

## CONTRIBUCION A LA BIOLOGIA FLORAL DE WOLFFIELLA LINGULATA (LEMNACEAE)

Por ULRICH ESKUCHE y LUCIANO ROMERO FONSECA<sup>1</sup>

### SUMMARY

*Wolffiella lingulata* was found flowering near Corrientes, Argentina, during the vegetation periods of the years 1978-1980. Relatively high water temperature as a consequence of drought, elevated air temperatures, and many ponds, small lakes, etc. going shallow, during these years probably stimulated the flowering of *W. lingulata* and that of other duckweeds (*Lemna minuscula*, *L. aequinoctialis*, *Spirodela intermedia*, *Wolffia columbiana*).

In the laboratory, the flowering of the pistil extended over 3 to 4 days, but sometimes it lasted only 1 - 2, sometimes up to 6 days. The male flower, consisting of one stamen, persisted for 5 days at least. Examination of the stigmatic liquid by thin-layer and by paper chromatography proved sucrose as its only sugar component. Also *Lemna aequinoctialis* was observed exuding a small globe of stigmatic liquid.

The author's findings suggest pollination by insects that was already supposed to be the mechanism of pollination in *Lemnaceae* because of its spinulose pollen grains. Furthermore, they seem to support the traditional concept of close systematic affinity between *Lemnaceae* and *Araceae* by stating proterogyny, entomogamy and secretion of sweet stigmatic liquid in both families.

### INTRODUCCION

Durante el relevamiento fitosociológico de la vegetación en los alrededores de la confluencia de los ríos Paraná y Paraguay, se encontró *Wolffiella lingulata* (Hegelm.) Hegelm. en flor. A pesar de la abundancia de esta especie en el nordeste de la República Argentina y de su distribución amplia sobre las regiones tropicales y subtropicales de América, su floración fue observada, hasta ahora, solamente en California por Ma-

<sup>1</sup> Profesores Titulares de Ecología Vegetal y de Química Orgánica, respectivamente, en la Facultad de Ciencias Exactas y Naturales y Agrimensura, Universidad Nacional del Nordeste, Corrientes.

TABLA 1. Comunidades de plantas acuáticas con *Wolffiella lingulata* en los alrededores de Corrientes

