, millora cap a la tarda.
	25,5	

\* Hores d'observació al camp, l'ombregat indica el total d'hores.

## Taca estudiada:

Nombre d'individus: 9 / 7 / 30 / 15

Nombre de ramificacions per individu:  $2 \pm 0,5$

Nombre de flors/ individu:  $46,7 \pm 7,3$

Estat fenològic:

Primers dies d'observació, encara hi ha poncelles per obrir-se, i encara cap fruit. La segona vegada, ja hi ha plantes amb fruit. Aquesta població va retrasada aproximadament una setmana, respecte l'altra.

Observacions:

Apareixen alguns esperons foradats però la proporció és més baixa que en la Noguera. Hi ha molts esbarzers per la zona (*Rubus canescens* DC.), molt visitats per abelles (*Apis mellifica* L.) i algun *Bombus*, fa una competència molt forta. També *Saponaria ocymoides* L. és molt visitada per bombílids.

## UTILLATGE

Caçapapallones

Flascó de vidre amb encenalls de suro

Acetat d'etil

Capses de suro o "porexpan"

Agulles entomològiques (del nombre 1 o 2)

Capses entomològiques

Naftalina

Cronòmetre

Gravadora

### 5.2.2. METODOLOGIA

Per a l'observació dels possibles vectors pol.linitzadors que actuen sobre les flors d'aquests tàxons, principalment insectes, ja que són plantes clarament entomòfiles (MÜLLER, 1883), hom ha realitzat censos dels insectes que visitaven les flors de *Delphinium*, tot fent blocs de 10-15 minuts de duració, en diferents períodes de temps al llarg del dia.

Durant aquests períodes s'observa el comportament general de l'insecte quan visita la flor, que pot tenir trascència en l'activitat pol.linitzadora, quantes flors visita, si pertanyen o no a la mateixa inflorescència, quin és el model de vol, quanta estona estan aproximadament dins la flor, si visita les flors del voltant (possibles competidores), etc. Per facilitar la tasca, el comportament ha estat enregistrat en una gravadora.

En una segona fase, hom captura exemplars dels visitants florals amb l'ajut d'un caçapapallones, per a la seva posterior identificació. És relativament senzill atrapar-los, sobretot quan es troben sobre les flors, donada la tendència o instint que presenten, en general, d'anar cap amunt. Se situa el caçapapallones perpendicular a la inflorescència tot subjectant l'extrem de la xarxa amb l'altra mà i, sense fer moviments excessivament bruscos perquè les bestioles no s'espantin abans d'hora, es procura enxampar-los. Una vegada l'insecte es troba dins el caçapapallones, es traspasa a un flascó de vidre que conté encenalls de suro, que prèviament han estat impregnats amb acetat d'etil, però sense que resti líquid sobrenedant, i es tapa hermèticament perquè s'ofegui l'animal. Atesa la volatilitat d'aquesta substància, i que el flascó al camp sovint està exposat al sol potenciant aquesta propietat, de tant en tant, caldrà afegir més acetat d'etil.

Els insectes capturats, una vegada morts, es munten amb agulles entomològiques i són transportats des del camp en caixes de suro o "porexpan". En el cas de les papallones, cal procurar que quedin amb les ales exteses (ja que llurs dibuixos i taques són molt importants a l'hora de determinar-les) i si no es fa acabades de caçar, després resulta més difícil.

En el Laboratori, per dur a terme la conservació dels insectes capturats, es col.loquen dins de caixes entomològiques, etiquetats, i s'introdueixen unes boles de naftalina per evitar que hi actuïn altres organismes que podrien destruir els exemplars. En aquestes condicions es pot guardar a temperatura ambiental, en un lloc sec. Si existissin problemes de contaminacions, es pot ruixar la caixa buida amb insecticida i una vegada s'han col.locat els insectes, mantenir-la uns dies al congelador (MASÓ, com. pers.).

Els insectes han estat determinats per companys del Departament d'Invertebrats de la Facultat de Biologia, de la Universitat de Barcelona, i els més conflictius, per assegurar-ne la seva correcta identificació (Sírfids, *Bombus*, Eumènids, etc.) han estat enviats als respectius

especialistes. Alguns dípters, però, malauradament no han pogut estar identificats (indicats a les taules per les abreviacions N.I.), sobretot degut a la manca d'especialistes d'aquests grups.

D'alguns insectes, els més representatius, se n'ha pres fotografies, durant la seva activitat sobre les flors de *Delphinium* (cf. figura 5.2.).

Alguns antòfils capturats, els veritablement pol.linitzadors, portaven pol.len adherit a diferents parts del cos (potes, ventre, etc.). En molts himenòpters (sobretot apoïdeus com ara *Bombus*, *Apis*, etc.) és freqüent la presència, a les tíbies posteriors, de corbícules (cf. figura 5.2.F), que estan formades per pol.len aglutinat amb saliva de l'antòfil (JANDER, 1976; MICHENER *et al.*, 1978). Hom n'ha pres mostres per a estudiar-ne la seva composició. Això ens pot donar idea de si es tracta d'insectes oligolèctics o polilèctics, és a dir, si visitaven poques o moltes flors i confirmar que realment anaven a les flors de *Delphinium* i transportaven pol.len. Per a realitzar les preparacions, es diposita el pol.len de l'insecte, espolsant-lo si només el té adherit o, si es tracta de les corbícules, se'n trenca un tros amb unes pinces, sobre un portaobjectes que prèviament contenia una gota de tampó fosfat 0,1 M. Amb l'ajut d'una llanceta, es procura disgregar bé el pol.len i repartir-lo homogèniament. En una placa calefactora, s'escalfa glicerina fucsina a uns 60 °C fins que esdevé líquida. Quan s'ha evaporat una mica el tampó fosfat, s'afegeix la glicerina fucsina, es mescla bé perquè es reparteixi homogèniament, es tapa amb un cobreobjectes i es deixa solidificar i refredar. Mitjançant un microscopi òptic a 400 o 1000 augments s'identifica el pol.len, comparant-lo amb la palinoteca de referència del Laboratori de Botànica.

### 5.3. RESULTATS

Les taules 5.1., 5.2., 5.3., 5.4. i 5.5 corresponen als llistats dels insectes visitants i pol.linitzadors potencials de les flors de *Delphinium*, per a cadascuna de les poblacions estudiades, durant els períodes d'observació al camp. En aquests llistats s'indica, també, els percentatges de les freqüències de visites, per espècie i per ordre. La taula 5.6. recull, com a resum, els percentatges de visites per ordres d'insectes de totes les poblacions.

La taula 5.7. indica la composició pol.línica d'alguns dels antòfils capturats, que presentaven, a simple vista, quantitats relativament altes de pol.len. La selecció s'ha realitzat a partir dels insectes més assidus que presentaven càrregues de pol.len més nombroses, però en cap cas s'ha pretès una recerca sistemàtica en aquest aspecte.



Taula 5.1. VISITANTS I POL·LINITZADORS POTENCIALS DE *D. verdunense* (AP).

ESPÈCIE	Nombre de registres: 147	%
<b>HYMENOPTERA</b>		<b>51,6</b>
Apidae		
<i>Bombus pasquorum rufocitrinus</i> L.		1,4
<i>Apis mellifera</i> L.		0,7
Vespidae		
<i>Polistes dominulus</i> Christ.		4
Eumenidae		
<i>Alastor atropos</i> Lep.		2,7
Halictidae		
<i>Nomia</i> sp.		9,5
<i>Lassioglossum</i> sp.		10,9
Anthophoridae		
<i>Amegilla fasciata</i> Vill.		17,7
<i>Cerauna dentiiventris</i> Gerst.		4,8
<b>LEPIDOPTERA</b>		<b>38,0</b>
Papilionidae		
<i>Papilio machaon</i> L.		3,4
Nymphalidae		
<i>Cynthia cardui</i> L.		1,4
<i>Mellicta deione</i> L.		0,7
Lycaenidae		
<i>Lycaena phalaena</i> L.		2,0
<i>Polyommatus icarus</i> Rottemburg		2,7
Pieridae		
<i>Artogeia rapae</i> L.		7,5
<i>Pontia daplidice</i> Hübner		4,0
<i>Colias croceus</i> Geoffroy		1,4
<i>Gonopteryx rhamni</i> L.		4,0
<i>Gonopteryx cleopatra</i> L.		2,7
Sphingidae		
<i>Macroglossum stellatarum</i> L.		8,2
<b>DIPTERA</b>		<b>9,6</b>
Syrphidae		
<i>Sphaerophoria scripta</i> L.		7,5
<i>Paragus (Pandasyophthalmus)</i> sp.		1,4
Asilidae		
N.I.		0,7
<b>COLEOPTERA</b>		<b>0,7</b>
Chrysomelidae		
<i>Clytra</i> sp.		0,7

Taula 5.2. VISITANTS I POL·LINITZADORS POTENCIALS DE *D. verdunense* (BE).

ESPÈCIE	Nombre de registres: 38	%
<b>HYMENOPTERA</b>		<b>42,2</b>
Vespidae		
<i>Polistes omissus</i> Weranch		5,3
Halictidae		
<i>Halictus</i> sp.		23,7
<i>Lassioglossum</i> sp.		7,9
Andrenidae		
<i>Andrena</i> sp.		5,3
<b>LEPIDOPTERA</b>		<b>36,7</b>
Papilionidae		
<i>Papilio machaon</i> L.		7,9
Lycaenidae		
<i>Polyommatus icarus</i> Rottemburg		2,6
Pieridae		
<i>Pieris brassicae</i> L.		2,6
<i>Artogeia rapae</i> L.		7,9
<i>Gonopteryx cleopatra</i> L.		2,6
Sphingidae		
<i>Macroglossum stellatarum</i> L.		10,5
Geometridae		
<i>Lythria purpuraria</i> L.		2,6
<b>DIPTERA</b>		<b>13,2</b>
Syrphidae		
N.I.		5,3
Bombylidae		
<i>Bombylius</i> sp.		7,9
<b>HETEROPTERA</b>		<b>7,9</b>
Rhopalidae		
<i>Chorosoma schillingi</i> Schummel		2,6
Pentatomidae		
<i>Eurydema ventrale</i> Kolenati		5,3

Taula 5.3. VISITANTS I POL·LINITZADORS POTENCIALS DE *D. pictum* (CT).

ESPÈCIE	Nombre de registres: 46	%
<b>HYMENOPTERA</b>		<b>32,5</b>
Apidae		
	<i>Bombus terrestris ferrugineus</i> Schm.	10,86
	<i>Bombus pasquorum rufocitrinus</i> L.	6,5
	<i>Apis mellifera</i> L.	6,5
Megachillidae		
	<i>Anthidium dentatum</i> Latr.	6,5
Xylocopidae		
	<i>Xylocopa</i> sp.	2,2
<b>LEPIDOPTERA</b>		<b>13,0</b>
Sphingidae		
	<i>Macroglossum stellatarum</i> L.	13,0
<b>DIPTERA</b>		<b>28,2</b>
Syrphidae		
	<i>Mellicavea auricollis</i> Meigen	21,7
	<i>Eristalis tenax</i> L.	6,5
Calliphoridae		
	N.I.	4,3
<b>COLEOPTERA</b>		<b>15,1</b>
Oedemeridae		
	<i>Oedemera barbara</i> (F.)	8,6
Scarabeidae		
	<i>Oxythirea funesta</i> Poda	6,5
<b>HETEROPTERA</b>		<b>10,8</b>
Pentatomidae		
	<i>Carcoporis mediterraneus atlanticus</i> Tamanini	4,3
	<i>Graphosoma lineatum italicum</i> Müller	2,2

Taula 5.4. VISITANTS I POL·LINITZADORS POTENCIALS DE *D. bolosii* (LN).

ESPÈCIE	Nombre de registres: 299	%
<b>HYMENOPTERA</b>		<b>26,9</b>
Apidae		
	<i>Bombus terrestris terrestris</i> Krüger	20
	<i>Bombus terrestris ferrugineus</i> Schm.	
	<i>Bombus pasquorum rufocitrinus</i> L.	1
Megachilidae		
	<i>Osmia submicans</i> Morawitz	2
Scoliidae		
	<i>Scolia flavifrons</i> Fabricius	0,6
Eumenidae		
	<i>Alastor atropos</i> Lep.	1,3
Anthophoridae		
	<i>Anthophora dispar</i> Lep.	2
<b>LEPIDOPTERA</b>		<b>57,6</b>
Nymphalidae		
	<i>Cynthia cardui</i> L.	0,3
Hesperiidae		
	<i>Thymelicus sylvestris</i> Poda	1
Lycaenidae		
	<i>Polyommatus icarus</i> Rottemburg	0,3
Satyridae		
	<i>Pyronia bathseba</i> Fabricius	0,3
	<i>Melanargia lachesis</i> Hübner	0,3
Pieridae		
	<i>Pieris brassicae</i> L.	2
	<i>Artogeia rapae</i> L.	1,3
	<i>Artogeia napi</i> L.	0,6
	<i>Euchloe ausonia</i> Hübner	0,3
	<i>Colias croceus</i> Geoffroy	0,3
	<i>Gonopteryx rhamni</i> L.	4
	<i>Gonopteryx cleopatra</i> L.	2,3
Sphingidae		
	<i>Macroglossum stellatarum</i> L.	44,6
<b>DIPTERA</b>		<b>14,6</b>
Syrphidae		
	<i>Mellicavea auricollis</i> Meigen	
	<i>Sphaerophoria scripta</i> L.	11,4
	<i>Eupodes corollae</i> Fabricius	
	<i>Episyrphus balteatus</i> De Geer	
	<i>Eristalis tenax</i> L.	2,6
Bombyliidae		
	<i>Bombylius</i> sp.	0,6
<b>HETEROPTERA</b>		<b>0,9</b>
Pentatomidae		
	<i>Graphosoma linetaum italicum</i> Müller	0,6
Rhopalidae		
	<i>Chorosoma schillingi</i> Schummel	0,3

Taula 5.5. VISITANTS I POL.LINITZADORS POTENCIALS DE *D. bolosii* (P).

ESPÈCIE	Nombre de registres: 226	%
<b>HYMENOPTERA</b>		<b>54,6</b>
Apidae		
	<i>Bombus terrestris terrestris</i> Krüger	8,8
	<i>Bombus terrestris ferrugineus</i> Schm.	
	<i>Bombus pasquorum rufocitrinus</i> L.	2,2
Eumenidae		
	<i>Alastor atropos</i> Lep.	22,1
Halictidae		
	<i>Lassioglossum</i> sp.	20,7
<b>LEPIDOPTERA</b>		<b>30,2</b>
Papilionidae		
	<i>Papilio machaon</i> L.	0,1
Hesperiidae		
	<i>Thymelicus sylvestris</i> Poda.	2,2
Satyridae		
	<i>Brintesia circe</i> Fabricius	1,3
	<i>Melanargia lachesis</i> Hübner	0,4
Pieridae		
	<i>Colias croceus</i> Geoffroy	0,8
	<i>Gonopteryx rhamni</i> L.	4,4
	<i>Gonopteryx cleopatra</i> L.	0,8
Sphingidae		
	<i>Macroglossum stellatarum</i> L.	15,5
<b>DIPTERA</b>		<b>15,6</b>
Syrphidae		
	<i>Episyrphus balteatus</i> De Geer	3,5
	<i>Eristalis tenax</i> L.	0,8
Bombyliidae		
	<i>Bombylius</i> sp.	7,5
	<i>Anthrax</i> sp.	2,2
Calliphoridae		
	N.I.	0,4
	<i>Brachycera</i> sp.	0,4
Therevidae		
	N.I.	0,8
<b>HETEROPTERA</b>		<b>0,8</b>
Coreidae		
	<i>Coreus marginatus</i> L.	0,8



Taula 5.6. PERCENTATGE DE VISITES EN ELS PRINCIPALS GRUPS D'INSECTES.

POBLACIONS	Himenòpters	Lepidòpters	Dípters	Coleòpters	Heteròpters
<i>D. verdunense</i> (AP)	51,6	38	9,6	0,7	---
<i>D. verdunense</i> (BE)	42,2	36,7	13,2	---	7,9
<i>D. pictum</i> (CT)	32,5	13	28,2	15,1	10,8
<i>D. bolosii</i> (LN)	26,9	57,6	14,6	---	0,9
<i>D. bolosii</i> (P)	54,6	30,2	15,6	---	0,8

Taula 5.7. COMPOSICIÓ DEL POL.LEN D'ALGUNS ANTÒFILS.

ANTÒFIL	POBLACIÓ	PART COS	POL.LEN *
<i>Bombus terrestris</i>	La Noguera	Potes (corbícules)	<i>Delphinium</i> / <i>Apiaceae</i> / <i>Ranunculus</i> sp.
<i>Bombus terrestris</i>	Priorat	Potes (corbícules)	<i>Delphinium</i> / <i>Rubus</i> sp. / <i>Asteraceae</i> (tipus <i>Carduus</i> )
<i>Bombus terrestris</i>	Priorat	Potes (corbícules)	<i>Delphinium</i>
<i>Bombus pasquorum</i>	Priorat	Potes (corbícules)	<i>Delphinium</i> / <i>Asteraceae</i> (tipus <i>Carduus</i> )
<i>Bombus pasquorum</i>	Alt Penedès	Potes (corbícules)	<i>Delphinium</i> / <i>Asteraceae</i> / <i>Ranunculus</i> sp. / <i>Fabaceae</i> (tipus <i>Trifolium</i> )
<i>Amegilla fasciata</i>	Alt Penedès	Potes (corbícules)	<i>Delphinium</i> / <i>Apiaceae</i> / <i>Echium</i> sp.
<i>Lassioglossum</i> sp.	Priorat	Potes i ventre	<i>Delphinium</i> / <i>Asteraceae</i> (tipus <i>Sonchus</i> ) / <i>Liliaceae</i>
<i>Lassioglossum</i> sp.	Priorat	Potes i abdomen	<i>Delphinium</i> / <i>Ranunculaceae</i> gran (exina gruixuda)
<i>Lassioglossum</i> sp.	Priorat	Potes i abdomen	<i>Delphinium</i>
<i>Lassioglossum</i> sp.	Priorat	Potes i abdomen	<i>Delphinium</i> / <i>Brassicaceae</i>
<i>Lassioglossum</i> sp.	Baix Empordà	Potes i abdomen	<i>Asteraceae</i> equinulada (tipus <i>Senecio</i> o <i>Bellis</i> ) / <i>Apiaceae</i> / <i>Delphinium</i>
<i>Nomia</i> sp.	Alt Penedès	Potes i abdomen	<i>Delphinium</i> / <i>Fabaceae</i> (tipus <i>Ulex</i> o <i>Cytisus</i> )

\* Els tipus pol.línics es citen per ordre decreixent d'abundància del pol.len.

Figura 5.2. **FOTOGRAFIES D'ALGUNS VISITANTS FLORALS DE *Delphinium*.**  
(d'esquerra a dreta i de dalt a baix)

- A.- *Macroglossum stellatarum* L. en ple vol, inspeccionant una inflorescència.
- B.- *Gonopteryx rhamni* L. libant una flor, en posició esternotròfica.
- C.- *Bombus terrestris* Krüger disposant-se a foradar l'esperó per robar nèctar.
- D.- *Alastor atropos* Lep. xuclant nèctar il·legítimament.
- E.- Flor amb esperó perforat, per un lladre de nèctar.
- F.- *Amegilla fasciata* Vill. (conté corbícules de pol·len a les potes).
- G.- *Bombus terrestris* Krüger





Dels resultats de la taula 5.6. en podem extreure que, en línies generals, els himenòpters són els visitants més abundants, excepte la població de *D. bolosii* (LN), en què ho són els lepidòpters, atesa l'elevada presència de *Macroglossum stellatarum* L. (cf. figura 5.2.A), fenomen també observat en altres flors de corolla tubular llarga (Per exemple: *Lonicera etrusca* G. Santi, cf. JORDANO, 1990). Per ordre decreixent, els segueixen els lepidòpters i, després, els dípters. Tant els coleòpters com els heteròpters presenten valors molt més baixos, una mica més elevats en *D. pictum*, que precisament és la flor que té l'esperó més curt, d'entre les estudiades i, per tant, permet l'accés al nèctar d'insectes menys especialitzats. De fet, aquests valors s'ajusten prou bé a l'ordre d'importància pol.linitzadora dels diferents grups d'insectes, assenyalada en la introducció.

Pel que fa referència al pol.len (cf. taula 5.7.) dipositat en diferents parts del cos dels antòfils que hem examinat, podem afirmar que, en general, visiten altres flors de la zona, a part de les de *Delphinium*, però en proporcions relativament més baixes, ja que en la majoria de casos el pol.len predominant era de *Delphinium*. Tenen, doncs, un comportament més aviat polilèctic, tot i que el nombre d'espècies diferents no és molt elevat; dependrà de la disponibilitat de plantes en flor de l'entorn en un moment determinat.