N° del censo	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18
Número de campo	25	25	27	27	25	27	27	25	25	25	25	25	27	24	25	27	24	25
Localidad	02	03	28	02	58	71	76	55	53	49	99	98	01	84	08	10	98	97
Mes	MR	MR	MR	E	MR	MR	E	LC	LC	LP	LL	LL	P	MT	MT	MT	E	E
Año	X	X	V	III	VII	XI	XI	VII	VII	V	IX	IX	III	VII	X	V	IX	IX
Profundidad del agua, cm	78	78	80	80	79	80	80	79	79	79	79	79	80	78	78	80	78	79
Cobertura, %	-	-	30	30	25	40	20	30	30	-	20	fr	5	20	5	>40	40	40
Especies	100	100	100	.	100	100	.	100	100	100	40	.	65	100	100	100	100	100
	10	10	9	5	10	9	5	9	9	7	10	8	7	6	5	10	10	10
<i>Salvinia minima</i> Baker	4.5	5.5	3.2	2.2	+2	.	.	.	.	.	1.1	v	.	.	.	1.2	.	.
<i>Azolla caroliniana</i> Willdenow	3.1	1.1	.	+	5.5	3.1	4.5	5.5	5.5	.	+	.	1.1	.	.	.	+2	+
<i>Salvinia auriculata</i> Aublet	.	.	.	.	.	.	.	1.2	1.2	v	2.1	v	.	.	.	.	.	.
<i>Salvinia herzogii</i> De la Sota	.	.	.	.	.	.	.	+2	+2	v	.	.	.	.	.	+2	.	.
<i>Lemna aequinoctialis</i> Welwitsch	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	4.5	.	.	.	.	.
<i>Riccia cf. stenophylla</i> Spruce	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	r	.	.	.	.	.
<i>Spirodela intermedia</i> W.Koch	.	1.1	r	.	+	3.1	.	.	.	.	.	.	.	5.5	5.5	2.2	.	.
<i>Pistia stratiotes</i> L.	.	.	.	.	.	.	.	.	r°	.	.	.	.	2.1°	f	3.4	5.5	4.4
<i>Scirpus cubensis</i> Pöppig et Kunth	.	.	.	.	.	.	.	.	.	v	.	.	.	.	.	.	1.1	2.1
<i>Enhydra anagallis</i> Gardner	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	1.2	2.1
<i>Habenaria aranifera</i> Lindley	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	+	1.3
<i>Wolffiella lingulata</i> (Hegelm.) Hegelmaier	2.1.	2.1	3.1	3.1	2.1	2.1	2.1	2.1	2.1	v	+	v	r	1.1	r	+	1.1	2.1
<i>Lemna minuscula</i> Herter	+	+	r	.	1.1	r	1.1	1.1	1.1	v	2.1	v	1.1	.	1.1	2.1	.	1.1
<i>Hydromystria laevigata</i> (Willd.) A.T. Hunziker	+	+	+2	.	1.2	1.2	.	+2	1.2	v	1.2	v	.	1.1	.	2.1	2.1	3.1
<i>Wolffia columbiana</i> Karsten	+	1.1	2.1	1.1	1.1	r	.	.	.	.	.	.	r	2.1	1.1	1.1	.	.
<i>Wolffia brasiliensis</i> Weddell	1.1	1.1	+	.	1.1	.	.	.	.	.	.	v	r	.	.	.	.	.
<i>Ricciocarpus natans</i> (L.) Corda	2.1	1.1	2.1	.	1.1	.	.	2.1	+	.	1.1	v	.	.	.	2.1	.	.
<i>Lemna valdiviana</i> Philippi	1.1	2.1	2.1	2.1	2.1	3.1	1.1	.	.	.	.	.	.	1.1	.	.	+	.
<i>Utricularia obtusa</i> Swartz	.	.	.	.	.	v	+2	+	+	.	2.1	v	.	.	.	.	2.1	2.1
<i>Hydrocotyle ranunculoides</i> L.	+	.	.	.	.	.	.	.	.	v	2.1	.	.	.	.	.	.	2.3
<i>Eichhornia crassipes</i> (Mart.) Solms-Laubach	.	.	.	.	.	.	.	+2	.	.	+	.	.	.	.	.	+3	.
<i>Ceratopteris pteridoides</i> (Hook.) Hieronymus	.	.	.	.	.	+2	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
<i>Phyllanthus fluitans</i> Benthann	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	+2	.	.

son (1938). Tres años antes, Giardelli (1935) había observado la floración de *Wolffiella oblonga* (Phil.) Hegelm. en la Provincia de Buenos Aires y pudo describir por primera vez los órganos florales de una *Wolffiella*, género cuyas especies (*W. gladiata*, *W. lingulata*, *W. oblonga*, *W. denticulata*) hasta entonces solamente se conocían en estado vegetativo.

Morfología y anatomía de los órganos florales de *W. lingulata* fueron descritas e ilustradas por Mason (*op. cit.*). Por esto limitamos nuestra contribución a la comunicación de observaciones ecológicas y fenológicas, acompañadas por los esbozos de algunas frondes florecidas (Fig. 1). El primero de los autores, (Eskuche), se hace responsable de las tareas botánicas; el segundo (Romero Fonseca) de las químicas.

El trabajo se encuadra en el plan de investigación "Relevamiento fitosociológico de la vegetación alrededor de la confluencia de los ríos Paraná y Paraguay", subsidiado por la Subsecretaría de Ciencia y Tecnología de la Nación.