## 5.4. DISCUSSIÓ

### 5.4.1. COMPORTAMENTS DELS ANTÒFILS:

#### HIMENÒPTERS:

##### Apidae:

##### *Bombus terrestris*

Tradicionalment, el gènere *Bombus* (cf. figura 5.2.G) ha estat considerat un dels pol.linitzadors més important de *Delphinium* (MÜLLER, 1883; LEWIS & EPLING, 1959; FAEGRI & PILL, 1979; MACIOR, 1975; PESSON & LOUVEAUX, 1984; WASER & PRICE, 1990), però hem observat en les nostres espècies que això no sempre s'acomplia. D'una banda, en les dues poblacions de les espècies anuals (*D. verdunense*), durant els dies d'observació, no n'ha aparegut cap, visitant les flors de *Delphinium*, encara que s'han vist alguns individus voleiant per la zona. Per l'altra banda, en l'espècie *D. bolosii*, tant en la població de la Noguera com en alguns individus de la població del Priorat, anaven directes a foradar l'esperó per recollir el nèctar (cf. figura 5.2.C), fenomen relativament freqüent en *Bombus terrestris*, com indica PRÛS-JONES & CORBET (1987).

Es tracta, doncs, d'un lladre de nèctar. De fet, INOUE (1980) en diferencia dos tipus i aquests els anomena atracadors de nèctar ("nectar robbers"), ja que s'emporten aquesta substància ensucrada utilitzant la violència, tot perforant l'esperó amb el seu aparell mastegador-llepador. Per tant, aquests individus no seran pol·linitzadors (EICKWORT & GINSBERG, 1980), perquè es belluguen per fora la corol·la. Aquest fenomen també ha estat descrit en d'altres tàxons de la tribu, com en el gènere *Aconitum*, per a d'altres espècies de *Bombus* (LOKEN, 1981). BLANCHÉ (1991) indica la presència de forats, de diferent mida (fins a 1 mm de diàmetre) en els esperons de diverses espècies de *Delphinium*, produïts per insectes de trompa no molt llarga (cf. figura 5.2.E).

És, probablement, un comportament de tipus adquirit. L'animal aprèn una manera més fàcil d'obtenir nèctar. Els *Bombus* no són molt àgils i si tenen molts tipus de flors per escollir, ho farà en les flors que presentin una superfície més o menys horitzontal per aterrar (PRYS-JONES & CORBET, 1987), com podrien ser els pètals laterals de *Delphinium*, però després es pot passejar per fora la corol·la.

Els altres *Bombus* observats al Priorat (els que no foradaven l'esperó, encara que alguns també visitaven flors de *Rubus*, com les abelles) i en la població mallorquina de *D. pictum* el comportament era el "normal" o el que la flor ha dissenyat per assegurar-ne la seva pol·linització, com el que descriu MACIOR (1975) per a *D. tricornis* Mich. *Bombus* arriba a la flor i se situa just damunt dels pètals laterals, que simulen una "pista d'aterratge"; gràcies a l'envergadura del seu cos, té força suficient per a separar els dos pètals (per sota es troben els estams, que precisament comencen a madurar i a produir-se la dehiscència pol·línica, a partir dels situats just per dalt). Introdueix el cap dins de l'esperó per tal de xuclar el nèctar, posant, d'aquesta manera, en contacte el seu abdomen amb els estams, i mitjançant els moviments que realitza, s'anirà quedant el pol·len adherit al seu cos. En una nova visita, sobretot si es tracta d'una flor en estadi femení que tingui els estigmes receptius (recordem que es tracta de flors proteràndriques) podrà dipositar part d'aquest pol·len sobre l'estigma, mentre remena per xuclar el nèctar. Fins hi tot, alguns individus recol·lecten pol·len per a l'alimentació de les larves, emmagatzemant-lo en corbícules, a les potes. Aquesta posició d'entrada és anomenada esternotrífica (RICHARDS, 1986).

Hem observat que aquests abellots s'estan força estona treballant per la taca, tant els que presenten un comportament "normal" com els que foraden l'esperó per recollir nèctar.

Quant al model de vol (les visites al llarg de la inflorescència), no responen exactament al model teòric proposat per EPLING & LEWIS (1952) i corroborat per PYKE (1978, 1980), els quals mantenen que els antòfils visiten primer les flors més velles, a la part inferior del raïm i pugen cap a dalt, volant en cercle. Aquest model seria l'òptim per potenciar l'al·logàmia, ja que les flors en estadi femení, és a dir, amb els estigmes receptius són



visitades abans que les que contenen pol·len de la pròpia planta (recordem que són flors proteràndriques). En les nostres observacions de camp, hem vist però, més aviat una tendència a pujar, a vegades en línia recta (visitant la flor immediatament superior), en altres ocasions en zig-zag o fent tota la volta helicoïdal, però no es tracta d'una pauta de comportament matemàticament observada. De fet, PLEASANTS & ZIMMERMAN (1990) parlen d'una probabilitat, calculada experimentalment, del 0,65 que l'abel·lot visiti la flor immediatament superior. A més gairebé mai visita totes les flors de la mateixa inflorescència.

#### *Bombus pasquorum*

Aquest àpid ha estat observat en gairebé totes les poblacions, encara que amb una freqüència considerablement més baixa que l'espècie precedent. Podria esdevenir un bon pol·linitzador, ja que presenta un comportament semblant a l'altra espècie, però, en general, s'està força més estona per flor. En les nostres observacions, en les dues poblacions de *D. bolosii*, ha aparegut sempre cap el tard.

#### *Apis mellifera*

Se n'ha vist alguna voleiant prop de les inflorescències de *Delphinium*, però en general hi va molt poc. A la població del Priorat, durant els dies d'observació, se'n van veure moltes treballant sobre *Rubus canescens*, planta que oferia una competència brutal, però cap s'acostava a *Delphinium*. Solen ser animals força especialitzats, potser fins i tot, més que els abellots (EICKWORT & GINSBERG, 1980).

#### Megachillidae: *Osmia*

Només ha estat detectada en la població de La Noguera (*D. bolosii*) i amb una freqüència molt baixa. Possiblement, degut al seu aparell bucal només visita la flor per a recollir pol·len, ja que el seu comportament és remenar per la zona on es situen els estams.

#### Scoliidae: *Scolia flavifrons*

S'ha observat únicament en la població *D. bolosii* de la Noguera i només en dues o tres ocasions. Es col·loca un moment damunt la flor però marxa relativament ràpid; el contacte podria haver estat accidental o de pas. De fet, el seu aparell bucal és força curt i no li permetrà assolir el nèctar contingut dins de l'esperó.

Vespididae: *Polistes* sp.

Segurament són males pol.linitzadores degut, d'una banda, al seu a l'aparell bucal curt, que no li permet xuclar el nèctar contingut en l'esperó i, per l'altra, a la baixa freqüència de visites. En general, el seu comportament era el d'inspeccionar les inflorescències i ha visitat algunes flors, però de manera ocasional.

Eumenidae: *Alastor atropos*

És molt freqüent en la població de *D. bolosii* del Priorat, i també s'ha trobat en l'altra població d'aquesta espècie i en *D. verdunense* (AP), encara que en percentatges més baixos. El comportament sempre ha estat el mateix, se situa per sobre la corolla i s'hi passeja, tot dirigint-se cap al final de l'esperó i sembla que el vulgui perforar (cf. figura 5.2.D). Probablement degut a les petites dimensions del seu aparell bucal, aprofita els forats fets per d'altres antòfils, per xuclar el nèctar. És un lladre de nèctar i, per tant, un mal pol.linitzador.

Anthophoridae: *Amegilla fasciata*

Aquest antofòrid presenta un aparell bucal molt semblant al dels abellots, quant a forma i mida (cf. figura 5.2.F). És suficientment llarg com per arribar als nectaris. Les seves visites han estat molt freqüents en la població de *D. verdunense* (AP) i té un comportament similar als *Bombus* a l'hora d'entrar i visitar les flors. També ho porta a terme de manera esternotròfica. Pot esdevenir un bon pol.linitzador, potser el més important en aquesta població durant els dies observats.

Halictidae: *Nomia*, *Lassioglossum*, *Halictus*

Es tracta de petites abelletes de color fosc, que tenen un aparell bucal de reduïdes dimensions. En *D. bolosii*, sobretot en la població prioratina, es posaven per sota dels pètals laterals i s'estaven una bona estona remenant pels estams (segurament s'alimenten de pol.len). Els exemplars capturats contenen força quantitat de pol.len per tot el cos, en especial a les potes i abdomen. S'estan força estona per la flor i poden visitar-ne diverses de la mateixa inflorescència, a l'atzar, sense seguir un ordre determinat. En la població de *D. verdunense* (AP), ateses les petites dimensions dels individus de *Lassioglossum* que els hi permetia fer-ho, s'introduïen completament dins de la flor, pel forat de l'esperó, segurament per anar a cercar nèctar. En aquest darrer cas, podria pol.linitzar, encara que amb dificultat.

## LEPIDOPTERS:

*Ropalocera* (papallones diürnes)

Tenen un comportament molt semblant totes elles. En les flors de *Delphinium* van a cercar principalment nèctar, per la qual cosa introdueixen la seva llarga espiritrompa dins l'esperó. S'estan libant més o menys estona, en funció probablement, de la quantitat de nèctar disponible i dels seus requeriments energètics, que no solen ser molt alts (BOSCH, 1986). Algunes realitzen visites molt llargues en comparació a d'altres antòfils (hem comptat, en el cas d'algunes *Gonopteryx*, fins de 1,5 a 2 minuts libant en la mateixa flor) i visiten molt poques flors (1 per inflorescència). Altres, com per exemple *Papilio machaon* a la població de *D. verdunense* (AP), visitava diverses flors de la mateixa inflorescència, més o menys saltejades, en visites relativament curtes i ho repetia en diferents inflorescències. La posició d'entrada a les flors sempre és de tipus esternotribic. Són pol.linitzadors més o menys accidentals o passius, perquè només van a buscar nèctar.

Sphingidae: *Macroglossum stellatarum*

Aquest esfíngid, conegut amb el nom de bufaforats o esfinx colibrí, perquè el ràpid aleteig de les seves ales recorda el vol d'aquest ocell americà (cf. figura 5.2.A), pertany taxonòmicament al grup de les arnes o papallones nocturnes, però té hàbits diürns. És l'únic antòfil que hem trobat en totes cinc poblacions de *Delphinium* estudiades, i a més, amb una freqüència relativament alta, per la qual cosa, sembla que ha de tenir un rol important en la pol.linització de les flors de *Delphinium*. Cal destacar la població de *D. bolosii* (LN), en què aquests individus treballaven tot el dia, des de primeres hores del matí (07-08 h) fins a altes hores del vespre (21-22 h), de fet fins que es feia fosc. L'alt nombre de visites està relacionat amb els elevats requeriments energètics que necessiten per bellugar les ales, que els fa estar constantment succionant nèctar. Són capaços de certa termoregulació (HEINRICH, 1975).

S'estan molta estona treballant per la zona, visitant constantment moltes flors per inflorescència, ja siguin de la mateixa o de diferents plantes. El patró de vol és força similar al dels *Bombus*. Tot i que a vegades les visites semblin una mica a l'atzar, s'observa certa tendència general a pujar, començant majoritàriament per la meitat de l'inflorescència. Solen pujar en línia recta o zig-zag, i en ocasions, helicoïdalment. En algunes ocasions, només inspecciona, però la major part de vegades està libant. Les visites per flor solen ser molt ràpides (molt més que els *Bombus*), en totes les poblacions que hem estudiat, més o menys entre 1 i 3 segons per flor (a vegades només inspecciona), encara que en la població del Priorat, s'hi estaven més estona, possiblement perquè els esperons contindrien més nèctar, ateses llurs dimensions lleugerament superiors potser els bufaforats visitaven menys flors.

Visiten les flors en ple vol, és a dir, que el seu cos mai contacta amb la flor en qüestió. Despleguen la seva llarga espiritrompa (26,4 mm, segons JORDANO, 1990) i la introdueixen dins el forat, per xuclar el nèctar contingut dins l'esperó. És amb aquest òrgan que pot tocar algun estam (encara que és relativament difícil) i transportar pol·len a d'altres flors. Tot i que es tracta d'un pol·linitzador molt poc eficaç, atesa la baixa quantitat de pol·len transportat, es compensa, d'alguna manera, pel gran nombre de visites que porta a terme; un cas similar passa en *D. nelsonii*, amb els colibrís (WASER & PRICE, 1990).

#### DÍPTERS:

##### Sirfidae:

Són dípters inofensius, que presenten unes coloracions groc-negroses, que imiten la d'alguns himenòpters, enganyant així als seus possibles depredadors, fenomen que es coneix amb el nom de mimetisme batesià (MARGALEF, 1974). Són de dimensions força petites, en general, encara que *Eristalis tenax* és de la mida d'una abella. És reconeixen fàcilment per la seva forma peculiar de volar. Queden com suspeses a l'aire, realitzant, de tant en tant, moviments relativament bruscos. Presenten un aparell bucal força reduït, que els hi fa impossible arribar als nectaris amagats, a part que no tenen prou envergadura o força per a separar els pètals laterals. Sovint inspeccionen les inflorescències de *Delphinium*, tot fent petits tocs als estams, la qual cosa ens porta a pensar que s'alimenten de pol·len. PROCTOR & YEO (1973) mantenen que el poden ingerir amb facilitat perquè el mullen amb saliva. Poden ser considerats pol·linitzadors, però són clarament menys eficaços que els himenòpters.

##### Bombilidae: *Bombylius*

Els dípters del gènere *Bombylius*, són fàcilment reconeixibles pel seu característic brunzit, pel ràpid moviment de les ales i pel fet de presentar un aparell bucal força prominent. Tot i el seu aspecte, són inofensius. Aquest aparell bucal és de tipus picador-xuclador d'una longitud considerable, que li permet arribar als nectaris per assolir el nèctar. El comportament dins la flor de *Delphinium* d'aquests insectes, és el mateix que el descrit per als *Bombus* que no foraden l'esperó. Entren per la flor, aturant-se als pètals laterals, els separen una mica i introdueixen el cap dins l'esperó per xuclar el nèctar. S'estan força estona per flor (una mitjana de 15-20 segons). En general, visiten dues o tres flors per inflorescència, força saltejades. En *D. bolosii* (P), és on han aparegut més visitants d'aquest grup. N'han aparegut dues espècies (que malauradament no han pogut estar determinades, a hores d'ara), una de més gran que visitava *Delphinium* i una de més petita, que preferentment anava a *Saponaria ocymoides* L.



## COLEÒPTERS i HETERÒPTERS:

El comportament observat és força semblant entre ells. Es passegen per damunt de les flors, s'hi poden estar molta estona. *Oxythyrea funesta* a Mallorca, s'estava clarament menjant part de l'esperó d'una flor de *D. pictum*. La seva eficàcia com a pol.linitzadors és molt baixa, afavorint, en tot cas, l'autopol.linització perquè canvien molt poc de flor.

Quant a l'activitat horària de les visites dels antòfils, hem observat que són més abundants, en general, durant les hores centrals del dia (de 12 a 16 h, aproximadament), quan les condicions lumíniques, de temperatura i radiacions solars són més altes. En canvi, cap el tard, o els dies més tapats en els que la llum és més escassa, es produeix una important davallada del nombre de visites. Aquest fenomen podria estar relacionat amb la quantitat o concentració de nèctar present que pot variar al llarg del dia (ZIMMERMAN, 1983). En posteriors recerques es podria aprofundir en l'estudi del nèctar i la influència en el nombre de visites. En principi, però, no hem notat que algun grup concret tingués una determinada hora d'aparèixer, sino que semblava produir-se una mica a l'atzar. En tot cas, els dies en què hem perllongat fins més tard les nostres observacions, no hem detectat la presència de cap pol.linitzador nocturn.

---

Cal tenir en compte que els resultats obtinguts en les observacions corresponen a uns dies determinats i que per dur a terme un estudi exhaustiu, s'hauria de fer un seguiment durant tot el període de floració de la planta. Probablement els llistats s'incrementarien. Per tant, cal considerar-ho com una primera aproximació. Malgrat tot, ens ha permès analitzar els diversos comportaments d'alguns pol.linitzadors potencials d'aquestes espècies.

A partir de totes les dades obtingudes en les observacions realitzades en cadascuna de les poblacions, tot i no ser exhaustives, la primera conclusió que podem extreure és que, tot i tractar-se d'una flor altament especialitzada per a la pol.linització per insectes (MÜLLER, 1883), no és estrictament específica d'una sola espècie d'antòfils, sinó que és visitada per un nombre relativament gran d'espècies, encara que presentin diferències en l'eficàcia pol.linitzadora. WARNOCK (1981), també va trobar un nombre alt d'espècies pol.linitzadores potencials (13 espècies d'insectes i 1 colibrí) en el grup de *D. carolinianum* Walt.

Malgrat això, creiem que els himenòpters (que, en general, són els més abundants quant a visites), i en especial els abellots, són els més ben adaptats a la pol.linització de les



nostres espècies de *Delphinium*, quan no actuen com a robadors de nèctar. Aquesta idea, també defensada per MACIOR (1975) està fonamentada, bàsicament, en tres raons:

En primer lloc, hem observat empíricament, que aquests antòfils són, atesa la mateixa pilositat que els recobreix (ROBERTS & VALLESPER, 1978), els que s'enduen més grans de pol.len per visita. Si a més hi afegim que, a part de l'esfíngid *Macroglossum stellatarum*, eren els antòfils que s'estaven més estona treballant per la zona, tindrem que l'eficàcia pol.linitzadora del gènere *Bombus* és la, probablement més alta.

En segon lloc, la morfologia floral de *Delphinium* sembla estar especialment concebuda per a cercar una volguda especificitat quant al tipus de pol.linitzador que les visita (MÜLLER, 1883; FAEGRI & PILL, 1979). Així, sembla que per accedir al nèctar amagat en el fons de l'esperó, l'antòfil ha de manipular correctament les peces florals situant-se en la posició adequada i fent una forta pressió (a l'abast de pocs insectes a part dels abellots) per tal de separar els pètals laterals que tanquen, en part, el tub de la corol.la (MACIOR, 1975). Per últim, cal una probòscide llarga (com la que disposen els abellots) per extreure'n el nèctar que pot estar a una considerable fondària.

En tercer lloc, la quantitat i la qualitat del nèctar té un paper important en la pol.linització (ZIMMERMAN, 1983) i creiem que podria ser un factor limitant que jugui a favor dels abellots i, per contra, en detriment d'altres grups d'antòfils (KEVAN & BAKER, 1983). Tot i no que no disposem de dades preses sistemàticament, hem observat empíricament, per un costat, que els *Delphinium* presenten altes produccions de nèctar i, per l'altre, una elevada viscositat del mateix que sembla correspondre's a altes concentracions de sucres. Aquest fenomen, que s'accentua encara més cap el migdia per efecte de la intensa evaporació causada per les altes temperatures i la radiació solar directa, imposa una certa especialització als insectes que intenten consumir-lo. Cal suposar que els nèctars molt concentrats tenen una rendibilitat energètica molt més alta, però, per contra, la seva extracció comporta unes despeses també molt altes per part de l'insecte (PYKE, 1980), a causa d'increments importants de la viscositat a mesura que la concentració de sucres augmenta. Potencialment, els únics insectes que poden accedir a aquest nèctar, gràcies al seu aparell bucal, són els lepidòpters i els himenòpters, però mentre que els primers no presenten massa requeriments energètics, als segons els hi calen aports energètics considerables (KEVAN & BAKER, *l. c.*). A priori, sembla que als abellots els interessi més aquest tipus de nèctar, mentre que les papallones poden cercar-lo en d'altres flors amb nèctar més fluid (WYATT, 1983). Sembla també que, en general, els himenòpters tinguin una major capacitat xucladora que no pas els lepidòpters, fet que podria relacionar-se amb la mateixa constitució física d'uns i altres; dèbil, pel que fa als lepidòpters, i més robusta en els himenòpters. Tot sembla apuntar, teòricament, a que aquest procés d'espessiment del nèctar no seria res més que una nova estratègia per a intentar que els abellots no tinguin gaire competència a l'hora de cercar nèctar en aquestes espècies. Els

abellots, per la seva part, coneixedors que en aquest tipus de corol·la tenen assegurat l'aliment per tenir relativa poca competència, tindrien un ritme de visites més alt que no pas en altres tipus de corol·la.

Tot i això, algunes abelles, com *Amegilla fasciata* tenen un cos i una probòscide similar als *Bombus* i presenten un comportament força semblant a l'hora de visitar les flors de *Delphinium*. Pot, doncs, jugar un paper important com a pol·linitzador en la població *D. verdunense* (AP), on no han aparegut abellots. Tot i que pertany a un ordre diferent, el gènere *Bombylius* també reuneix aquestes característiques que indicàvem anteriorment (cos relativament robust i una probòscide llarga) i podria tenir la seva transcendència pol·linitzadora en les poblacions en què s'hi ha trobat, especialment en *D. bolosii* (P).

Les papallones, tot i que són pol·linitzadors potencials, tindrien una eficàcia pol·linitzadora considerablement més baixa, compensada d'alguna manera en *Macroglossum stellatarum*, per l'elevat nombre de visites que porta a terme, en determinades poblacions.

Un altre fenomen observat a tenir en compte és l'efecte dels robadors de nèctar. Les dues poblacions de *D. bolosii*, que és l'espècie que té l'esperó més llarg de les estudiades (cf. capítol 2), i on potser és més difícil arribar als nectaris, han estat les principals afectades. En alguns trèvols s'ha demostrat que es produeixen més granes quan són presents certes espècies d'abellots, que foraden la corol·la per xuclar el nèctar sense pol·linitzar la flor. Quan disminueixen els nivells de nèctar, obliguen als pol·linitzadors legítims a visitar més flors per alimentar-se, augmentant d'aquesta manera, el nombre de pol·linitzacions i en conseqüència, el nombre de granes (HAWKINS, 1961). Si la recompensa és molt elevada, amb poques flors ja estan servits i la pol·linització és menys efectiva (HEINRICH & RAVEN, 1972; SOUTHWICK *et al.*, 1981). WADDINGTON (1981) demostra en *D. virescens*, que el nombre de visites per inflorescència depèn del volum de nèctar que pugui oferir. Això està directament relacionat amb l'afavoriment de la geitonogàmia, en plantes riques en nèctar, ja que es visiten més flors per inflorescència, mentre que les que contenen poc nèctar, promouen l'al·logàmia (els antòfils busquen en d'altres inflorescències).

Les diferències interpoblacionals no són molt grans. Hi ha moltes espècies d'insectes que es repeteixen, la qual cosa ens indica que la fauna no és molt diferent d'un indret a l'altre. Potser cal destacar que l'espècie amb l'esperó més curt (*D. pictum*), és la que ha estat visitada, en proporció, per grups d'insectes amb l'aparell bucal més curt, que la resta i que curiosament, no s'ha vist cap papallona diürna sobre les flors els dies d'observació. En l'espècie *D. bolosii*, són importants com a pol·linitzadors els *Bombus* i *Macroglossum stellatarum*, aquest darrer, sobretot en la població de la Noguera, per l'elevat nombre de visites a diferents flors, on justament els *Bombus* actuen com a robadors de nèctar. Aquest fenomen també té lloc en una població de *Lonicera* (JORDANO, 1990).

En les anuals, aquest paper el tindrien altres grups d'himenòpters. Pel que fa la baixa presència de *Bombus* pol.linitzant *D. verdunense*, cal considerar la possibilitat que, durant els dies d'observació, les recompenses en forma de nèctar dels *Delphinium* fossin inferiors a les oferides per d'altres espècies en flor en aquell moment. Això ens porta a pensar que les probabilitats de l'èxit reproductiu estan fortament correlacionades amb la competència entre espècies en flor i amb les condicions ambientals i, fins i tot, amb el possible consum de nèctar per pol.linitzadors il·legítims que deixen la població en inferioritat de condicions. No seran mai prou les prevencions a l'hora de considerar les dades de camp vàlides únicament per a aquelles poblacions, en aquelles dades concretes. Aquestes idees, cada cop es van imposant sobre la significació de les adaptacions i coevolucions "perfectes" i ha fet escriure a WASER & PRICE (1990): "sense desestimar que el fenotip floral prové d'una evolució convergent deguda a la selecció imposada pels insectes i per la competència floral (i la dificultat d'un estudi rigorós), desitjaria que "les síndromes de pol.linització" metòdiques no eclipsin la riquesa actual de les relacions entre les plantes i els seus visitants florals".

## **6. ESTUDIS CITOGENÈTICS**

## 6.1. INTRODUCCIÓ

Els estudis citogenètics han adquirit, en el decurs del temps, una gran importància en el camp de la Biosistemàtica, sobretot degut a un notable creixement de les dades de recomptes cromosòmics, que han aparegut en els darrers anys (FEDOROV, 1974; MOORE, 1976, 1982; GOLDBLATT, 1981, 1983, 1988, 1990, etc.). El grau de coneixement d'aquestes dades és, però, encara heterogeni per als diferents grups de plantes.

L'interès per aquest tipus d'estudis és doble. D'una banda, el nombre de cromosomes, la seva forma i dimensions poden considerar-se un caràcter morfològic més a l'hora d'establir una delimitació entre els tàxons. Per l'altre costat, un estudi aprofundit de la dotació cromosòmica pot ajudar a comprendre les relacions filogenètiques i les estratègies evolutives d'aquests grups, atès que no és un caràcter invariable dins un gènere i, ni fins i tot a nivell d'espècie, com es pensava anteriorment. Es poden produir modificacions, tant a nivell del nombre cromosòmic (fenòmens d'aneuploidia i poliploidia) com variacions de tipus morfològic.

La dotació cromosòmica, tot i que alguns autors la consideren com un caràcter més, posseeix una transcendència especial. El genoma conté tota la informació genètica que, influïda per les condicions ambientals, donarà una expressió fenotípica determinada, és a dir, que tots els altres caràcters de la planta hi estan relacionats.

El gènere *Delphinium* conté, segons les darreres estimacions (MALYUTIN, 1987), 365 espècies de les quals, prop d'un centenar han estat sotmeses a recomptes cromosòmics. El nombre de base  $x = 8$  és una característica força constant en tot el gènere, encara que s'han descrit alguns casos puntuals d'aneuploidia (AK-SAKAR, 1982; BLANCHÉ & MOLERO, 1983). És un nombre de base que caracteritza també la tribu *Delphineae* Warming (TAMURA, 1967), la qual inclou les espècies d'*Aconitum* L., *Consolida* (DC.) S. F. Gray i *Aconitella* Spach, encara que s'han descrit altres nombres (TRIFONOVA, 1990), però sempre minoritaris.

Segons BLANCHÉ (1991), prop d'un 63 % dels recomptes en *Delphinium* corresponen al nivell diploide ( $2n = 16$ ), un 32 % al nivell tetraploide ( $2n = 32$ ) i un 3 % al nivell hexaploide ( $2n = 48$ ). Existeix alguna dada sobre tàxons triploides ( $2n = 24$ ) com *D. moerheimii* Hort. (LAWRENCE, 1936), i sobre aneuploides ( $2n = 20$  i  $2n = 18$ ), que són, però, casos molt excepcionals.

En el cas de la biologia de la reproducció, més concretament en l'estudi dels sistemes de reproducció (*cf.* capítol 4), l'interès es centra, en gran part, en l'estudi de la meiosi, tant dels parentals que intervenen en els encreuaments, com de la F1 resultant (primera generació filial). El nombre cromosòmic i el grau d'homologia determinen el comportament de



l'aparellament en la meiosi, el qual en part regeix el nivell de fertilitat dels híbrids, l'herència del comportament reproductiu i el model de variació de les poblacions (STACE, 1989).

L'estudi meiòtic dels parentals permetrà assegurar si els exemplars, dels quals es parteix per a realitzar les experiències dels estudis reproductius, presenten o no anomalies genètiques, i per tant, poder atribuir a d'altres causes la interpretació de l'èxit o el fracàs de la viabilitat dels encreuaments. Això és el que hom ha intentat dur a terme en aquesta primera etapa, a títol d'estudi-control.

## 6.2. MATERIAL I MÈTODES

### 6.2.1 MATERIAL

El material vegetal utilitzat en els estudis citogenètics s'ha obtingut totalment de poblacions naturals. Hom ha treballat, fonamentalment, amb dos tipus de material: poncelles i meristemes radiculars. Les primeres, han estat recol·lectades directament sobre el terreny, en diverses sortides al camp. Els segons provenen, d'una banda, de granes germinades en placa de Petri, o bé, d'individus trasplantats en testos, recollits en ambdós casos en les esmentades poblacions.

Aquests individus que anteriorment citàvem, s'han transportat vius a l'hivernacle dins de torretes, conservant el seu pa de terra original. Hom ha comprovat empíricament, que si es mantenen dos o tres dies sense regar, s'afavoreix l'increment d'arrels joves, susceptibles de presentar divisions mitòtiques. Segurament el dèficit hídric provoca el desenvolupament de l'arrel per cercar aquest element, indispensable per a la vida de la planta.

Les poncelles han permès l'estudi de les meiosis a partir de les cèl·lules mares del gra de pol·len. També es poden observar mitosis a nivell de les parets de l'ovari o dels filaments estaminals, però no han estat considerades, ja que acostumen a ser cromosomes de dimensions inferiors als obtinguts mitjançant els meristemes radiculars, fenomen que, a hores d'ara, hom encara no ha trobat una explicació convincent.

Els meristemes radiculars han estat utilitzats per estudiar les mitosis somàtiques, les quals, si la qualitat de les plaques obtingudes era l'adient, han permès realitzar el recompte cromosòmic i l'estudi del cariograma.

Atès que s'ha treballat, en alguns casos, amb espècies o poblacions diferents de les descrites en el capítol inicial, s'adjunta un llistat (*cf.* taula 6.1.) d'espècies estudiades, tot indicant la seva procedència i el tipus de material.

## UTILLATGE

Estereoscopi binocular ZEISS model DRC.

Microscopi òptic ZEISS

Microscopi òptic ZEISS model AXIOSKOP equipat amb càmera clara i adaptador per a càmera fotogràfica NIKON.

Placa calefactora mod. 156 SELECTA.

Taula 6.1. MATERIAL ESTUDIAT.

Tàxons	Poblacions	Poncelles	Granes	Arrels
<i>D. verdunense</i>	Sitges, Garraf, Barcelona	X		
	Alt Penedès, Barcelona		X	
<i>D. pictum</i>	Cala Tuent, Mallorca	X		
	Mortitx, Mallorca		X	
	Bóquer, Mallorca		X	
<i>D. bolosii</i>	Priorat, Tarragona			X
	La Noguera, Lleida			X
<i>D. staphisagria</i>	Oued Laou, Marroc	X		
<i>D. fissum</i> subsp. <i>sordidum</i>	Las Honfrías, Salamanca	X		

## 6.2.2. METODOLOGIA

## A) Poncelles:

## FIXACIÓ

La fixació s'efectua introduint les poncelles, recol·lectades directament sobre la planta, a l'interior de vials correctament etiquetats que contenen una mescla alcohol-acètica (alcohol absolut-àcid acètic glacial 3:1 V/V), preparada extemporàniament, que s'anomena reactiu de Farmer. És recomanable renovar el líquid a les 12 o 24 hores. Si el material no s'estudia immediatament, es conserva al congelador (a -18° C), amb el mateix fixador.

## TINCIÓ

La coloració de les poncelles s'aconsegueix mitjançant l'ebullició suau, durant aproximadament dos minuts, del material submergit en 10 ml de carmí acètic, dins d'una càpsula de vidre. Una vegada finalitzada l'operació, es deixa refredar fins que assoleixi la temperatura ambiental, amb la precaució de tapar-ho amb un vidre de rellotge. Es podria treballar gairebé immediatament, però s'obtenen millors resultats si es deixa en maceració de 3 a 24 hores, per a facilitar-ne la penetració del colorant. Si la coloració és excessiva, es pot aclarir amb unes gotes de solució d'àcid acètic 45%-glicerol (9:1).

## PREPARACIÓ I MUNTATGE

Se selecciona una poncella de dimensions adequades i es diposita sobre un portaobjectes. Amb un estereoscopi binocular i mitjançant l'ajut d'unes pinces o una llanceta, es desmunta, tot triant els estams de mida adient (si són massa madurs contindran pol·len i ja no presenten divisions meiótiques). Durant totes les operacions cal tenir cura que el material no s'assequi. Els estams triats es transfereixen seguidament a un altre portaobjectes que contingui una gota de acètic-glicerol, es tapa amb un cobreobjectes i es practica un aixafament ("squash"). Si interessa conservar-la, es segella amb DPX.

### B) Meristemes radiculars:

Els meristemes radiculars procedents d'arrels joves d'individus trasplantats en testos és convenient, abans d'iniciar els tractaments, submergir-los uns minuts en aigua destil·lada per a eliminar les restes de terra. En les mostres que procedeixen de grans germinades, es pot obviar aquest pas.

## ESCURÇAMENT

Per tal d'evitar al màxim superposicions i recargolaments entre els cromosomes (especialment llargs en aquest gènere) i facilitar les tasques de recompte i confecció del cariograma, hom ha procedit a realitzar un pretractament amb un agent antimitòtic abans de la fixació, per a escurçar-los. Ha estat emprada la 8-hidroxiquinoleïna 0,002 M (TJIO & LEVAN, 1950), durant 24 hores amb gel fundent (de 0 a 4° C). S'ha allargat el període habitual de tractament antimitòtic que era de 2 - 4 hores, atès que s'havia observat que s'escurçaven poc. Per deturar l'efecte de l'8-hidroxiquinoleïna, es submergeixen les mostres en aigua destil·lada durant cinc minuts.

## FIXACIÓ

Es traspasa el material a vials que continguin el fixador, és a dir, la mescla alcohol-acètica. Es manté en aquest líquid, com a mínim, un període de 24 hores al refrigerador.

## ESTOVAMENT

La pròpia constitució de l'arrel i els tractaments que se'ls practica, sovint fan que les mostres restin força endurides i sigui menester un estovament, el qual tindrà dues finalitats. D'una banda, facilita l'aixafament o "squash", i per l'altra, millora la penetració del colorant. Aquest estovament s'aconsegueix mitjançant una hidròlisi àcida amb àcid clorhídric 1N, a una temperatura de 60° C (en placa calefactora), durant un període de 5 a 8 minuts. De nou, el procés s'atura submergint les mostres en aigua destil.lada durant cinc minuts.

## TINCIÓ

La tinció de les radícules s'obté per immersió en orceïna acètica al 2 %, a temperatura ambiental. Es deixa en maceració un període de 24 hores (KAWANO, 1965).

## MUNTATGE I PREPARACIÓ

Les radícules es fragmenten amb l'ajut d'un estereoscopi binocular. Se seleccionen els fragments que presumptament contenen els teixits meristemàtics, situats lleugerament per sota la còfia, que s'eliminarà, i abans de la zona de pèls absorbents. Es dipositen sobre un portaobjectes que conté una gota d'àcid acètic 45 %-glicerol (9:1), substància que ajudarà a clarificar el citoplasma, es tapa amb un cobreobjectes i es procedeix a realitzar un aixafament. Si interessa, es segella amb DPX.

Totes les preparacions segellades, si no els ha entrat aire, es conserven sense perdre les seves característiques durant un període de temps d'un a dos mesos al refrigerador (4° C).

## OBSERVACIÓ

Les observacions han estat realitzades mitjançant un microscopi òptic a 1000 augments.

En el cas de les meiosis, hom ha comptat el nombre gamètic i observat el comportament cromosòmic durant la diacinesi, que és la fase on es produeix l'aparellament dels cromosomes amb la conseqüent formació dels bivalents. S'han pres testimonis fotogràfics de les millors plaques.

Quan s'han trobat 5 plaques mitòtiques de bona qualitat, hom ha dibuixat llur projecció mitjançant una cambra clara a 2500 augments, per a realitzar les mesures pertinents. De les millors plaques se n'han fet fotografies a 1000 augments. Tot sovint els cromosomes, especialment grans en aquest gènere, es disposen en diferents plans i resulta impossible enfocar-los tots alhora, la qual cosa dificulta extraordinàriament l'obtenció de bones fotografies, encara que en alguns d'aquests casos s'ha pogut comptar i dibuixar tot enfocant i desenfocant amb el cargol micromètric. Es conserven tots els dibuixos i negatius.

En els dibuixos de les projeccions de les plaques mitòtiques s'ha indicat a part del tàxon, la població de procedència del material i el tractament, el nombre de cromosomes, les dimensions, els aparellaments i la presència de satèl.lits i constriccions secundàries, en cas de presentar-ne.

Les dimensions dels cromosomes han servit de base per a l'elaboració del cariotipus, seguint els consells de LÖVE & LÖVE (1975) i BENTZER *et al.* (1971). Com és habitual en els treballs cariològics, hom ha dibuixat el cariograma o idiograma haploide tot indicant la fórmula cromosòmica corresponent, segons la terminologia de LEVAN *et al.* (1964).

Les dades que s'han reflectit en el cariotipus han estat les següents: la mitjana i l'error estàndard de les longituds del braç llarg (L), del braç curt (C) i del total (L+C) de cada parell de cromosomes homòlegs, expressades en  $\mu\text{m}$ . També s'inclou la longitud mitjana del cariotipus i la presència de satèl.lits i de constriccions secundàries.

Un altre paràmetre que permet relacionar les dades obtingudes amb altres cariogrames és l'índex centromèric (IC), definit per SHINDO & KAMEMOTO (1963), que respon a la fórmula:

$$\text{IC} = 100 \times \text{C} / (\text{L} + \text{C})$$

Indica el percentatge de cromosoma que representa el braç curt en relació a la seva llargada total.

La R de Levan, relació entre la llargada del braç llarg i el braç curt de cada parell homòleg, dóna una idea de la posició del centròmer. LEVAN *et al.* (1964) estableixen unes categories segons els valors que pren R, com es reflecteix en la taula 6.2. També s'ha inclòs el tipus de cromosoma, segons el criteri de STACE (1989).



Taula 6.2. TIPUS DE LEVAN, RELACIONAT AMB EL TIPUS DE CROMOSOMA, (segons STACE, 1989).

R	Classe	Posició del centròmer	Tipus de cromosoma
1,0	M	Punt medial	Metacèntric
1,0 - 1,7	m	Regió medial	Metacèntric
1,7 - 3,0	sm	Regió submedial	Submetacèntric
3,0 - 7,0	st	Regió subterminal	Subacrocentric
7,0 - ∞	t	Regió terminal	Acrocèntric
∞	T	Punt terminal	Telocèntric

El grau de simetria del cariotipus és reflectit pels següents índexs:

a) Índexs de Bazzichelli: definits per BAZZICHELLI (1967), indiquen el % de longitud que aporta cada braç al cariotipus. Es calculen a partir de les fórmules:

$$\% L = 100 ( L / \Sigma L+C )$$

$$\% C = 100 ( C / \Sigma L+C )$$

b) Índex d'asimetria de Stebbins: STEBBINS (1971) estableix 12 classes a partir de la relació entre la longitud del cromosoma més gran i el més petit del cariotipus i les freqüències dels quocients dels braços (*cf.* taula 6.3.).

Taula 6.3. CLASSES D'ASIMETRIA DE STEBBINS (1971).

Relació entre el braç més llarg i el més curt	% de cromosomes amb R < 2:1			
	0	1 - 50	51 - 99	100
< 2:1	1A	2A	3A	4A
2:1 - 4:1	1B	2B	3B	4B
> 4:1	1C	2C	3C	4C

c) Índexs d'asimetria de Romero-Zarco: proposats per ROMERO (1986) són dos paràmetres que mesuren

$$A_1 = 1 - [\Sigma (C/L)]/n \quad \text{l'índex d'asimetria intracromosòmica}$$

$$A_2 = S / X \quad \text{l'índex d'asimetria intercromosòmica}$$

on X expressa la mitjana de la longitud dels cromosomes i S, la desviació estàndard corresponent.  $A_2$  també es coneix per coeficient de dispersió de Pearson. Aquests índexs presenten dos avantatges. D'una banda, permeten la representació gràfica en un sistema de coordenades ( $A_1$  i  $A_2$ ) que possibilita la comparació de cariotipus i, per l'altra, discrimina millor que les classes de Stebbins, a rangs taxonòmics per sota del nivell de gènere.

Els càlculs s'han efectuat informàticament mitjançant el programa "CARIO" creat per J. Simon, en un ordinador personal compatible.

### 6.3. RESULTATS

Els resultats obtinguts dels recomptes del nombre cromosòmic, tant de les plaques meiótiques com de les mitòtiques, s'expressen a la taula 6.4.

El recompte de la població de *D. bolosii* (LN) ha donat un aneuploide  $2n = 18$ , un nombre gens habitual en el gènere, només detectat en l'altra població de *D. bolosii*. Aquest fet, junt amb d'altres caràcters estudiats, ens van inclinar a situar taxonòmicament la població dins l'espècie anteriorment esmentada, tot i que havia estat descrita sota un altre epítet específic, (cf. apartat 6.4.1.). La resta confirmen els recomptes ja existents en la bibliografia i donen  $2n = 16$  o  $n = 8$ .

Hom ha establert els cariogrames de les 5 poblacions consignades amb un asterisc a la taula 6.4. A les taules 6.5., 6.6., 6.7., 6.8. i 6.9. s'indiquen totes les dades que hom ha obtingut en l'estudi dels respectius cariotipus. S'adjunta l'idiograma haploide en ordre decreixent de les longituds totals dels cromosomes. També se'ls hi han dibuixat els satèl·lits i constriccions secundàries, en cas de presentar-ne. Segons la bibliografia consultada, l'espècie *D. verdunense* no ha estat mai cariotipada.