#### SOCIOLOGIA Y HABITAT

En nuestra área de estudios, *W. lingulata* vive junto a otras *Lemnaceae*, helechos acuáticos y algunas otras plantas en comunidades vegetales que forman una capa vegetal delgada sobre la superficie de charcos, lagunas, madrejones, excavaciones, etc. Este "Manto de Lentejas y Helechos del Agua" a menudo se halla en superposición con otras formaciones vegetales, por ejemplo con el Camalotal de *Eichhornia crassipes*, con cañaverales de *Typha dominguensis*, de *Cyperus giganteus* o *Scirpus californicus*, y también con el "Manto de *Pistia stratiotes* y *Scirpus cubensis*". Su composición florística, se demuestra mediante censos reunidos en la Tabla I.

Las proporciones cuantitativas entre las especies del manto varían de sitio a sitio. Hasta en el mismo sitio se observa una variación notable a lo largo del año y, más aún, durante varios años debido al diferente dinamismo de las especies y a los cambios de profundidad y temperatura del agua. También el arrastre por crecidas produce cambios en la composición y/o densidad del manto y, en consecuencia, en la proporción que corresponde a *W. lingulata*.

Para la floración de *W. lingulata* y la de otras *Lemnaceae* observadas en flor (*Lemna minuscula*<sup>2</sup>, *L. aequinoctialis*, *Spirodela intermedia*, *Wolffia columbiana*) el régimen térmico del agua parece ser de importancia particular. Hasta ahora no se efectuaron mediciones al respecto, pero llama la atención que *W. lingulata* floreciera con más abundancia durante los veranos secos y cálidos de los años 1978 a 1980 que en los años siguientes con lluvias más copiosas y temperaturas menos elevadas.

La importancia de la temperatura del agua para la floración de la planta se deduce también de la observación ya que se encontraron los ejemplares florecidos con más frecuencia y abundancia en los sitios con escasa profundidad del agua (censos 1 y 2) y en el Manto de *Pistia stratiotes* y *Scirpus cubensis* (censo 18). Aquí, *W. lingulata* y otros elementos del Manto de Lentejas y Helechos del Agua proliferan entre las rosetas de *Pistia*, es decir en una capa delgada de agua separada del fondo por las raíces y partes submersas del vástago de *Pistia* y demás integrantes de esta comunidad. Esta separación significa menor o mayor aislación térmica por reducción de convección y turbulencia, causando temperaturas diurnas más altas cerca de la superficie, como se puede comprobar fácilmente al sumergir la mano.

#### FENOLOGIA

En 1979, año de sequía, los primeros ejemplares de *W. lingulata* en flor se encontraron en septiembre, los últimos en mayo del año siguiente (Tabla 2). Trasladamos, ya en 1978, algunos ejemplares de *W. lingulata* al laboratorio y pudimos observar su proteroginia, rasgo común de las *Lemnaceae*, constatada ya por Giardelli (1935) en *Wolffia oblonga*, en *W. lingulata* por Mason (1938), quien además observó e ilustró la gota esférica que se forma sobre el estigma del pistilo (Fig. 1).

En marzo de 1980 aislamos frondes próximas a florecer o ya en floración incipiente para observar las diferentes fases florales con más precisión. De cuatro muestras de 52, 11, 30 y 16 individuos respectivamente, se anotó diariamente por la mañana el número de individuos encontrándose en cada una de las siguientes fases de floración:

<sup>2</sup> Nomenclatura de las *Lemnaceae* según Landolt (1981) *Lemna minuscula* Herter = *Lemna minima* Phil.; *Wolffia brasiliensis* Weddell = *Wolffia papulifera* Thompson.

- “prefloral”, plantas con el estigma aún dentro de la fronde;  
 “floral ♀ incipiente”, estigma emerso y con gota pequeña;  
 “floral ♀ máxima”, estigma con gota grande;  
 “postfloral ♀”, gota estigmática desapareciendo;  
 “floral ♂”, estambre emerso y con la antera ± abierta.