Les figures 6.1., 6.2., 6.3. i 6.4. són les fotografies i dibuixos de les millors plaques mitòtiques la primera, i meiótiques les tres darreres, representants de cadascuna de les poblacions estudiades. Les longituds mitjanes donen valors lleugerament superiors respecte a les dades bibliogràfiques. Amb tot, es mantenen les proporcions relatives entre els cromosomes.

Taula 6.4. RESULTATS DELS RECOMPTE CROMOSÒMICS.

Espècie	Població	n	2n
<i>D. bolosii</i>	Priorat, Tarragona *		18
	La Noguera, Lleida *		18
<i>D. fissum</i> subsp. <i>sordidum</i>	Las honfrías, Salamanca	8	
<i>D. pictum</i>	Mortitx, Mallorca *		16
	Bóquer, Mallorca *		16
	Cala Tuent, Mallorca	8	
<i>D. staphisagria</i>	Oued Laou, Marroc	8	
<i>D. verdunense</i>	Alt Penedès, Barcelona *		16
	Sitges, Garraf, Barcelona	8	

\* indica les poblacions que han estat cariotipades.

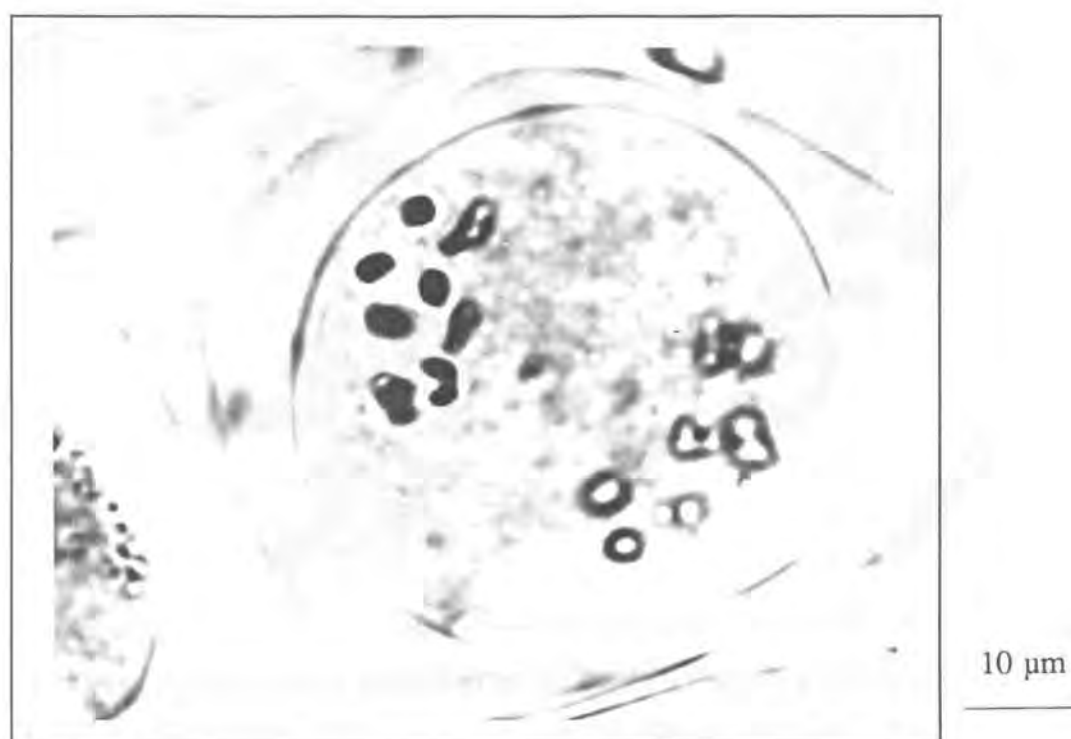


Figura 6.1. ANAFASE I MEIÒTICA DE *D. verdunense* (AP).

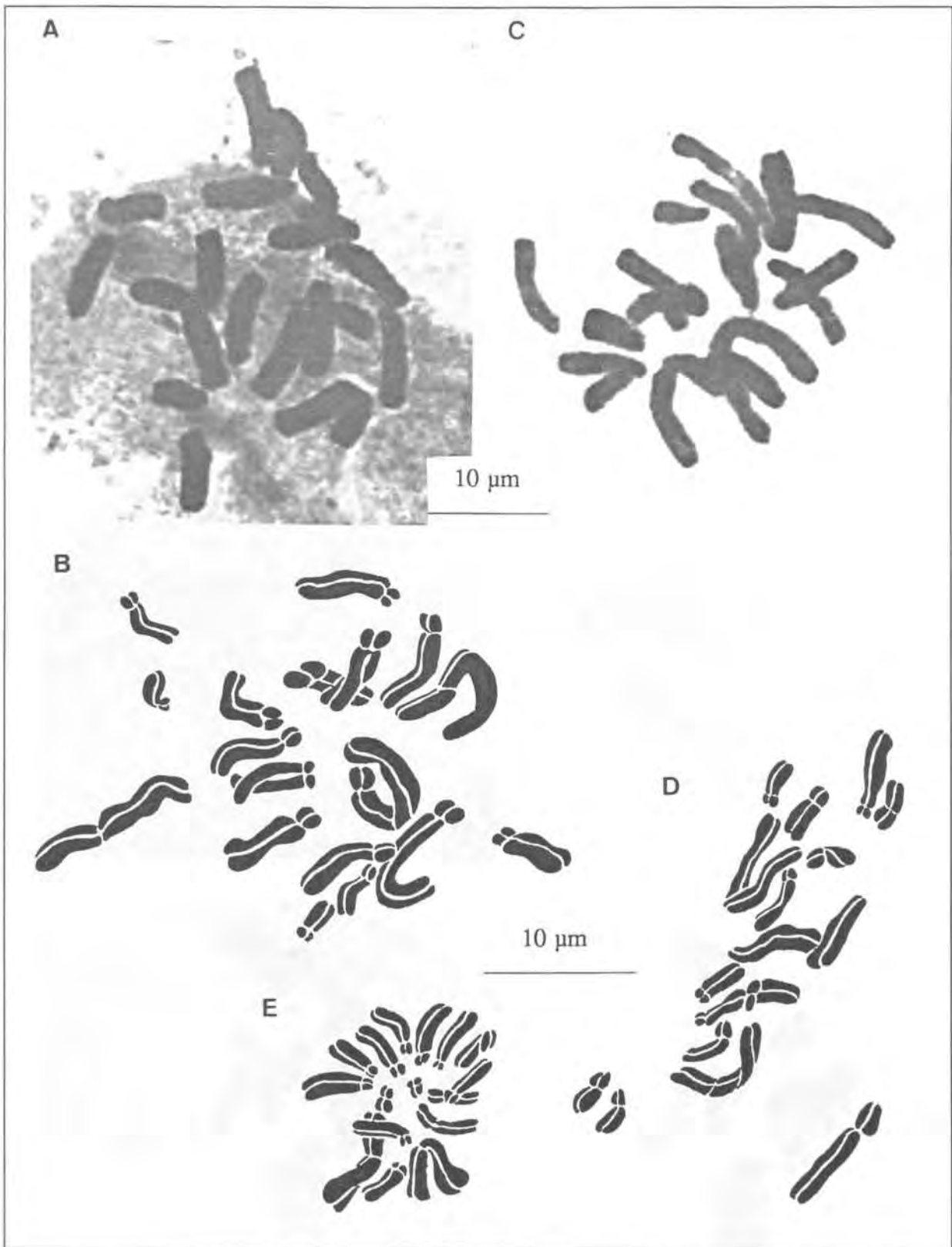


Figura 6.2. FOTOGRAFIES I DIBUIXOS DE METAFASES MITÒTIQUES.

- A.- *D. bolosii* (LN) ( $2n = 18$ )
- B.- *D. bolosii* (P) ( $2n = 18$ )
- C.- *D. pictum* (Mortitx) ( $2n = 16$ )

- D.- *D. pictum* (B) ( $2n = 16$ )
- E.- *D. verdunense* (AP) ( $2n = 16$ )

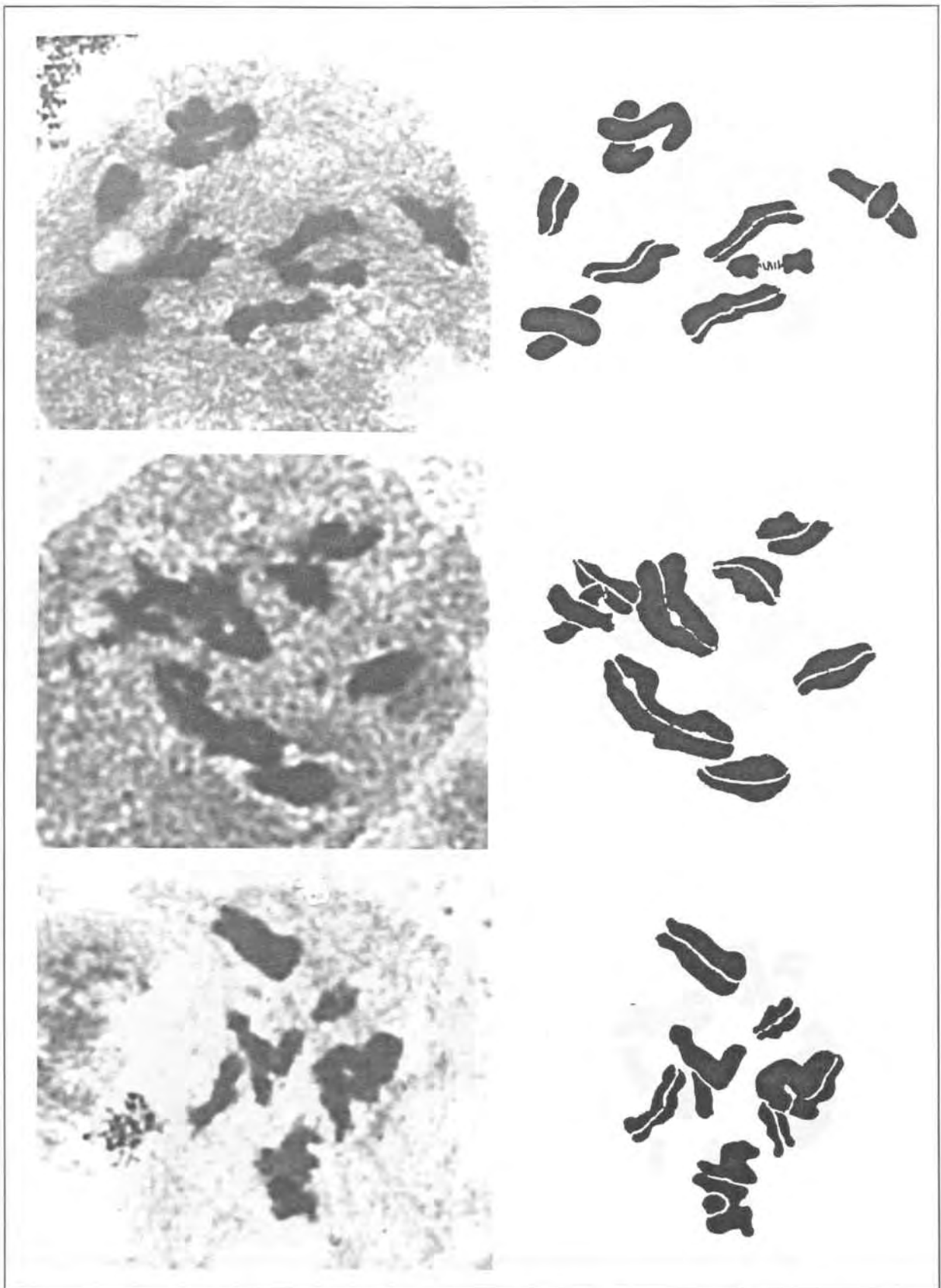


Figura 6.3. FOTOGRAFIES I DIBUIXOS INTERPRETATIUS DE DIACINESIS.

*D. fissum* subsp. *sordidum* (Salamanca) ( $n = 8$ ), en els tres casos.

10 $\mu$ m



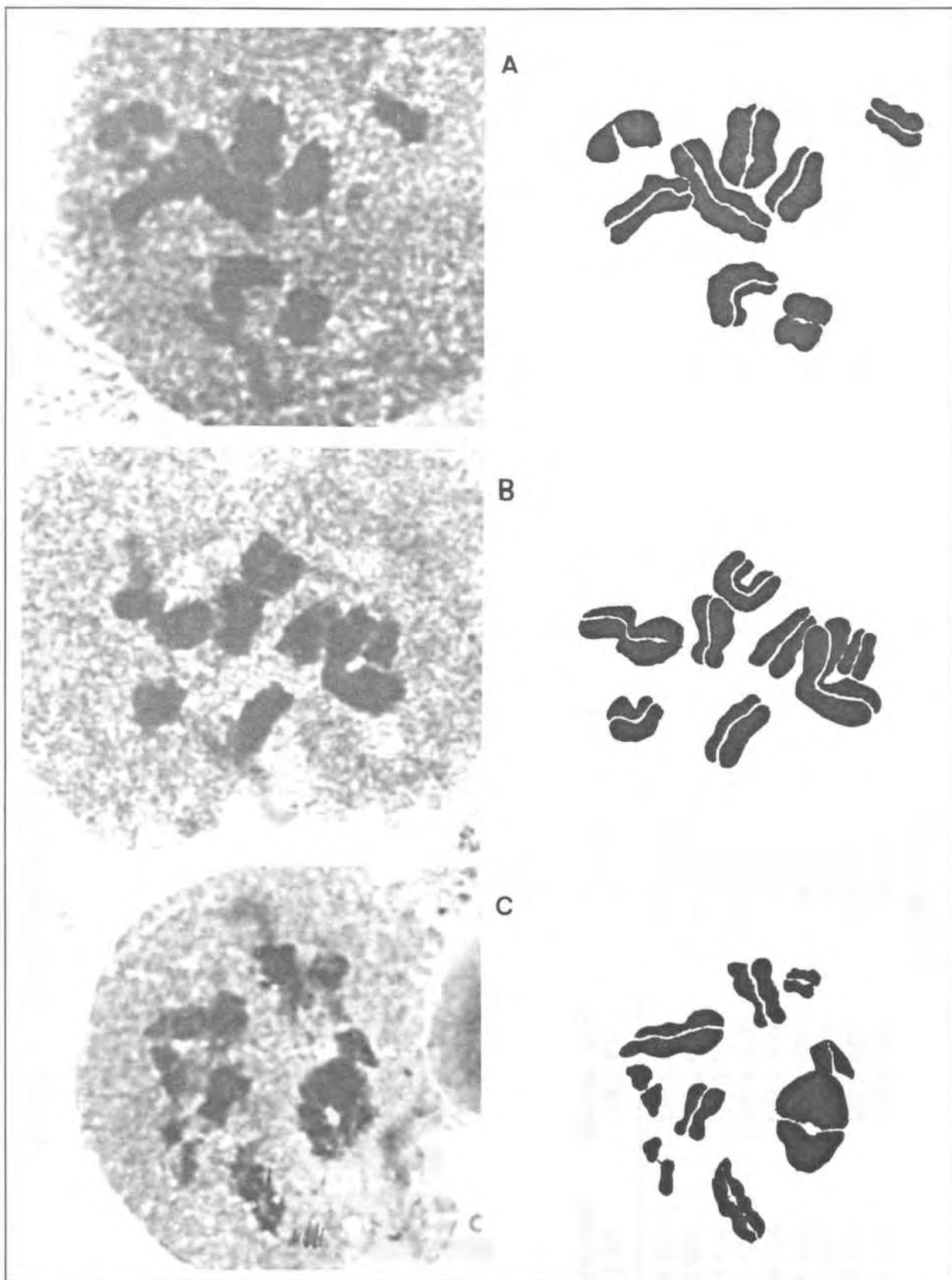


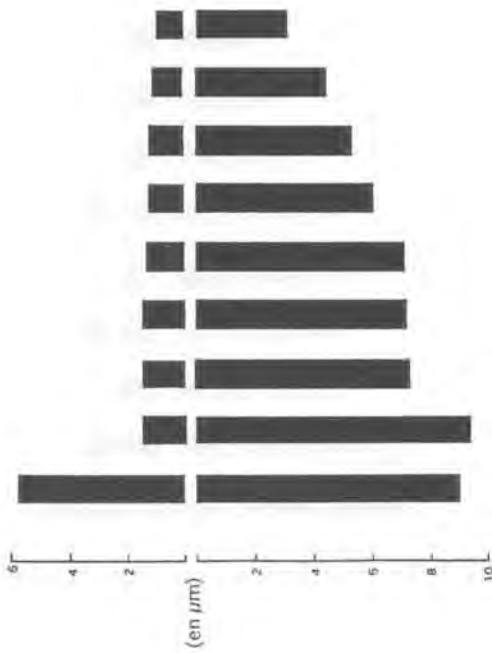
Figura 6.4. FOTOGRAFIES I DIBUIXOS INTERPRETATIUS DE DIACINESIS.

A i B.- *D. pictum* (CT) (n = 8)

C.- *D. staphisagria* (Marroc) (n = 8)

10 µm

Taula 6.5. CARACTERÍSTIQUES CROMOSÒMIQUES DE *D. bolosii*.



PROCEDÈNCIA: Tarragona, Ulldemolins (Priorat).

MATERIAL VEGETAL: meristemes radiculars.

LONGITUD MITJANA=  $8,31 \pm 0,99 \mu\text{m}$ .

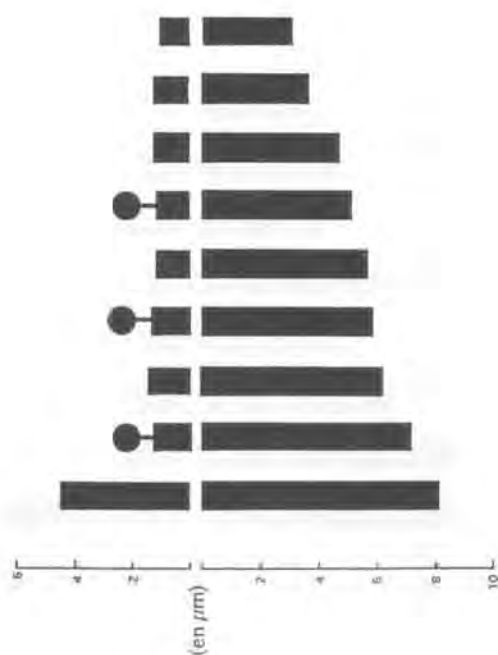
ÍNDEX D'ASIMETRIA D'STEBBINS: 3B

ÍNDEXS D'ASIMETRIA ROMERO-ZARCO:  $A_1= 0,73$  ;  $A_2= 0,36$

FÓRMULA CROMOSÒMICA:  $2n = 2x = 18 = 1m + 8st$

Parell $n^{\circ}$	braç llarg ( $\mu\text{m}$ ) M $\pm$ ES	braç curt ( $\mu\text{m}$ ) M $\pm$ ES	total ( $\mu\text{m}$ ) M $\pm$ ES	IC	Índexs Bazzichelli L% C%	sat.	const.	Tipus Levan	Tipus cromosoma
I	$9,09 \pm 0,57$	$5,92 \pm 0,48$	$15,02 \pm 0,85$	39,43	12,17 7,92	--	--	m	metacèntric
II	$9,44 \pm 0,52$	$1,40 \pm 0,06$	$10,84 \pm 0,55$	12,93	12,62 1,87	--	--	st	subacroèntric
III	$7,29 \pm 0,34$	$1,46 \pm 0,22$	$8,75 \pm 0,54$	16,67	9,76 1,95	--	--	st	subacroèntric
IV	$7,06 \pm 0,54$	$1,49 \pm 0,12$	$8,55 \pm 0,53$	17,39	9,45 1,99	--	--	st	subacroèntric
V	$6,58 \pm 0,54$	$1,32 \pm 0,06$	$7,89 \pm 0,53$	16,67	8,80 1,76	--	--	st	subacroèntric
VI	$6,03 \pm 0,51$	$1,29 \pm 0,05$	$7,32 \pm 0,48$	17,58	8,07 1,72	--	--	st	subacroèntric
VII	$5,35 \pm 0,50$	$1,29 \pm 0,07$	$6,64 \pm 0,53$	19,40	7,15 1,72	--	--	st	subacroèntric
VIII	$4,43 \pm 0,39$	$1,12 \pm 0,09$	$5,55 \pm 0,44$	20,10	5,93 1,49	--	--	st	subacroèntric
IX	$3,29 \pm 0,24$	$0,92 \pm 0,07$	$4,20 \pm 0,27$	21,77	4,40 1,22	--	--	st	subacroèntric
		$\Sigma 74,76$			$\Sigma 78,35$ $\Sigma 21,65$				

Taula 6.6. CARACTERÍSTIQUES CROMOSÒMIQUES DE *D. bolosii*.