TABLA 2. *Floración de Lemnaceae en los alrededores de Corrientes*

Fecha	Lemna minusc.	Lemna aequin.	Spirod. intern.	Wolffia columb.	Wolff. lingul.	Observac. *
15. 5.75	x					Hb 02126
22.10.78	x				x	2502, 2503
27.10.78					x	2508
6. 9.79					x	2597
12. 9.79					x	2598
10.10.79					x	muestra
5. 3.80	x	x			x	2701, 2702
10. 3.80		x			x	muestra
17. 3.80				x		muestra
5. 5.80			x			2710
25. 5.80					x	2728
11.11.80			x		x	2771
24.11.80					x	2776

\* Números de censo: “Hb”, número de herbario; “muestra”, recolección de muestras para observaciones fenológicas y análisis del líquido estigmático.

De las cuatro muestras observadas, una sufrió los percances de una confusión, y sus datos no pueden ser utilizados en comparación con los demás. El examen de las otras muestras arrojó los siguientes resultados: La duración de las fases floral ♀ incipiente, floral ♀ máxima y postfloral ♀ fue notablemente desigual, particularmente entre las muestras observadas entre el 12 y 17 de marzo (A y B) y la del 17 al 20 del mismo mes (C). Pueden haber incidido en ello distintas condiciones de luz y temperatura.

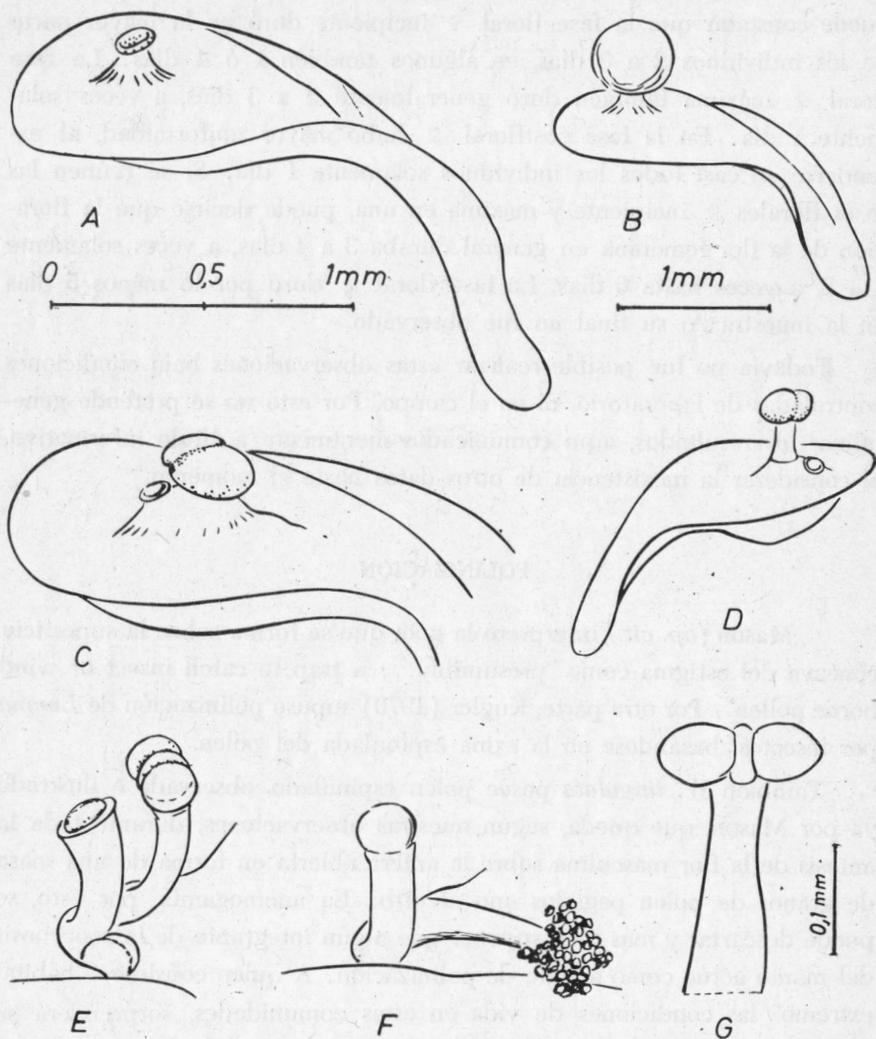


FIG. 1. — Frondes florecidas de *Wolffia lingulata* y órganos florales de *Lemna aequinoctialis*. *Wolffia lingulata*. A: fronde en fase floral ♀ sin gota estigmática; B: fase floral ♀ máxima, con gota estigmática grande; C: fase floral ♀ terminada, estambre en desarrollo; D: fase floral ♂ poco antes de la dehiscencia de la antera. *Lemna aequinoctialis*. E: fase floral ♀ incipiente, gota estigmática en formación; F: fase floral ♀ máxima, gota estigmática grande; G: estambre.

Al resumir los resultados demostrados en el diagrama de Fig. 2, se puede constatar que la fase floral ♀ incipiente duró en la mayor parte de los individuos 2 a 3 días, en algunos también 1 ó 4 días. La fase floral ♀ máxima también duró generalmente 2 a 3 días, a veces solamente 1 día. En la fase postfloral ♀ hubo mayor uniformidad, al extenderse en casi todos los individuos solamente 1 día. Si se reúnen las fases florales ♀ incipiente y máxima en una, puede decirse que la floración de la flor femenina en general duraba 3 a 4 días, a veces solamente 1 a 2, a veces hasta 6 días. La fase floral ♂ duró por lo menos 5 días en la muestra A; su final no fue observado.

Todavía no fue posible realizar estas observaciones bajo condiciones controladas de laboratorio, ni en el campo. Por esto no se pretende generalizar los resultados, aquí comunicados meramente a título informativo, al considerar la inexistencia de otros datos hasta el momento.

#### POLINIZACION

Mason (*op. cit.*) interpretó la gota que se forma sobre la superficie cóncava del estigma como "presumably... a trap to catch insect or wind borne pollen". Por otra parte, Kugler (1970) supuso polinización de *Lemna* por insectos, basándose en la exina espinulada del polen.

También *W. lingulata* posee polen espinulado, observado e ilustrado ya por Mason, que queda, según nuestras observaciones, durante toda la anthesis de la flor masculina sobre la antera abierta en forma de una masa de granos de polen pegados uno al otro. La anemogamia, por esto, se puede descartar y más bien suponer que algún integrante de la zoocenosis del manto actúe como agente de polinización. A quien considere "hábitat extremo" las condiciones de vida en estas comunidades, sorprenderá su riqueza en especies e individuos de animales que pueblan la parte emersa del manto. Entre ellos se observaron arañas y ácaros, una especie de saltamonte, los cocones e imagos de un lepidóptero, columnas de hormigas transportando trozos de hojas hacia la tierra firme. Pero, hasta el momento, no fue posible comprobar la zoidiogamia por observación directa y mucho menos descubrir al supuesto agente. El traslado de muestras