PROCEDÈNCIA: Lleida, Rubió de Baix (La Noguera).

MATERIAL VEGETAL: meristemes radiculars.

LONGITUD MITJANA =  $7,00 \pm 0,76 \mu\text{m}$ .

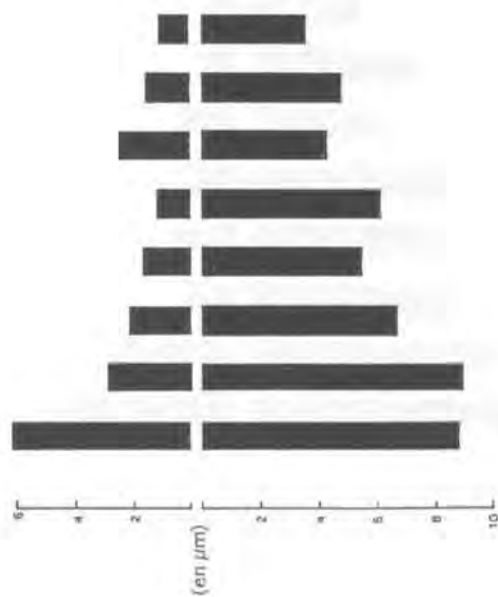
ÍNDEX D'ASIMETRIA D'STEBBINS: 3B

ÍNDEXS D'ASIMETRIA ROMERO-ZARCO:  $A_1 = 0,72$  ;  $A_2 = 0,33$

FÒRMULA CROMOSÒMICA:  $2n = 2x = 18 = 1\text{sm} + 3\text{st}^{\text{sat}} + 5\text{st}$

Parell nº	braç llarg (µm) M ± ES	braç curt (µm) M ± ES	total (µm) M ± ES	IC	Índexs Bazzichelli L%	sat.	const.	Tipus Levan	Tipus cromosoma
I	8,07 ± 0,66	4,40 ± 0,34	12,47 ± 0,83	35,32	12,80	--	--	sm	submetacèntric
II	7,06 ± 0,49	1,20 ± 0,10	8,27 ± 0,53	14,53	11,21	si	--	st	subacrocentric
III	6,15 ± 0,46	1,37 ± 0,09	7,52 ± 0,44	18,25	9,76	--	--	st	subacrocentric
IV	5,83 ± 0,31	1,26 ± 0,09	7,09 ± 0,34	17,74	9,26	si	--	st	subacrocentric
V	5,41 ± 0,23	1,17 ± 0,06	6,58 ± 0,24	17,83	8,58	--	--	st	subacrocentric
VI	5,03 ± 0,32	1,14 ± 0,11	6,18 ± 0,24	18,52	7,99	si	--	st	subacrocentric
VII	4,69 ± 0,21	1,20 ± 0,05	5,89 ± 0,24	20,39	7,44	--	--	st	subacrocentric
VIII	3,72 ± 0,18	1,20 ± 0,14	4,92 ± 0,23	24,42	5,90	--	--	st	subacrocentric
IX	3,09 ± 0,15	1,00 ± 0,08	4,09 ± 0,13	24,48	4,90	--	--	st	subacrocentric
					Σ 77,85	Σ 22,15			
					Σ 63,01				

Taula 6.7. CARACTERÍSTIQUES CROMOSÒMIQUES DE *D. pictum*.



PROCEDÈNCIA: Mallorca, Bóquer.

MATERIAL VEGETAL: meristemes radiculars.

LONGITUD MITJANA= 8,43 ± 1,02 µm.

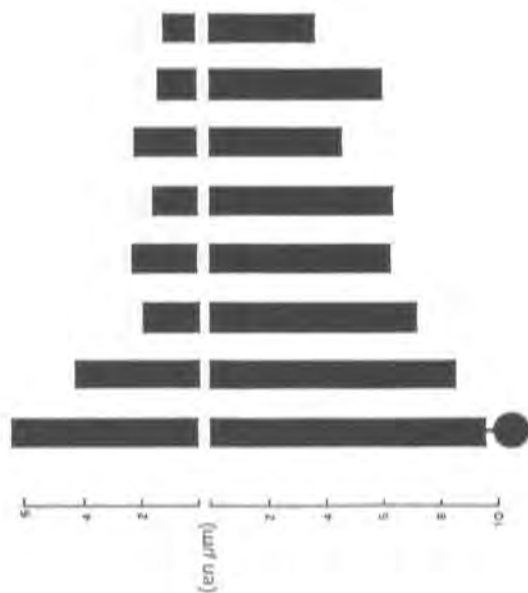
ÍNDEX D'ASIMETRIA D'STEBBINS: 3B

ÍNDEXS D'ASIMETRIA ROMERO-ZARCO:  $A_1= 0,61$  ;  $A_2= 0,36$

FÓRMULA CROMOSÒMICA:  $2n = 2x = 16 = 1m + 3 sm + 4st$

Parell n°	braç llarg (µm) M ± ES	braç curt (µm) M ± ES	total (µm) M ± ES	IC	Índexs Bazzichelli L% C%	sat.	const.	Tipus Levan	Tipus cromosoma
I	8,69 ± 0,65	6,12 ± 0,37	14,81 ± 0,80	41,31	12,90 9,08	--	--	m	metacèntric
II	8,81 ± 0,75	2,86 ± 0,21	11,67 ± 0,81	24,51	13,07 4,24	--	--	st	subacrocèntric
III	6,58 ± 0,44	2,09 ± 0,33	8,67 ± 0,64	24,09	9,76 3,10	--	--	st	subacrocèntric
IV	5,41 ± 0,56	1,66 ± 0,18	7,06 ± 0,65	23,48	8,02 2,46	--	--	st	subacrocèntric
V	6,03 ± 0,59	1,23 ± 0,10	7,26 ± 0,56	16,93	8,95 1,82	--	--	st	subacrocèntric
VI	4,32 ± 0,41	2,46 ± 0,39	6,78 ± 0,56	36,29	6,41 3,65	--	--	sm	submetacèntric
VII	4,75 ± 0,49	1,77 ± 0,34	6,52 ± 0,56	27,19	7,04 2,63	--	--	sm	submetacèntric
VIII	3,46 ± 0,34	1,17 ± 0,14	4,63 ± 0,35	25,31	5,13 1,74	--	--	sm	submetacèntric
					Σ 71,28	Σ 28,72			
					Σ 67,41				

Taula 6.8. CARACTERÍSTIQUES CROMOSÒMIQUES DE *D. pictum*.



PROCEDÈNCIA: Mallorca, Mortitx.

MATERIAL VEGETAL: meristemes radiculars.

LONGITUD MITJANA =  $9,09 \pm 1,14 \mu\text{m}$ .

ÍNDEX D'ASIMETRIA D'STEBBINS: 3B

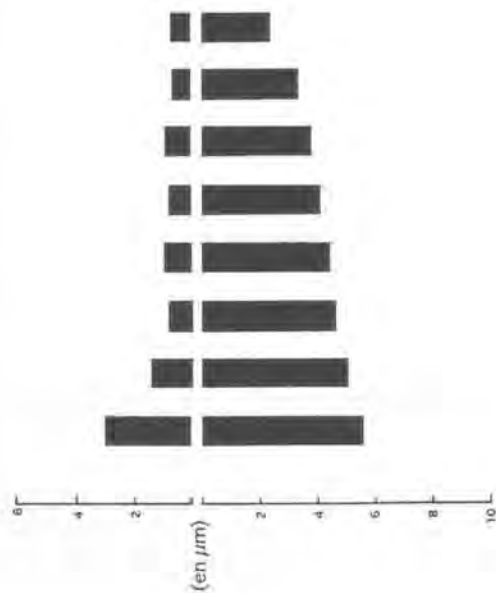
ÍNDEX D'ASIMETRIA ROMERO-ZARCO:  $A_1 = 0,62$ ;  $A_2 = 0,38$

FÓRMULA CROMOSÒMICA:  $2n = 2x = 16 = 1m^{\text{sat}} + 3sm + 4st$

Parrell n <sup>e</sup>	braç llarg (µm) M ± ES	braç curt (µm) M ± ES	total (µm) M ± ES	IC	Índexs Bazzichelli L %	C %	sat.	const.	Tipus Levan	Tipus cromosoma	
I	9,44 ± 0,52	6,75 ± 0,27	16,19 ± 0,69	41,70	12,98	9,28	si	--	m	metacèntric	
II	8,41 ± 0,46	4,23 ± 0,53	12,64 ± 0,49	33,48	11,56	5,82	--	--	sm	submetacèntric	
III	7,15 ± 0,49	1,94 ± 0,20	9,09 ± 0,33	21,38	9,83	2,67	--	--	st	subacrocentric	
IV	6,21 ± 0,24	2,29 ± 0,22	8,49 ± 0,26	26,94	8,53	3,15	--	--	sm	submetacèntric	
V	6,26 ± 0,33	1,60 ± 0,21	7,87 ± 0,23	20,36	8,61	2,20	--	--	st	subacrocentric	
VI	4,60 ± 0,28	1,89 ± 0,28	6,49 ± 0,36	29,07	6,33	2,60	--	--	sm	submetacèntric	
VII	5,95 ± 0,28	1,29 ± 0,12	7,24 ± 0,28	17,79	8,18	1,77	--	--	st	subacrocentric	
VIII	3,55 ± 0,20	1,17 ± 0,09	4,72 ± 0,22	24,85	4,88	1,61	--	--	st	subacrocentric	
				Σ 72,73							
				Σ 70,90		Σ 29,10					



Taula 6.9. CARACTERÍSTIQUES CROMOSÒMIQUES DE *D. verdunense*.



PROCEDÈNCIA: Barcelona, Sant Llorenç d'Hortons (Alt Penedès).

MATERIAL VEGETAL: meristemes radiculars.

LONGITUD MITJANA=  $5,22 \pm 0,50 \mu\text{m}$ .

ÍNDEX D'ASIMETRIA D'STEBBINS: 3B

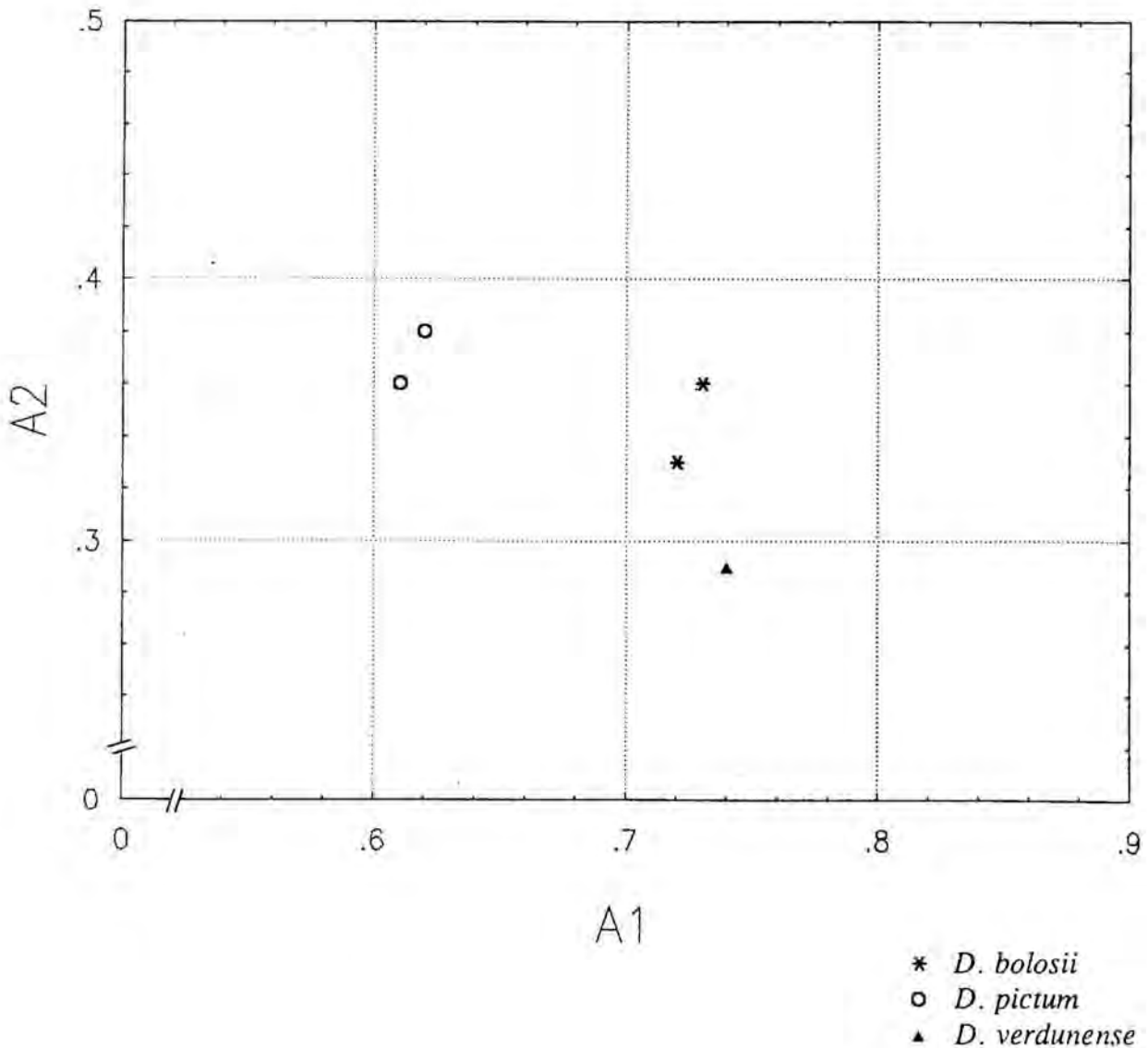
ÍNDEX D'ASIMETRIA ROMERO-ZARCO:  $A_1= 0,74$  ;  $A_2= 0,29$

FÓRMULA CROMOSÒMICA:  $2n = 2x = 16 = 1\text{sm} + 7\text{st}$

Parcell nº	braç llarg (µm) M ± ES	braç curt (µm) M ± ES	total (µm) M ± ES	IC	Índexs Bazzichelli L%	sat.	const.	Tipus Levan cromosoma	Tipus
I	5,52 ± 0,27	2,86 ± 0,16	8,38 ± 0,31	34,13	13,22	6,85	--	sm	submetacèntric
II	5,06 ± 0,29	1,40 ± 0,10	6,46 ± 0,30	21,68	12,12	3,36	--	st	subacrocentric
III	4,60 ± 0,16	0,74 ± 0,04	5,35 ± 0,17	13,90	11,03	1,78	--	st	subacrocentric
IV	4,26 ± 0,16	0,83 ± 0,05	5,09 ± 0,14	16,29	10,21	1,99	--	st	subacrocentric
V	4,03 ± 0,15	0,77 ± 0,06	4,80 ± 0,16	16,07	9,66	1,85	--	st	subacrocentric
VI	3,72 ± 0,14	0,83 ± 0,08	4,55 ± 0,16	18,24	8,90	1,99	--	st	subacrocentric
VII	3,35 ± 0,17	0,77 ± 0,04	4,12 ± 0,18	18,75	8,01	1,85	--	st	subacrocentric
VIII	2,35 ± 0,35	0,66 ± 0,06	3,00 ± 0,36	21,90	5,62	1,58	--	st	subacrocentric
					Σ 78,77	Σ 21,23			
					Σ 41,76				

La representació en un sistema de coordenades dels índexs d'asimetria intracromosòmica (A1) i intercromosòmica (A2) de Romero-Zarco (ROMERO, 1986) correspon a la figura 6.5. Si s'analitza el gràfic obtingut, es pot observar que es discriminen força bé les tres espècies, i que les poblacions de la mateixa espècie resten força agrupades entre elles.

Figura 6.5. REPRESENTACIÓ DELS ÍNDEXS D'ASIMETRIA DE ROMERO-ZARCO.  
(ROMERO, 1986)



A partir de l'estudi meiòtic, a part de la informació que aporta el nombre gamètic, que en alguns casos ens ha ajudat a confirmar el nombre cromosòmic, hem intentat quantificar el nombre de monovalents i bivalents observats en les diacinesis meiòtiques, que s'expressen en la taula 6.10. per esbrinar quin és el seu comportament. En cap cas hem trobat trivalents o formes amb més cromosomes.

Taula 6.10. ESTUDI QUANTITATIU DE L'APARELLAMENT EN LA MEIOSI.

Poblacions	n	8 <sup>n</sup>	7 <sup>n</sup> + 2 <sup>1</sup>	6 <sup>n</sup> + 4 <sup>1</sup>
<i>D. verdunense</i> (Garraf)	10	90	10	---
<i>D. staphisagria</i> (Marroc)	14	71,5	21,5	7,5
<i>D. pictum</i> (CT, Mallorca)	10	100	---	---
<i>D. fissum</i> subsp. <i>sordidum</i> (Salamanca)	31	64,5	32,25	3,2

n = nombre de plaques metafàsiques estudiades.

Els resultats s'expressen en forma de %.

## 6.4. DISCUSSIÓ

### 6.4.1. ESTUDI DE LES MITOSIS

#### a) *D. bolosii*

El recompte cromosòmic d'ambdues poblacions de *D. bolosii* ens dóna un complement diploide de  $2n = 18$ . És un cas força clar d'aneuploidia per guany de dos cromosomes respecte el nombre habitual del gènere  $2n = 16$ , fenomen força estrany en *Delphinium*. Segons les fonts bibliogràfiques consultades, de moment, és l'única espècie que ha donat aquest nombre dins del gènere, i només es té notícia d'una altra espècie, *D. denudatum* Wallich que també pertany al mateix subgen. *Oligophyllon*, però a una secció força allunyada, amb  $2n = 20$  (AK-SARKAR, 1982), en la qual el nombre resultant no és múltiple exacte del nombre de base  $x = 8$ .

Aquesta espècie pertany a la sèrie *Fissa* Pawl., en la qual s'inclou, entre d'altres, *D. fissum* Waldst. & Kit., espècie que engloba diverses subespècies, molt propera filogenèticament a *D. bolosii*, de la qual existeixen recomptes de  $2n = 16$  (TISCHLER, 1927; WILDE, 1931) i  $2n = 32$  (HOCQUETTE, 1922; PROPACH, 1940), dins del mateix tàxon. El segon nombre correspon a un tetraploide. Aquests autors no varen precisar el nivell infraespecífic. *D. fissum* subsp. *sordidum* és, a part de *D. bolosii*, l'únic representant del grup que es troba present a la Península Ibèrica. Fou comptat i cariotipat per BLANCHÉ (1991). Presenta una dotació cromosòmica de  $2n = 16$ , que coincideix amb els recomptes de RICO *et al.* (1981) realitzats sobre material peninsular. Dins de la sèrie, segons les dades bibliogràfiques que disposem, només es coneixen recomptes, apart dels anteriors, del poliploide *D. hybridum* Steph. amb  $2n = 32$  (ZHUKOVA, 1967; LANGLET, 1927).

La població de *D. bolosii* del Priorat només ha estat comptada i cariotipada per BLANCHÉ (*l. c.*), els resultats del qual coincideixen amb els nostres. Va confirmar el nombre obtingut mitjançant el complement haploide  $n = 9$ , provinent de l'estudi meiótic.

El recompte cromosòmic de la població de La Noguera és una aportació que convé destacar. Aquesta població aïllada geogràficament, que ha estat descoberta recentment, havia estat descrita com una subespècie nova: *D. fissum* Waldst. & Kit. subsp. *fontqueri* Ascaso & Pedrol (ASCASO & PEDROL, 1991). A part de tota la informació cariològica, s'ha dut a terme un estudi morfomètric comparatiu entre individus d'aquesta població, individus de *D. bolosii* del Priorat i individus de *D. fissum* de Salamanca (BOSCH, dades pendents de publicació). Amb tot, el nombre de cromosomes i la similitud dels cariogrames, que més endavant comentarem, ha estat el caràcter més decisiu que ens ha portat a considerar massa forçada la descripció de la nova subespècie i creure més convenient incloure-la dins l'espècie *D. bolosii*. A més, les experiències reproductives del capítol 4, on es posa de manifest que ambdues poblacions de *D. bolosii* són compatibles genèticament, és a dir, que es poden creuar i arriben a produir granes madures, ben desenvolupades, presumptament viables, són una nova dada que reforça aquesta idea.

Si es comparen els cariogrames d'ambdues poblacions, hom pot observar un alt grau de semblança, sobretot pel que fa a la proporcionalitat relativa dels parells de cromosomes corresponents. La longitud mitjana de la població prioritana és lleugerament superior a la de La Noguera. Si s'examina amb detenció, hom pot diferenciar clarament dos grups de cromosomes segons la mida i simetria; una parella de cromosomes llargs i simètrics (de tipus metacèntric o submetacèntric), i les vuit restants, en ordre més o menys decreixent de longitud, molt més curts i asimètrics (de tipus subacrocentric). El model de cariotipus descrit per a les espècies de *Delphinium* nordamericanes, totes perennes, i les perennes d'altres indrets (LEWIS *et al.*, 1951; LEGRO, 1961; JAIN *et al.*, 1963), presenta sempre dues parelles de cromosomes llargs i simètrics, i sis de més curts i asimètrics. Aquest fenomen també ha

estat observat en la majoria de cariogrames del gènere *Consolida* (DC.) S. F. Gray (SIMON, 1986; HONG DE-YUAN, 1986), i, en general, de tota la tribu *Delphineae* (TRIFONOVA, 1990). Es podria aventurar una hipòtesi que expliqués la formació d'aquests aneuploides. Vindria ocasionada pel trencament d'un fragment de braç d'un dels cromosomes llargs, que durant el transcurs del temps anés estabilitzant-se i esdevingués un nou cromosoma.

Cal destacar l'elevada presència de satèl.lits en la població de La Noguera, a diferència de l'altra, que no se n'ha detectat cap. Malauradament, en l'actualitat, per les dades que disposem, es desconeix encara la funció precisa d'aquests fragments d'ADN o quin tipus d'informació porten. Tampoc se sap si són caràcters antics de tipus residual que tenen tendència a perdre's o bé, per al contrari, són fragments d'incorporació recent i denoten un cariotipus més modern. Malgrat tot, si són considerats com un caràcter morfològic més a tenir en compte. En cap dels dos cariogrames s'observen constriccions secundàries.

El cariograma de la població del Priorat obtingut per BLANCHÉ (1991) és una mica diferent, la qual cosa podria indicar que es tracta d'una població que encara no s'ha estabilitzat del tot, és a dir, que la transmissió de la condició aneuploide és encara força lligada a possibles errors en la formació dels gàmetes. Els nostres cariogrames lligarien més amb els de *D. fissum* subsp. *sordidum* del mateix autor, si considerem la hipòtesi de fragmentació d'un dels cromosomes llargs, que anteriorment esmentàvem. Aquests fets es podrien relacionar amb l'àrea de distribució de la sèrie *Fissa* i la dispersió d'aquests tàxons, tal i com apunta BLANCHÉ (*l. c.*), seguint les línies de migració proposades per BOCQUET *et al.* (1978). Aquest grup té l'origen en les estepes i muntanyes baixes de l'Àsia central i s'extén per tot el nord de la Mediterrània. L'extrem més occidental és, precisament, les escasses localitats de *D. fissum* subsp. *sordidum* peninsulars. Les dues poblacions de *D. bolosii*, establirien un pont d'enllaç entre *D. fissum* subsp. *fissum* var. *narbonense*, que ocupa la zona dels Baixos Alps, i *D. fissum* subsp. *sordidum*, en l'antiga àrea de dispersió de l'espècie *D. fissum*. Per diverses circumstàncies, podien haver quedar aïllades geogràficament, la qual cosa hauria pogut propiciar que patissin algun procés de diferenciació diferent, i donar lloc a una reorganització del material genètic, formant-se aquest nou complement aneuploide.

#### b) *D. pictum*

Els recomptes cromosòmics de les dues poblacions d'aquesta espècie donen  $2n = 16$ , en ambdós casos. Aquestes dades coincideixen amb les de GREGORY (1941) i CONTANDRIOPOULOS & CARDONA (1984). VERLAQUE *et al.* (1991), van establir els cariotipus de dues poblacions de *D. pictum* (una de Mallorca i l'altra de Còrsega) i una de *D. requieni* DC. (de Porquerolles, a les illes Hyères). Existeix un recompte de *D. requieni* de  $2n = 16$  de KURITA (1957).



Dins del mateix grup taxonòmic es troba *D. staphisagria*, espècie simpàtrica de *D. pictum* a l'illa de Mallorca, de la qual existeixen recomptes de  $2n = 16$  (HOCQUETTE, 1922; LEWITSKY, 1931; GREGORY, 1941; BLANCHÉ, 1991) i de  $2n = 32$  (LANGLET, 1927; GREGORY, 1941). MAIRE (1964) va trobar ambdós valors en la meiosi,  $n = 8$  i  $n = 16$ . En ocasions poden ser poliploides de tipus accidental, ja que en ser una planta força emprada en jardineria, els exemplars usats per a realitzar els recomptes podrien haver sofert algun tipus de modificació.

Els dos cariogrames de *D. pictum* que hem obtingut, són força similars, tant en longitud com en la simetria dels cromosomes. En ambdós casos cal denotar la presència de dues parelles de cromosomes llargs, la primera sensiblement més simètrica que la segona. La resta són més curts i més asimètrics, excepte el parell VI que és gairebé submetacèntric. La població de Mortitx presenta un satèl.lit en el braç llarg del parell I, mentre que en la de Bóquer no s'ha trobat cap parella satel.litífera.

Si es comparen els resultats obtinguts amb el tres cariogrames establerts per VELARQUE *et al.* (*l. c.*), es pot copsar, a primer cop d'ull, que les longituds mitjanes obtingudes són del mateix ordre. El cariograma de la població de Còrsega és molt més asimètric que el que obtenen de Mallorca, i potser en aquest aspecte s'assembla més als de les nostres poblacions mallorquines. En el de Mallorca, però, és remarcable la simetria del parell VI (de tipus metacèntric). En els nostres cariogrames, com abans indicàvem, el parell VI era més simètric, però no de forma tan marcada. En el cariograma de *D. requieni* es manté aquesta característica i, de fet, en general, tot ell és més simètric. Tot i això, no deixa de mantenir un grau de semblança relativament alt.

Cap dels tres cariogrames proposats per VELARQUE *et al.* (*l. c.*) presenta cromosomes satel.litífers.

### c) *D. verdunense*

El grup de les espècies anuals, les quals pertanyen en la seva totalitat al subgen. *Delphinium*, que han estat investigades fins el moment present, són estrictament diploides (BLANCHÉ *et al.*, 1990; BLANCHÉ, 1990). L'absència de nivells de ploïdia més elevats és una característica d'aquests tàxons que reforça la idea d'un origen recent del subgènere, i per tant, es pot considerar que és un grup més evolucionat, respecte a les espècies perennes. Ens estem referint a les següents espècies: *D. balansae* Boiss. et Reut., *D. balcanicum* Pawl., *D. cossonianum* Batt., *D. gracile* DC., *D. halteratum* Sibth. & Sm., *D. macropetalum* DC., *D. nanum* DC., *D. peregrinum* L., i *D. verdunense*, incloses en la secció *Delphinium*. Totes elles presenten nombres cromosòmics diploides de  $2n = 16$  i nombres haploides de  $n = 8$ . A nivell de tribu, també s'entreveu aquesta tendència a la desaparició de nivells de ploïdia superiors

al diploide, en els gèneres més evolucionats: *Consolida* (DC.) S.F. Gray i *Aconitella* Spach (TRIFONOVA, 1990).

Els nostres resultats del recompte de *D. verdunense* ( $2n = 16$  i  $n = 8$ ), coincideixen amb els de AL-KELIDAR & RICHARDS (1981) i LEWITSKY (1931), pel que es refereix al complement diploide i TIEBES (1928) pel que respecta al nombre haploide. En ambdós casos, però, cal tenir en compte que els recomptes no han estat realitzats sobre material ibèric. També coincideixen amb els obtinguts per BLANCHÉ *et al.* (1985), QUEIRÓS (1990) i BLANCHÉ (1991), aquests efectuats sobre material peninsular.

Tot i que les mesures dels cromosomes ens ha donat resultats lleugerament superiors als de les estirps taxonòmicament properes, indicades en la bibliografia consultada, és un fet remarcable la disminució de les dimensions cromosòmiques, sobretot si es compara amb els resultats obtinguts per *D. bolosii* i *D. pictum*. Segons AL-KELIDAR & RICHARDS (1981), la reducció de la mida de la longitud mitjana dels cromosomes és un indicador de posicions filogenèticament derivades, en aquest cas clarament relacionat amb l'hàbit anual.

Aquesta disminució de la mida dels cromosomes sembla estar estretament relacionada amb un augment de l'asimetria intracromosòmica del cariotipus, per pèrdua de fragments de material genètic que condueix a la formació de cromosomes més acrocèntrics. També cal destacar la desaparició d'una de les parelles de cromosomes llargs, en aquest cas, però, conservant el nombre de base  $x = 8$ , fet que ja apunta TRIFONOVA (1990). Són els tàxons on, potser, aquest fenomen assoleix la màxima expressió. Per les dades que disposem, aquest comportament és força generalitzat per a totes les espècies anuals.

Les diferències morfològiques entre el cariotipus de *D. verdunense*, cariotipat per primera vegada, amb els proposats per BLANCHÉ (1991) sobre *D. halteratum* i *D. gracile*, són molt petites. Potser es podria destacar la presència d'una parella satel·lífera en *D. halteratum*, mentre que en els altres dos no n'apareix cap. No s'observen constriccions secundàries en cap d'ells.

La taxonomia d'aquest grup no està del tot aclarida, degut en gran part, a l'existència de pocs caràcters macromorfològics diferenciadors. De fet, la semblança dels cariotipus ja concorda amb aquesta idea. BLANCHÉ (*l. c.*) defensa la hipòtesi de l'existència d'un pool genètic comú entre totes les aquestes poblacions, que s'intercala, es mou i s'expressa, ara per ara, de manera desconeguda. A vegades, apareix més diversitat genètica dins d'una mateixa població, que entre poblacions molt distants entre elles. Això, de totes maneres, es podria relacionar amb l'ecologia d'aquestes plantes, colonitzadores de rostolls, sembrats i guarets, les granes de les quals es podrien transportar a grans distàncies barrejades amb el gra dels cereals.

## 6.4.2. ESTUDI DE LES MEIOSIS

El nombre gamètic de les poblacions estudiades ha servit, d'entrada, per a confirmar la dotació cromosòmica diploide, que en tots els casos ens ha donat la meitat, com era d'esperar (*cf.* taula 6.4.). El recompte de  $n = 8$  per a *D. staphisagria* és, que nosaltres sapiguem, el primer efectuat sobre poblacions silvestres africanes d'aquest tàxon.

Pel que fa referència al comportament dels cromosomes durant la meiosi, podem dir, en vista els resultats, que és del tot normal per a les quatre poblacions estudiades. En la profase I, els cromosomes homòlegs s'aparellen amb la finalitat d'intercanviar material hereditari, fenomen que es coneix amb el nom de recombinació genètica. És en aquesta etapa que té lloc, doncs, la formació dels bivalents (conjunt de dos cromosomes homòlegs que intercanvien ADN, els punts d'unió entre aquestes estructures són els anomenats quiasmes). En la metafase I se situen en la placa equatorial i en una fase posterior se separaran i es dirigiran cap els pols de la cèl.lula. En casos de comportaments anòmals, com per exemple podrien ser els aneuploides on manquen o sobren cromosomes, l'aparellament no és del tot exacte i es poden formar trivalents, tetravalents, etc. adoptant unes formes molt característiques fàcilment detectables o, simplement, quedar desaparellats. També solen presentar comportaments d'aquest tipus els poliploides o els híbrids.

En algunes ocasions, en l'estudi meiòtic dels tàxons considerats, apareixien monovalents lliures, com ja havien detectat BLANCHÉ *et al.* (1990) en *D. balansae*. A la taula 6.5. s'ha intentat, d'alguna manera, quantificar-ho. Són meiosis de tipus asincrònic, és a dir, que la separació dels bivalents té lloc en diferents períodes de temps. Aquest fenomen està clarament relacionat amb la llargada dels cromosomes i el nombre de quiasmes, essent els més curts els primers en separar-se. La presència de monovalents lliures és més acusada en *D. staphisagria* i *D. fissum* subsp. *sordidum*, i ho atribuïm més a l'asincronia (s'han aparellat i separat més ràpidament), que no pas al fet que fossin cromosomes defectuosos que ja d'entrada no s'aparellessin bé. A més, la diferència de longituds entre els cromosomes d'aquestes dues espècies és força més notable, per la qual cosa, les terminalitzacions dels quiasmes es produeixen a ritmes ben diferents.

Cal destacar la notable presència de formes circulars o de paella dels bivalents corresponents als cromosomes llargs en la població de *D. fissum* subsp. *sordidum*.

La constància en el comportament meiòtic de les poblacions que han estat emprades en les experiències de l'estudi dels sistemes reproductius, ens permet predir que si es produeixen resultats baixos en la producció de les F1, aquestes no seran atribuïbles a errors dels parentals sinó, específicament a la pròpia incompatibilitat genètica entre tàxons o poblacions.

## **7. CONCLUSIONS**



1.- La morfologia floral de les tres espècies examinades (*D. verdunense*, *D. pictum* i *D. bolosii*) es caracteritza per una disposició d'elements, tant en el temps com en l'espai, que afavoreixen molt específicament la pol.linització creuada per insectes. Els trets fonamentals d'aquesta síndrome són:

- a.- Nèctar amagat en un esperó, secretat per pètals nectarífers interns
- b.- Dicogàmia (proteràndrica) i hercogàmia
- c.- Pètals laterals que barren el pas d'accés als òrgans sexuals de la flor als possibles insectes pol.linitzadors
- d.- Índex P/O variable de 1500 a 6700, indicador en tots els casos d'al.logàmia
- e.- Colors vius, que fan ben visibles de lluny les corol.les

Aquestes característiques determinen la necessitat d'insectes amb aparell bucal llarg (els esperons mesuren entre 7 i 22 mm), amb prou corpulència per a separar els pètals laterals i amb dependència energètica de nèctar. Els himenòpters del gènere *Bombus* aconsegueixen els requisits per a ésser els pol.linitzadors més eficaços en les flors de *Delphinium*.

2.- Les experiències de camp indiquen una composició dels visitants florals (pol.linitzadors potencials) amb l'espectre següent:

Himenòpters: 27-55 %	Coleòpters: 0-18 %
Lepidòpters: 13-58 %	Heteròpters: 0-11 %
Dípters: 10-28 %	

que, fonamentalment, s'acorda al model teòric del punt 1. En tot cas, les visites sovintejades de *Macroglossum stellatarum*, poden substituir la manca ocasional de *Bombus*, compensant la menor eficàcia amb una més gran eficiència. Alternativament, altres antòfils com per exemple *Bombylius* sp. o *Amegilla fasciata* reuneixen els requisits i són també bons pol.linitzadors. No hem detectat pol.linitzadors nocturns.

3.- No obstant això, s'aprecien diferències entre les espècies estudiades que cal destacar:

- a.- Dèficit de *Bombus* i increment d'altres himenòpters i lepidòpters en les espècies anuals (*D. verdunense*).
- b.- Increment del percentatge de visites d'insectes menys especialitzats en *D. pictum*, espècie amb l'esperó més curt i amb els pètals laterals amb una major superfície, són força eficaços en el bloqueig de l'entrada. Seria esperable, doncs, un percentatge més elevat d'autofecundació, pel tipus de moviment indiscriminat d'aquest tipus d'antòfils.
- c.- Predomini de *Bombus* i *Macroglossum* en *D. bolosii*. Espècie amb major percentatges d'esperons perforats per visitants il.legítims (és, de les tres espècies, la que té l'esperó més llarg).



4.- L'estudi dels sistemes reproductius, però, aporta dades que aparentment contradiuen el comportament esperable a partir de l'especialització morfològica i de les observacions de camp. En efecte, tot i que els millors resultats s'obtenen en la reproducció per al·logàmia (xenogàmia), són sorprenents els elevats percentatges de descendència (mesurats en producció de granes i llur germinació), obtinguts per autogàmia i geitonogàmia, que oscil·len entre un 17-33 % en *D. verdunense*, 60-67 % en *D. pictum* i 38-50 % en *D. bolosii*.

5.- Com a hipòtesi d'aproximació, podem considerar que existeix de fet, una competició entre tots dos sistemes de reproducció, l'autogàmia i l'al·logàmia. L'eficàcia del primer és lleugerament superior a la del segon, pel que fa a percentatges de germinació, però tots dos casos permeten assegurar la descendència, encara que lògicament, de qualitat (entesa com a diversitat genètica) ben diferent. Aquest fenomen pot interpretar-se com una adquisició secundària que, eventualment, assecuri la reproducció a manca de pol·linitzadors, com esdevé en altres espècies entomòfiles. No obstant això, resta per analitzar quines barreres d'incompatibilitat han pogut desaparèixer per a permetre l'autogàmia, si s'accepta que es tracta d'un gènere primàriament reproduït per al·logàmia, com així s'ha estudiat en d'altres espècies.

6.- Tanmateix, l'adquisició de la possibilitat d'autogàmia no sembla un procés tancat, sinó, més aviat, un fenomen plàstic, relativament modulable a nivell de població. Així ho demostren, els percentatges d'èxit de l'autofecundació en *D. verdunense*, on d'una població a l'altra hi ha gairebé el doble.

7.- Les dades obtingudes permeten apuntar certes conclusions de tipus biosistemàtic, que representen una aportació dels mecanismes reproductius a les estratègies adaptatives de les espècies estudiades.

**7.a.- El nombre cromosòmic actua com a barrera d'incompatibilitat de primer ordre.**

Els resultats dels encreuaments ha donat percentatges variables d'èxit en totes les experiències, fins i tot interespecífiques, llevat les que implicaven tàxons amb diferent valència cromosòmica. Cal suposar, doncs, que aquest pot ésser un mecanisme d'aïllament reproductiu que afavoreixi, quan apareix, l'especiació simpàtrica. *D. bolosii* ( $2n=18$ ) representa, respecte a *D. fissum* ( $2n=16$ ), un exemple, probablement recent, d'aquest mecanisme.

**7.b.- L'autogàmia representa un avantatge adaptatiu de les espècies colonitzadores.**

Tant *D. verdunense* com *D. pictum* són espècies que poden ser considerades moderadament invasores i colonitzadores d'espais oberts. Els elevats percentatges d'autogàmia que admeten poden facilitar l'ocupació de nous territoris, ni que sigui

amb poques -o cap- possibilitat d'interfecundació amb d'altres individus. Ultra això, els similars resultats obtinguts dels encreuaments intra i interpoblacionals, ens fan pensar que la divergència genètica entre poblacions ha de ser molt petita i que, probablement, l'aportació de diversitat d'un individu a un altre sigui poc notable. Ultra això, els elevats resultats d'autogàmia fan pensar que, en el cas de *D. verdunense*, el model més ramificat de les inflorescències, que permet visites repetides en el mateix individu, no ha de ser necessàriament desfavorable, a la vista de la producció final de granes.

#### **7.c.- La partenogènesi no té cap paper en la reproducció de les espècies estudiades.**

Els resultats nuls de les experiències de partenogènesi -esperables en les anuals, però no tant, en les perennes- indiquen que aquest sistema de reproducció no aporta cap avantatge notable, sobretot en *D. bolosii*. En aquesta espècie, la possible inestabilitat produïda per l'aneuploidia és superada per la simple reproducció vegetativa (producció de brots múltiples (ramets) a partir de la mateixa soca (genet)) i no per fenòmens de partenogènesi.

#### **7.d.- Tendència evolutiva cap a la simplificació floral: estratègia de les anuals mediterrànies.**

Tot i la síndrome general de la flor de *Delphinium*, les característiques de les espècies anuals estudiades ens demostren unes modificacions de certa consideració respecte a les que poden ser interpretades com a etapes evolutives secundàries, que representen avantatges adaptatius:

(a).- *D. verdunense*. Presenta flors clarament més petites, amb reducció del nombre d'estams de 30 a 16, de la vistositat dels pètals laterals (pèrdua dels cilis i menor mida), disminució del nombre d'òvuls per carpel i de les dimensions de les granes. Totes aquestes reduccions, en clara relació amb l'economia de recursos, compensen la seva influència als fenòmens de reproducció per un notable increment del nombre mitjà del nombre de flors per individu (al voltant d'un centenar, respecte a la trentena de *D. pictum* i *D. bolosii*). Amb tot, el nombre de flors, atès el sistema de ramificació, és un caràcter molt vinculat a la disponibilitat d'aquests nutrients, i per tant és, parcialment almenys, de regulació fenotípica externa (ecològica). La possibilitat d'elongació dels eixos i del nombre de flors, és completada per una més efectiva dispersió de les granes (disminució de la relació pes/volum i millor flotabilitat a l'aire i a l'aigua).

(b).- *D. pictum*. Presenta flors amb esperons més curts, en la línia evolutiva que culmina en *D. staphisagria* (esperons de 3 a 4 mm), caràcter que hom pot considerar regressiu respecte a les espècies d'esperons llargs. Tanmateix, han colonitzat territoris i ambients on no han arribat altres grups de *Delphinium*, probablement per la possibilitat d'accedir a llurs flors per part d'insectes menys especialitzats i, per tant, en absència de pol.linitzadors principals. Ultra això, el recurs de l'autogàmia, el màxim aprofitament de l'espai del fol.licle per encabir-hi més granes i l'existència de repel.lents químics especialitzats acaben de completar els recursos estratègics emprats en la seva particular deriva genètica.