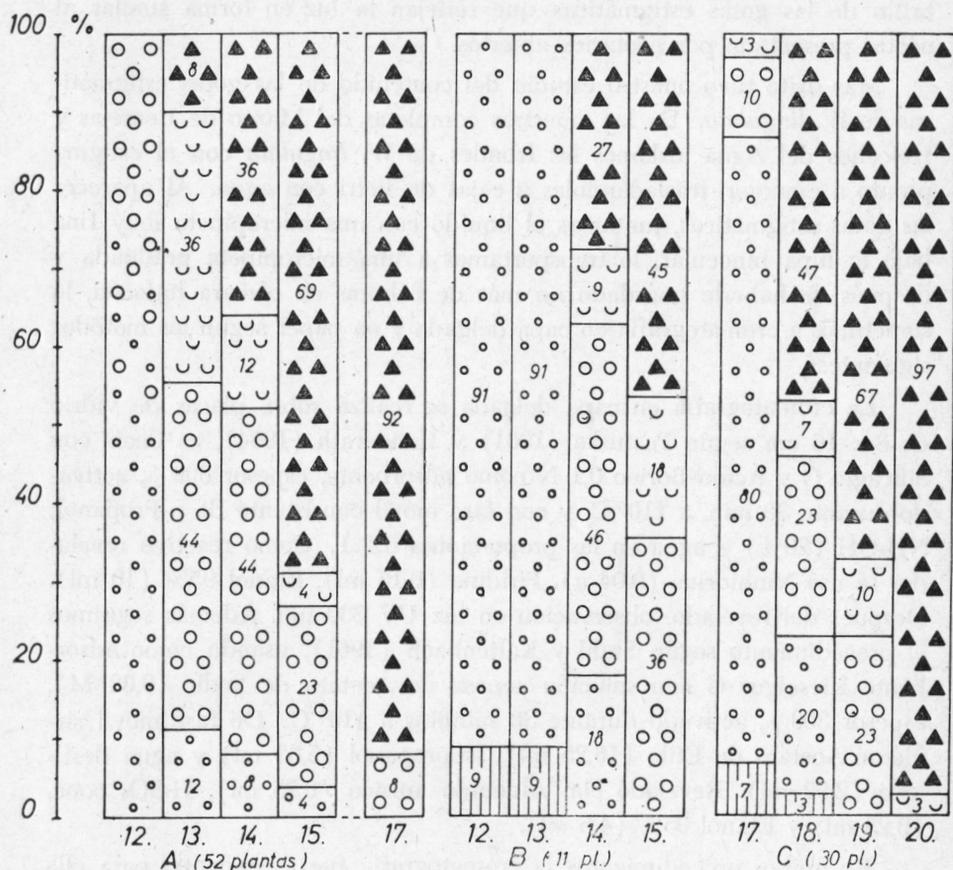


FIG. 2. — Fenología floral de *Wolffliella lingulata* observada en el laboratorio en 3 muestras, 12-17 y 17-20 de marzo de 1980. Signos: rayado vertical = fase prefloral; círculos pequeños = fase floral ♀ incipiente; círculos grandes = fase floral ♀ máxima; semicírculos = fase postfloral ♀; triángulos = fase floral ♂.

completas del manto al laboratorio y su observación bajo la lupa binocular no dieron resultado positivo. Existe la posibilidad que el agente o los agentes de polinización no sean residentes del manto, sino que lo visiten procedentes de otras formaciones vegetales en busca de polen y néctar. Pequeños insectos voladores, por ejemplo, moscas, podrían ser atraídos

por la señal óptica del polen blanco sobre las anteras abiertas, y por el brillo de las gotas estigmáticas que reflejan la luz en forma similar al néctar presentado por nectarios abiertos.

Más éxito tuvo nuestro estudio del contenido de las gotas estigmáticas de *W. lingulata*. De las muestras completas del Manto de Lentejas y Helechos del Agua aislamos las frondes de *W. lingulata* con el estigma pronto a emerger, trasladándolas a cajas de Petri con agua. Al aparecer las gotas estigmáticas, juntamos el líquido con una micropipeta muy fina bajo la lupa binocular, lo transportamos a una micropipeta graduada y después de haberlo guardado no más de 2 horas en cámara húmeda, lo sometimos a cromatografía en capa delgada y en papel según los métodos siguientes:

La cromatografía en capa delgada se realizó sobre placas de vidrio de 8 x 16 cm según Pastuska (1961) y Randerath (1964), es decir con Silicagel G y Acido Bórico 0,1 N como adsorbente, espesor 300  $\mu$ , activado durante 30 min. a 110° C, y con fase móvil consistente de n-Propanol, NH<sub>4</sub>OH (20%) y agua en las proporciones 6:2:1. Como reactivo revelador se usó Ninhidrina (0,04 g), Piridina (0,15 ml), Etanol 95% (10 ml). Después del revelado, observación en luz UV 330 nm. Además seguimos el procedimiento según Stahl y Kaltenbach (1961), usando como adsorbente Kieselgur G con solución acuosa de Acetato de Sodio (0,02 M), espesor 300  $\mu$ , activado durante 30 minutos a 110° C. De fase móvil sirvieron Acetato de Etilo (16,25 ml), Isopropanol (5,83 ml) y agua destilada (2,92 ml). Revelado con Aldehído anísico (0,25 ml), H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> conc. (0,25 ml) y Etanol 95% (4,5 ml).