### 7.e.- Repercussió reproductiva del cicle biològic: dues estratègies, una ràpida i l'altra lenta.

De l'estudi de la germinació i desenvolupament de les plàntules i del ritme de floració, en igualtat de condicions experimentals i coincidint amb les observacions de camp, hom pot postular dos models ben diferents establerts al territori mediterrani occidental.

(a).- *D. pictum* i *D. bolosii*. Germinació lenta esglaonada en el temps, i aparició lenta de la primera fulla (*D. pictum*). Adaptació a ambients estables amb disponibilitat de recursos més o menys constants. Floració clarament en pic: pràcticament tots els individus floreixen al mateix temps i durant un període de temps breu (*D. pictum* i *D. bolosii*). Això significa un control genètic molt precís i permet la regulació de la fenologia, emprada com a mecanisme d'aïllament genètic tant en el grup de *D. staphisagria* com el de *D. fissum*.

(b).- *D. verdunense*. Germinació més ràpida, amb característiques ben clares d'annual, que respon més immediatament a les condicions favorables. Igualment aparició de la primera fulla, de roseta basal ràpida. A partir d'aquest moment es produeix una inversió del ritme, amb una eclosió floral lenta i esglaonada en el temps, que permet una despesa energètica per unitat de temps més petita i la permanent exposició als pol.linitzadors durant 3 o 4 mesos, tot abastant la màxima probabilitat de trobar insectes en un moment o altre. És, en conjunt, una estratègia favorable en ambients amb recursos limitats i variables al llarg del temps.

8.- Dels estudis continguts en aquesta Memòria se'n desprenen també, algunes conclusions de tipus taxonòmic, de les quals destaquem:

8.a.- Valor del cicle anual/biennal com a diferencial entre els subgèneres *Delphinium* i *Staphisagria*.

Les nostres observacions confirmen que *D. pictum* no es comporta en absolut com a biennal, sinó com a anual perfecte. Això posa en dubte, tant l'ús d'aquest caràcter per diferenciar tots dos subgèneres, com la seva utilització per a distingir *D. pictum* de *D. requieni*, com proposen alguns autors.

#### 8.b.- Afinitats filogenètiques entre grups.

Els resultats de les hibridacions interespecífiques demostren que existeix molt poca afinitat entre els tres subgèneres a que pertanyen les espècies estudiades. En tot cas, hi ha més afinitat entre *D. pictum* i *D. verdunense*, que no pas entre aquests i *D. bolosii*.

#### 8.c.- Una nova localitat de *D. bolosii*.

El tàxon descrit com a *D. fissum* subsp. *fontqueri* ha resultat ser un sinònim de *D. bolosii*, amb el qual coincideix en el nombre cromosòmic i en les característiques morfològiques fonamentals. Es referma, doncs, la idea de l'existència d'unes poblacions de la sèrie *Fissa* amb fenòmens de deriva genètica, existents al territori catalanídic i sicòric, assimilables a *D. bolosii*, encara que poc, de l'estirp oriental de *D. fissum*, probablement per efectes d'extrem d'àrea.

## **8. BIBLIOGRAFIA**



- ABOUCAÏA, A. (1983). Les îles d'Hyères: Comparaisons floristiques avec les Maures et la Corse. Liens phytogéographiques. D.E.A., Université d'Aix-Marseille, III (inéd.).
- AK-SARKAR. (1982). IOPB Chromosome number reports. *Taxon* 31(1): 578.
- AL-KELIDAR, R. & A. J. RICHARDS. (1981). Chromosomal indications of evolutionary trends in the genus *Delphinium* L. *Cytologia* 46: 623-633.
- ARROYO, J. (1988). Atributos florales y fenología de la floración en matorrales del Sur de España. *Lagasalia* 15: 47-78.
- ASCASO, J. & J. PEDROL. (1991). De plantis vascularibus præsertim ibericis. *Fontqueria* 31: 135-140.
- BAKER, H. G. (1973). Evolutionary relationships between flowering plants and animals in American and African tropical forests. Random House, Nova York.
- BAKER, H. G. (1983). An outline of the History of Anthecology and Pollination Biology, in L. Real (ed.), *Pollination Biology*: 7-28. Academic Press, Londres.
- BAKER, H. G. & I. BAKER. (1975). Studies of nectar-constitution and plant-pollinator coevolution, in L. E. Gilbert & P. H. Raven (eds.), *Coevolution of Animals and Plants*: 100-140. Univ. Texas Press, Austin.
- BAKER, H. G. & I. BAKER. (1983). Floral nectar sugar constituents in relation to pollinator type, in C. E. Jones & R. J. Little (eds.), *Handbook of Experimental Pollination Biology*: 117-141. Van Nostrand Reinhold Comp., Nova York.
- BAKER, H. G. & P. D. HURD. (1968). Intrafloral ecology. *Ann. Rev. Entomol.* 55: 10-18.
- BASSETT, D. (1992). Propagation of Delphiniums by taking cuttings, in L. Cooper (ed.), *The Delphinium Society Year Book 1992*: 39-47. The Delphinium Society, Surrey.
- BASSETT, S. E. (1990). Modern garden Delphiniums. *Collect. Bot. (Barcelona)* 19: 153-160.
- BATEMAN, A. J. (1952). Self-autoincompatibility systems in angiosperms. *Heredity* 6: 285-310.
- BAWA, K. S. & J. H. BEACH. (1981). Evolution of sexual systems in flowering plants. *Ann. Missouri Bot. Gard.* 68: 254-274.
- BAZZICHELLI, G. (1967). Studi del ciclo del *Leucanthemum atratum* (Jacq.) DC. sensu amplo. *Ann. Bot. (Roma)* 29: 835-891.
- BENN, M. H. & J. M. JACYNO. (1983). The toxicology and pharmacology of diterpenoids alkaloids, in S. W. Pelletier (ed.), *Alkaloids, Chemical and Biological Perspectives*, 1: 153-210. John Wiley & Sons, Nova York.
- BENTZER, B., R. V. BOTHMER, L. ENGSTRAND, M. GUSTAFSSON & S. SNOGERUP. (1971). Some sources of error in the determination of arm ratios of chromosomes. *Bot. Not.* 124: 65-74.

- BENZING, L. (1970). Die sporentwicklung de blüte von *Delphinium* Tourn. (*Ranunculaceae*). Preslia (Praha) 42: 249-255.
- BLANCHÉ, C. (1990). *Delphinium* L. subgen. *Delphinium*: origin and evolutionary trends. Collect. Bot. (Barcelona) 19: 75-95.
- BLANCHÉ, C. (1991). Revisió biosistemàtica del gènere *Delphinium* L. a la Península Ibèrica i a les Illes Balears. Arx. Secc. Cièn. 98, Institut d'Estudis Catalans, Barcelona.
- BLANCHÉ, C. & A. M. ROMO. (eds.) (1990). Current research on the Tribe *Delphineae* Warming (*Ranunculaceae*). Collect. Bot. (Barcelona) 19.
- BLANCHÉ, C. & J. MOLERO. (1983). *Delphinium bolosii* sp. nova. Étude de sa position systématique dans la sér. *Fissa* B. Pawl. Candollea 38: 709-716.
- BLANCHÉ, C. & J. MOLERO. (1986). *Delphinium* L., in S. Castroviejo, M. Lafnz, G. López González, P. Montserrat, F. Muñoz Garmendia, J. Paiva & L. Villar (eds.), Flora Iberica. 1: 242-251.
- BLANCHÉ, C., C. BENEDÍ & J. VALLÈS. (1985). IOPB Chromosome number reports. Taxon 34: 349.
- BLANCHÉ, C., J. MOLERO & J. SIMON. (1987). Estudis taxonòmics en *Delphinium* i *Consolida* a la Península Ibèrica i a les Illes Balears: Fitodermologia. Butll. Inst. Cat. Hist. Nat. 54: 56-65.
- BLANCHÉ, C., J. MOLERO & J. SIMON. (1990). Cytotaxonomy of North African species of *Delphinium* L. sect. *Delphinium* (*Ranunculaceae*). Collect. Bot. (Barcelona) 18: 59-74.
- BLANCHÉ, C., J. MOLERO & L. GIRAU. (1988). Études biosystématiques sur les genre *Delphinium* en Méditerranée Occidentale: Anatomie du pétiole. Naturalia Monspel., Sér. Bot. 52: 125-134.
- BLAS, M. (1987). Introducció al coneixement dels insectes, in M. Blas (ed.), Història Natural dels Països Catalans. 10: 13-80. Enciclopèdia Catalana, Barcelona.
- BOCQUET, G., B. WIDLER & H. KIEFER. (1978). The messinian model. A new outlook for the floristics and systematics of the Mediterranean area. Candollea 38: 269-287.
- BOLÒS, O. DE, J. VIGO, R. M. MASALLES & J. M. NINOT. (1990). Flora manual dels Països Catalans. Pòrtic, Barcelona.
- BOLTEN, A. B., P. FEINSINGER & H. G. BAKER. (1979). On the calculation of sugar concentration in flower nectar. Oecologia 41: 301-304.
- BONET, A. (1991). Biologia floral d'una brolla calcícola de la serra de Collserola. Tesi de llicenciatura, Facultat de Biologia, Universitat de Barcelona, Barcelona (inèd.).
- BONNIER, G. (1879). Les Nectaires. Ann. Sci. Nat. Bot. 8: 1-212.
- BONNIER, G. E. M. & G. DE LAYENS. (1894). Flore complète portative de la France et de la Suisse (comprenant aussi toutes les Espèces de Belgique, d'Alsace et de Lorraine). Paris.

- BORROR, D., D. M. DELONG & C. A. TRIPLEHORN. (1981). An introduction to the study of insects. Saunders, Nova York.
- BOSCH, J. (1986). Insectos florícolas y polinización en un matorral de romero. Tesi de llicenciatura, Facultat de Biologia, Universitat de Barcelona, Barcelona (inèd.).
- BOSCH, J. (1987). L'estratègia biològica: l'activitat pol.linitzadora, in M. Blas (ed.), Història Natural dels Països Catalans. 10: 39-57. Enciclopèdia Catalana, Barcelona.
- BOYDE, A. (1978). Pros and cons of critical point drying and freeze drying fro SEM. Scanning Electron Microscopy 2: 303-314.
- BRADLEY, R. (1717). New improvements of planting and gardening, Londres.
- CADEVALL, J. & A. SALLEN. (1915). *Delphinium*, in Flora de Catalunya 1: 52-53. Institut d'Estudis Catalans, Barcelona.
- CAMERARIUS, R. J. (1694). De sexu plantarum epistola, M. Möbins (ed.), Ostwald Klassiken der Exacten wissenschaften 105. Wilhem Engelmann, Leipzig.
- CARPENTER, F. M. (1976). Geological history and the evolution of the insects. Proc. Int. Congr. Entomol. 15: 63-70.
- CHINERY, M. (1988). Guía de insectos de Europa. Omega, Barcelona.
- CHOWDHURI, P. K., P. H. DAVIS & M. HOSSAIN. (1958). Materials for a Flora of Turkey III: *Ranunculaceae*: I. Notes Roy. Bot. Gard. Edinburgh 22: 403-425.
- CLEMENTS, F. E. & F. L. LONG. (1923). Experimental pollination. An outline of ecology of flowers and insects. Carnegie Inst. Wash. Publ. 336, Washington, DC.
- COHEN, L. A. (1984). Critical point drying, principles and procedures, in J. A. Murphy & G. M. Roomas (eds.), Preparation of biological specimens for Scanning Electron Microscopy. : 95-136. Chicago.
- CONTANDRIOPOULOS, J. & M. A. CARDONA. (1984). Caractère original de la flore endémique des Baléares. Bot. Helv. 94: 101-132.
- COURTNEY, C., J. HILL & A. WESTERMAN. (1982). Pollen carried for long periods by butterflies. Oikos 38: 260-263.
- CREPET, W. L. (1983). The role of insect pollination in the evolution of the Angiosperms, in L. Real (ed.), Pollination Biology: 29-50. Academic Press, Londres.
- CROWE, L. K. (1964). The evolution of outbreeding in plants I. The angiosperms. Heredity 19: 435-457.

- CRUDEN, R. W. (1976). Intraspecific variation in pollen-ovule ratio and nectary secretion. *Ann. Missouri Bot. Gard.* 63: 277-289.
- CRUDEN, R. W. (1977). Pollen-ovule ratios: a conservative indicator of breeding systems in flowering plants. *Evolution* 31: 32-46.
- CRUDEN, R. W. & K. G. JENSEN. (1979) Viscin threads, pollination efficiency and low pollen-ovule ratios. *Amer. J. Bot.* 66: 875-879.
- CRUDEN, R. W. & S. MILLER-WARD. (1981). Pollen-ovule ratio, pollen size and the ratio of stigmatic area to the pollen bearing area of the pollinator: an hypothesis. *Evolution* 35: 964-974.
- DARWIN, C. (1859). *On the origin of species by means of natural selection, or preservation of favoured races in the struggle for life.* John Murray, Londres.
- DARWIN, C. (1862). *The various contrivances by which orchids are fertilised by insects.* John Murray, Londres.
- DARWIN, C. (1876). *The effects of cross- and self- fertilisation in the vegetable kingdom.* John Murray, Londres.
- DARWIN, C. (1877). *The different forms of flowers on plants of the same species.* John Murray, Londres.
- DELPINO, F. (1868). Ulteriori osservazione sulla dicogamia nel regno vegetale I - II. *Att. soc. ital. sci. nat. Milano:* 11-12.
- DEVESA, J. A., J. ARROYO & J. HERRERA. (1985). Contribución al conocimiento de la biología floral del género *Lavandula* L. *Anales Jard. Bot. Madrid* 42(1): 165-186.
- DOBBS, A. (1750). Concerning bees and their method of gathering wax and honey. *Phil. Trans. R. Soc. London* 46: 536-549.
- DOMÍNGUEZ, E. & P. E. GIBBS. (1975). Estudio experimental de la reproducción en las especies anuales europeas del género *Hippocrepis* L. *Lagascalía* 5(1): 35-46.
- EICKWORT, G. C. & H. S. GINSBERG. (1980). Foraging and mating behavior in *Apoidea*. *Ann. Rev. Entomol.* 25: 421-446.
- EPLING, C. & H. LEWIS. (1952). Increase in the adaptative range of the genus *Delphinium*. *Evolution* 6: 253-267.
- FAEGRI, K. & L. VAN DER PIJL. (1979). *The principles of pollination ecology.* 3a. ed., Pergamon Press, Oxford.
- FARRÀS, A. (1988). Les liliòpsides o angiospermes monocotiledònies, in R. Masalles, J. Carreras, A. Farràs, J.M. Ninot & J.M. Camarasa (eds.), *Història Natural dels Països Catalans.* 6: 317-371. Enciclopèdia Catalana, Barcelona.



- FEDOROV, A. (1974). Chromosome numbers of flowering plants. V. L. Komarov Botanical Institute, Academy of Science, Sant Petersburg.
- FRANKEL, R. & E. GALUN. (1977). Pollination Mechanisms, Reproduction and Plant Breeding. Spriger-Verlag, Berlín.
- FREE, J. B. (1970). The flower constancy of bumble bees. *J. Anim. Ecol.* 39: 395-402.
- FRYXELL, P. A. (1957). Mode of reproduction in higher plants. *Bot. Rev.* 23: 135-233.
- GAGE, M. A. (1953). The cytology, morphology, and systematic relationships of *Delphinium x Belladonna* Hort. ex. Bergm. *Ann. Missouri Bot. Gard.* 40: 113-183.
- GENTRY, A. H. (1974). Flowering phenology and diversity in tropical *Bignoniaceae*. *Biotropica* 6: 64-68.
- GOLDBLATT, P. (1981). Index to plant chromosome numbers for 1975-1978. *Monogr. Syst. Missouri Bot. Gard.*, 5.
- GOLDBLATT, P. (1983). Index to plant chromosome numbers for 1979-1981. *Monogr. Syst. Missouri Bot. Gard.*, 8.
- GOLDBLATT, P. (1988). Index to plant chromosome numbers for 1984-1985. *Monogr. Syst. Missouri Bot. Gard.*, 23.
- GOLDBLATT, P. (1990). Index to plant chromosome numbers for 1986-1987. *Monogr. Syst. Missouri Bot. Gard.*, 30.
- GÓMEZ BUSTILLO, M. R. & F. FERNÁNDEZ RUBIO. (1974). Mariposas de la Península Ibérica. Ropalóceros II. Servicio de Publicaciones del Ministerio de Agricultura, Madrid.
- GRANT, K. A. & V. GRANT. (1968). Hummingbirds and their flowers. Columbia Univ. Press, Nova York.
- GRANT, V. (1950). The flower constancy of bees. *Bot. Rev.* 16: 379-398.
- GRANT, V. & K. A. GRANT. (1965). Flower pollination in the *Phlox* family. Columbia Univ. Press, Nova York.
- GREGORY, W. C. (1941). Philogenetic and cytological studies in the *Ranunculaceae*. *Trans. Amer. Phil. New Ser.* 31: 43-520.
- GREW, N. (1682). Anatomy of plants. Rawlins, Londres.
- GUERRANT, E. O. (1982). Neotenic evolution of *Delphinium nudicaule* (*Ranunculaceae*): a hummingbird pollinated lakspur. *Evolution* 36: 699-712.



- GUITIÁN, J. & P. GUITIÁN. (1990). Fenología de la floración y fructificación en plantas de un espinal de Bierzo (León, noroeste de España). *Anales Jard. Bot. Madrid* 48(1): 53-61.
- GUSTAFSSON, A. (1946). Apomixis in higher plants. I. The mechanism of apomixis. *Lunds Univ. Arsskr.* 42: 1-67.
- GUSTAFSSON, A. (1947). Apomixis in higher plants. II. The causal aspect of apomixis. *Lunds Univ. Arsskr.* 43: 183-370.
- HARBORNE, J. B. (1982). *Introduction to ecological biochemistry*. Academic Press, Londres.
- HAWKINS, R. P. (1961). Observations on the pollination of red clover by bees. *Ann. Appl. Biol.* 49: 55-65.
- HEINRICH, B. (1975). Energetics of pollination. *Ann. Rev. Ecol. Syst.* 6: 139-170.
- HEINRICH, B. & P. H. RAVEN. (1972). Energetics and pollination ecology. *Science* 176: 597-602.
- HERRERA, C. M., J. HERRERA & X. ESPADALER. (1984). Nectar thievery by ants from southern spanish insect-pollinated flowers. *Insectes sociaux* 31(2): 142-154.
- HERRERA, J. (1987). Biología reproductiva de algunas especies del matorral de Doñana. *Anales Jard. Bot. Madrid* 44(2): 483-497.
- HESLOP-HARRISON, J. (1961). The experimental control of sexuality and inflorescence structure in *Zea mays*. *Proc. Linn. Soc. London* 172: 108-123.
- HESLOP-HARRISON, J., Y. HESLOP-HARRISON & J. BARBER. (1975). The stigma surface in incompatibility responses. *Proc. Roy. Soc. Ber. B.* 188: 287-297.
- HESLOP-HARRISON, Y. (1981). Stigma characteristics and angiosperm taxonomy. *Nord. J. Bot.* 1: 401-420.
- HILDEBRAND, F. H. G. (1867). *Die geschlechtsverteilung bei den pflanzen*. W. Engelmann, Leipzig.
- HOCQUETTE, M. (1922). Observations sur le nombre des chromosomes chez quelques Renonculacées. *Compt. rend. Séan. Soc. Biol.* 87: 1301-1302.
- HONG DE-YUAN. (1986). Biosystematic observation on 5 species of *Consolida* (*Ranunculaceae*). *Acta Bot. Sinica* 28(1): 1-10.
- INOUE, D. W. (1980). The terminology of floral larcery. *Ecology* 61: 1251-1253.
- INOUE, D. W. (1983). The ecology of nectar robbing, in B. Bentley & S. T. Elias (eds.), *The biology of nectaries*: 153-173. Columbia Univ. Press., Nova York.

- INOUE, D. W. & A. D. MCGUIRE. (1991). Effects of snowpack on timing and abundance of flowering in *Delphinium nelsonii* (*Ranunculaceae*): implications for climate change. *Amer. J. Bot.* 78(7): 997-1001.
- INOUE, D. W., W. A. CALDER & N. M. WASER. (1991). The effect of floral abundance on feeder censuses of hummingbirds populations. *The Condor* 93: 279-285.
- JAEGER, P. (1976). Les rapports mutuels entre fleurs et insectes, in P. P. Grasse (ed.), *Insectes*: 677-798. Masson, París.
- JAIN, H. K., K. N. VASUDEVAN & S. L. BASAK. (1963). Experimental production of a new karyotype in *Delphinium*. *Chromosoma* 14: 534-540.
- JANDER, R. (1976). Grooming and pollen manipulation in bees: The nature and evolution of movements involving the foreleg. *Physiol. Entomol.* 1: 179-184.
- JANKUN, A. (1968). Studies in *Delphinium grandiflorum* L. *Acta Biol. Cracov. Sér. Bot.* 11: 71-75.
- JANKUN, A. (1973). Further studies in the development of hybrid endosperm in representatives of the genus *Delphinium* L. *Acta Biol. Cracov. Sér. Bot.* 16: 215-225.
- JANKUN, A. (1975). Cyto-embriological studies in a diseased hybrid of *Delphinium* L. *Acta Biol. Cracov. Sér. Bot.* 18: 41-56.
- JANZEN, D. H. (1971). Euglossine bees as long distance of tropical plants. *Science* 171: 203-205.
- JORDANO, P. (1987). Patterns of mutualistic interactions in pollination and seed dispersal: Connectance, dependence assymetries and coevolution. *Amer. Naturalist* 129: 657-677.
- JORDANO, P. (1990). Biología de la reproducción de tres especies del género *Lonicera* (*Caprifoliaceae*) en la sierra de Cazorla. *Anales Jard. Bot. Madrid* 48(1): 31-52.
- KAWANO, S. (1965). Application of pectinase and cellulase in an orcein squash method. *Bot. Mag. Tokyo* 78: 36-42.
- KEENER, C. S. (1976). Studies in the *Ranunculaceae* of the southeastern United States. IV, genera with zigomorphic flowers. *Castanea* 41: 12-20.
- KEVAN, P. G. (1978). Floral coloration, its colorimetric analysis and significance in anthecology, in A. J. Richards (ed.), *The pollination flowers by insects*: 51-78. Academic Press, Londres.
- KEVAN, P. G. & H. G. BAKER. (1983). Insects as flower visitors and pollinators. *Ann. Rev. Entomol.* 28: 407-453.
- KEVAN, P. G. (1983). Floral colours through the insect eye: What they are and what they mean, in C. E. Jones & R. J. Little (eds.), *Handbook of Experimental Pollination Biology*: 5-30. Van Nostrand Reinhold Comp., Nova York.

- KNIGHT, T. A. (1799). Experiments on the fecundation of vegetables. Phil. Trans. R. Soc. London 89: 195-204.
- KNUTH, P. (1895-1905). Handbuch der blütenbiologie I-III, 2. Engelmann, Leipzig.
- KÖLREUTER, J. G. (1761). Vorläufige nachricht von einigen das geschlecht der pflanzen betreffenden versuchen und baobachtung. Leipzig.
- KURITA, M. (1957). Cytological studies in *Ranunculaceae*, III. The karyotypes of several species in *Delphinium*, *Lycocotnum* and *Aconitum*. Bot. Mag. Tokyo 68: 248-251.
- LAWRENCE, E. (1936). in Fedorov (ed.), Chromosome numbers of flowering plants. V. L. Komarov Botanical Institute, Academy of Science, Sant Petersburg.
- LAZRI, B. & E. M. BARROWS. (1984). Flower visiting and pollen transport by the imported cabbage butterfly in a highly disturbed urban habitat. Environ. Entomol. 13: 574-578.
- LANGLET, O. F. (1927). in Tischler, G. (1959). Chromosomenzahlen der gefässpflanzen.
- LEGRO, R. A. H. (1961). Species hybrids in *Delphinium*. Euphytica 10(1): 1-23.
- LEPPIK, E. E. (1977). Floral Evolution in Relation to Pollination Ecology. Today and Tomorrow's Print and Publ., Nova Delhi.
- LEVAN, A., K. FREDGA & A. A. SANDBERG. (1964). Nomenclature for centromeric position on chromosomes. Hereditas 52: 201-220.
- LEVIN, D. A. (1981). Dispersal versus gene flow in plants. Ann. Missouri Bot. Gard. 68: 233-253.
- LEVIN, D. A. & D. E. BERUBE (1971). *Phlox* and *Colias*: the efficiency of a pollinator system. Evolution 26: 242-250.
- LEWIS, H. & C. EPLING. (1959). *Delphinium gypsophilum*, a diploid species of hybrid origin. Evolution 13(4): 511-525.
- LEWIS, H., C. EPLING, G. A. L. MEHLQUIST & C. G. WYCKOFF. (1951). Chromosome number of californian *Delphiniums* and their geographical occurrence. Ann. Missouri Bot. Gard. 38: 101-117.
- LEWITSKY, G. A. (1931). The karyotype in systematics. Bull. Appl. Genet Plant Breed., 27: 187-240.
- LINNÉ, C. (1735). Systema Naturae. Leiden.
- LOKEN, A. (1981). Flower-visiting insects and their importance as pollinators. Bee World 62: 130-140.
- LÖVE, A. & D. LÖVE. (1975). Plant chromosomes. Cramer, Vaduz.
- LLOYD, D. G. & C. J. WEBB. (1986). The avoidance of interference between the presentation of pollen and stigmas in angiosperms I, Dicotamy. New Zealand J. Bot. 24: 135-162.

- MACIOR, L. W. (1975). The pollination ecology of *Delphinium tricorne* (*Ranunculaceae*). *Amer. J. Bot.* 62(10): 1009-1016.
- MACIOR, L. W. (1978). Pollination interactions in sympatric *Dicentra* species. *Amer. J. Bot.* 65(1): 57-62.
- MAIRE, R. (1964). *Delphinium*, in *Flore de l'Afrique du Nord*, 11: 49-85. Lechevalier, París.
- MALYUTIN, N. I. (1969). On the biological significance of the floral pigments. *Bot. Žurn. (Leningrad)* 54(7): 1050-1053.
- MALYUTIN, N. I. (1987). The system of the genus *Delphinium* (*Ranunculaceae*) based on the morphological features of seeds. *Bot. Žurn. (Leningrad)* 72(5): 683-693.
- MARGALEF, R. (1974). *Ecología*. Omega, Barcelona.
- MATEU, I. & J. R. NEBOT. (1990). Observaciones sobre el comportamiento reproductivo de *Ruscus aculeatus* L. Resúmenes, II Jornadas de Taxonomía Vegetal: 84. CSIC, Madrid.
- MEJÍAS, J. A. (1992). Reproductive biology in the Iberian taxa of genera *Sonchus* and *Aetheorhiza* (*Asteraceae: Lactucaceae*). *Fl. Medit.* 2: 15-32.
- MICHENER, C. D., M. L. WINSTON & R. JANDER. (1978). Pollen manipulation and related activities and structures in bees of the family *Apidae*. *Univ. Kans. Sci. Bull.* 51: 575-601.
- MOORE, D. M. (1976). *Plant cytogenetics*. Chapman & Hill, Londres.
- MOORE, D. M. (1982). *Flora Europaea. Check-list and Chromosome Index*. Cambridge University Press, Cambridge.
- MÜLLER, H. (1883). *The fertilisation of flowers*. McMillan & Co., Londres.
- NIETO, G. (1991). Breeding systems and related traits in several *Erysimum* (*Cruciferae*). *Can. J. Bot.* 69: 2515-2521.
- NYGREN, A. (1954). Apomixis in the angiosperms. *Bot. Rev.* 20: 577-649.
- OLIVA, M. (1990). *Estudios citogenéticos en el género Artemisia L.* Tesi de llicenciatura, Facultat de Farmàcia, Universitat de Barcelona, Barcelona (inèd.).
- ORNDUFF, R. (1969). Reproductive biology in relation to systematics. *Taxon* 18: 121-133.
- PESSON, P. & J. LOUVEAUX. (1984). *Pollinisation et productions végétales*. I.N.R.A., París.
- PELLETIER, S. W. & S. W. PAGE. (1986). Diterpenoid alkaloids. *Nat. Prod. Rep.* 1: 371-386.
- PELLMYR, O. (1984). The pollination ecology of *Actaea spicata* (*Ranunculaceae*). *Nord. J. Bot.* 4(4): 443-456.



- PELLMYR, O. (1986). Pollination ecology of two nectariferous *Cimifuga* sp. (*Ranunculaceae*) and the evolution of andromonoecy. *Nord. J. Bot.* 6(2): 129-138.
- PERCIVAL, M. S. (1961). Types of nectar in Angiosperms. *New Phytol.* 60: 235-281.
- PÉREZ-IÑIGO, C. (1982). Las familias y géneros de abejas en España. Claves para la identificación de la fauna española. nº 1. Universidad Complutense, Madrid.
- PIJL, L. VAN DER. (1961). Ecological aspects of flower evolution III. Zoophilus flower classes. *Evolution* 15: 44-59.
- PIJL, L. VAN DER. (1972). Principles of dispersal in Higher Plants. Springer Verlag, Berlín.
- PLEASANTS, J. H. (1980). Competitions for bumblebee pollinators in Rocky Mountains plant communities. *Ecology* 61: 1146-1159.
- PLEASANTS, J. M. & M. ZIMMERMAN. (1990). The effect of inflorescence size on pollinator visitation of *Delphinium nelsonii* and *Aconitum columbianum*. *Collect. Bot. (Barcelona)* 19: 21-39.
- POHL, F. (1937). Die Pollenkorngewichte einiger Pflanzen und ihre ökologische Bedeutung. *Beih. bot. Zentralbl.* 57: 112-172.
- PROCTOR, M. & P. YEO. (1973). The pollination of flowers. Collins, Glasgow.
- PROPACH, H. (1940). Einige chromosomenzahle von Delphinien. *Gartenbauwissenschaft* 14: 642-650.
- PRÛS-JONES, O. & S. A. CORBET. (1987). Bumblebees. Cambridge University Press, Cambridge.
- PYKE, G. H. (1978). Optimal foraging in bumblebees and coevolution with their plants. *Oecologia* 36: 281-293.
- PYKE, G. H. (1978). Optimal foraging in bumblebees movements patterns of bumblebees between inflorescences. *Theor. Pop. Biol.* 13: 72-98.
- PYKE, G. H. (1980). Optimal foraging in bumblebees: calculation of net rate of energy intake and optimal patch choice. *Theor. Pop. Biol.* 17(2): 232-246.
- QUEIRÓS, M. (1990). Notas cariológicas en algunas *Ranunculaceae* portuguesas. *Collect. Bot. (Barcelona)* 18: 45-57.
- RATHCKE, B. (1983). Competition and facilitation among plants for pollination, *in* L. Real (ed.), *Pollination Biology*: 305-330. Academic Press, Londres.
- RAVEN, P. H. (1979). A survey of reproductive biology in *Onagraceae*. *New Zealand J. Bot.* 17: 575-594.
- RICO, E., J. SÁNCHEZ & F. AMICH. (1981). Números cromosómicos de plantas occidentales 100 - 107. *Anales Jard. Bot. Madrid* 38: 265-268.



- RICHARDS, A. J. (1986). Plant breeding systems. George Allen & Unwin, Londres.
- ROBERTS, H. F. (1929). Plant hybridation before Mendel. Princetown Univ. Press, Nova Jersey.
- ROBERTS, R. B. & S. R. VALLESPÍR. (1978). Specialization of hairs bearing pollen and oil on the legs of bees. Ann. Entomol. Soc. Am. 71: 619-627.
- ROBERTSON, A. W. & D. G. LLOYD. (1991). Herkogamy, dichogamy and self-pollination in six species of *Myosotis* (*Boraginaceae*). Evol. Trends Pl. 5(1): 53-63.
- ROBERTSON, C. (1889). Flower and insects. I. Bot. Gaz. 14: 120-122.
- ROBERTSON, C. (1929). Flower and insects. List of visitors of 453 flowers. Carlinville, Illinois.
- RODRÍGUEZ, V. (1989). Insectos y plantas. Relaciones evolutivas. Sobre flora y vegetación de Galicia: 151-204. II Reunión del Grupo Botánico Gallego. Santiago de Compostela.
- ROMERO, C. (1986). A new method for estimating karyotype asimetría. Taxon 35(3): 526-530.
- RUTISHAUSER, A. (1967). Fortpflanzungsmodus und meiose apomiktischer blütenpflanzen. Protoplasmatologia. Springer, Berlín.
- SANCHÍS, E., J. B. PERIS & R. CURRÁS. (1992). Caracterización, fenología e interés apícola del romeral valenciano con pebrella (*Helianthemo-Thymetum piperellae*) en las provincias de Alicante y Valencia. Bot. Complutensis 17: 99-115.
- SANS, X. F. & A. BONET. (1993). Producción de frutos y semillas en *Diploaxis eruroides* (L.) DC. sometida a diferentes tratamientos de polinización. Collect. Bot. (Barcelona) 22: 49-54.
- SCHLISING, R. A. & R. A. TURPIN. (1971). Hummingbird dispersal of *Delphinium cardinale* pollen treated with radioactive iodine. Amer. J. Bot. 58: 401-406.
- SHINDO, K. & H. KAMEMOTO. (1963). Karyotype analysis of some sarcanthine orchids. Amer. J. Bot. 50: 201-220.
- SIMON, J. (1986). Revisió biosistemàtica del gènere *Consolida* S. F. Gray a la Península Ibèrica i Illes Balears. Tesi de llicenciatura, Facultat de Farmàcia, Universitat de Barcelona. Barcelona (inèd.).
- SOLBRIG, O. (1976). On the relative advantages of cross- and self-fertilization. Ann. Missouri Bot. Gard. 63: 262-276.
- SOUTHWICK, E. E., G. M. LOPER & S. E. SANDWICK. (1981). Nectar production, composition, energetics and pollinator attractiveness in spring flowers of western NY. Amer. J. Bot. 68 (7): 994-1002.
- SPRENGEL, C. K. (1793). Das entdecckte geheimniss der natur in bau und in der befruchtung der blumen. Friedrich Vieweg, Berlín.

- STACE, C. A. (1989). *Plant taxonomy and biosystematics*. (2a.ed.) Edward Arnold, Londres.
- STEBBINS, G. L. (1941). Apomixis in the angiosperms. *Bot. Rev.* 7: 507-542.
- STEBBINS, G. L. (1957). Self fertilization and population variability in the higher plants. *Amer. Naturalist* 91: 337-354.
- STEBBINS, G. L. (1971). *Chromosomal evolution in higher plants*. Edward Arnold, Londres.
- TAMURA, M. (1964). Morphology, ecology and phylogeny of *Ranunculaceae*. II. *Sci. Rep. Univ. Osaka* 13: 141-156.
- TAMURA, M. (1967). Morphology, ecology and phylogeny of the *Ranunculaceae*, VI. *Sci. Rep. Univ. Osaka* 16: 13-35.
- TAMURA, M. & Y. MIZUMOTO. (1972). Stages of embryo development in ripe seeds or achenes of the *Ranunculaceae*. *J. Jap. Bot.* 47(8): 225-237.
- THOMSON, G. M. (1881). On the fertilisation of New Zealand flowering plants. *Trans. & Proc. New Zealand Inst.* 13: 241-291.
- TISCHLER, G. (1927). Pflanzliche chromosomenzahlen. *Tabulae Biol.* 4: 1-83.
- TJEBBES, K. (1928). The chromosome numbers of flowering plants. *Hereditas* 10(3): 328-332.
- TJIO, J. H. & A. LEVAN. (1950). The use of oxyquinoleine in chromosome analysis. *Anal. Est. Exp. Aula Dei* 2: 21-64.
- TRIFONOVA, V. I. (1990). Comparative biomorphological study of the taxonomy and phylogeny of the genera *Consolida* (DC.) S. F. Gray and *Aconitella* Spach. *Collect. Bot. (Barcelona)* 19: 97-110.
- TRIFONOVA, V. I. (1986). Characteristics of seed germination in some members of the genera *Consolida* and *Aconitella* (*Ranunculaceae*). *Bot. Žurn. (Leningrad)* 71(3): 375-378.
- TUTIN, T. G., V. H. HEYWOOD, N. A. BURGESS, D. H. VALENTINE, S. M. WALTERS & D. A. WEBB. (eds.) (1964). *Delphineae*, in *Flora Europaea*, volum 1: 211-217. Cambridge University Press, Cambridge.
- VALDÉS, B. & J. A. MEJÍAS. (1988). Contribución al estudio de la biología de la reproducción de las especies españolas de *Muscari* (*Liliaceae*). *Lagascalia* 15(1): 95-103.
- VALLÈS, J. (1988). Dades sobre la biologia d'espècies ibero-baleàriques d'*Artemisia* L. *Collect. Bot. (Barcelona)* 17(2): 237-245.
- VERLAQUE, R., A. ABOUCAYA, M. A. CARDONA & J. CONTANDRIOPOULOS (1991). Some examples of insular speciation in the western Mediterranean. *Bot. Chron.* 10: 137-153.

- WADDINGTON, K. D. (1981). Factors influencing pollen flow in bumblebee pollinated *Delphinium virescens*. *Oikos* 37: 153-159.
- WADDINGTON, K. D. (1983). Pollen flow and optimal outcrossing distance. *Amer. Naturalist* 122: 147-151.
- WARNOCK, M. J. (1981). Biosystematics of the *Delphinium carolinianum* Complex (*Ranunculaceae*). *Syst. Bot.* 6(1): 38-54.
- WARNOCK, M. J. (1987). Color variation in Texas populations of *Delphinium carolinianum* (*Ranunculaceae*). Abstracts of General Lectures, Symposium papers and posters presented on the XVI International Botanical Congress. Ed. B. Zimer & W. Greuter. 437. Berlín.
- WARNOCK, M. J. (1990). Taxonomic and ecological review of California *Delphinium*. *Collect. Bot.* (Barcelona) 19: 45-74.
- WASER, N. M. (1987). Spatial genetic heterogeneity in a population of the montane perennial plant *Delphinium nelsonii*. *Heredity* 58: 249-256.
- WASER, N. M. (1988). Comparative pollen and dye transfer by pollinators of *Delphinium nelsonii*. *Funct. Ecol.* 2: 41-48.
- WASER, N. M. & M. V. PRICE. (1981). Pollination choice and stabilizing selection for flower color in *Delphinium nelsonii*. *Evolution* 35: 376-390.
- WASER, N. M. & M. V. PRICE. (1983). Optimal and actual outcrossing in plants, and nature of plant-pollinator interactions, in C. E. Jones & R. J. Little (eds.), *Handbook of Experimental Pollination Biology*: 341-359. Van Nostrand Reinhold Comp., Nova York.
- WASER, N. M. & M. V. PRICE. (1985). Reciprocal transplant experiments with *Delphinium nelsonii* (*Ranunculaceae*): evidence for local adaptation. *Amer. J. Bot.* 72(11): 1726-1732.
- WASER, N. M. & M. V. PRICE. (1990). Pollination efficiency and effectiveness of bumble bees and hummingbirds visiting *Delphinium nelsonii*. *Collect. Bot.* (Barcelona) 19: 9-20.
- WASER, N. M. & M. V. PRICE. (1991). Outcrossing distance effects in *Delphinium nelsonii*: pollen loads, pollen tubes, and seed set. *Ecology* 72(1): 171-179.
- WASER, N. M., M. V. PRICE, A. M. MONTALVO & R. N. GRAY. (1987). Female mate choice in a perennial herbaceous wildflower, *Delphinium nelsonii*. *Evol. Trends Pl.* 1(1): 29-33.
- WEBB, C. J. (1984). Constraints on the evolution of plant breeding systems and their relevance to systematics, in W. F. Grant (ed.), *Plant Biosystematics*: 249-270. Academic Press, Toronto.
- WICKLUND, E., T. ERICKSSON & H. LUNDBERG. (1979). The wood white butterfly, *Leptidea sinapis*, and its nectar plants: a case of mutualism or parasitism?. *Oikos* 33: 358-362.

WICKLUND, E., T. ERICKSSON & H. LUNDBERG. (1982). On the pollination efficiency of butterflies: a reply to Courtney *et al.* *Oikos* 38: 263.

WILDE, E. (1931). Studies of the genus *Delphinium*. Cornell Exp. Sta. Bull.: 519.

WILLIAMS, N. H. (1983). Floral fragrances as cues in animal behavior, in C. E. Jones & R. J. Little (eds.), *Handbook of Experimental Pollination Biology*: 50-72. Van Nostrand Reinhold Comp., Nova York.

WYATT, R. (1983). Pollinator-plant interactions and the evolution of breeding systems, in L. Real (ed.), *Pollination Biology*: 51-96. Academic Press, Londres.

ZHUKOVA, P. G. (1967). Karyology of some plants, cultivated in the Artic-Alpine Botanical Garden, in N. A. Avrovin (ed.), *Plantarum in Zonam Polarem Transportatio II*: 139-149. Leningrad.

ZIMMERMAN, M. (1983). Plant reproduction and optimal foraging: experimental nectar manipulations in *Delphinium nelsonii*. *Oikos* 41: 57-63.

ZIMMERMAN, M. & J. M. PLEASANTS. (1982). Competition among pollinators: quantification of available resources. *Oikos* 38: 381-383.