En ambos procedimientos la cromatografía fue ascendente; para ella se aplicaron 10  $\mu$ l de líquido estigmático a 15 mm del borde de la placa, a la misma altura con patrones de D (+) Glucosa, D (-) Fructosa, Sacarosa, L (-) Sorbosa, D (-) Ribosa y L (+) Ramnosa.

La cromatografía sobre papel fue realizada según el método de Trevelyan, Procter & Harrison (1950) y para ello se usó papel Whatman N° 4 con corrida descendente durante 14 horas bajo 24°C para 20  $\mu$ l de líquido estigmático.

Los análisis según los tres métodos arrojaron el mismo resultado, indicando la presencia de sacarosa, sin evidencia de otros azúcares, en las gotas estigmáticas de *W. lingulata*.

## DISCUSION

El hallazgo de azúcar en el líquido estigmático de *Wolffiella lingulata* confirma la suposición de zoidiogamia, probablemente en forma de entomogamia, para la cual se reconoció un primer indicio en el polen espinulado. La especie comparte, por lo demás, este carácter con la mayoría de las *Lemnaceae*, particularmente con las especies de los géneros *Spirodela* y *Lemna* (subfam. *Lemnoideae*), mientras que las *Wolffioideae* por lo menos *Wolffia columbiana* y *Wolffiella oblonga* poseen polen con superficie granulosa (Giardelli 1968). Podría ser que también la secreción de líquido estigmático como rasgo de zoidiogamia, observada hasta ahora solamente en *Lemna aequinoctialis* y *Wolffiella lingulata*, sea más difundida entre los representantes de esta familia.

La observación de líquido estigmático en *Lemnaceae* quizás abra una perspectiva interesante hacia el problema de afinidad y origen de esta familia, considerada desde Engler (1876) por la mayoría de los botánicos, un derivado filogenético de las *Araceae* o el resultado de evolución paralela a las *Araceae* a partir de una cepa común (Engler, 1920). Por otra parte defendió Lawalrée (1945) el concepto de Eichler (1875) y otros autores más antiguos, ubicando las *Lemnaceae* en las *Helobiae-Potamogetonineae*, próximas a las *Najadaceae*.

La comprobación de entomogamia en *Lemnaceae* no apoya la opinión de Lawalrée, al tomar en cuenta la hiphidrogamia de las *Najadaceae*, la que junto a la autogamia se presenta entre las *Potamogetonineae* como el tipo de polinización más evolucionado (Eckardt 1964). Nuestros resultados parecen presentar un modesto argumento más en favor de la afinidad entre *Lemnaceae* y *Araceae*, dado que para las dos familias ahora se pueden constatar proteroginia, entomogamia y secreción de líquido estigmático dulce.

Percival (1961) demostró la predominancia absoluta de sacarosa en el néctar de *Ranales*, *Berberidales* y *Rhoadales* (*Fumariaceae*) y señaló la tendencia hacia néctar de tres azúcares (sacarosa, fructosa, glucosa) en los órdenes superiores de las *Herbaceae* según el sistema de Hutchinson (1959). Podría ser, que la presencia exclusiva de sacarosa en el líquido estigmático de *Wolffiella lingulata* tenga cierta importancia, cuando se

disponga de más datos sobre la composición de néctar y líquido estigmático de *Monocotyledoneae*, entre ellas de otras *Lemnaceae*, de *Araceae* y de *Helobiae* entomógamas.

#### AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen al Dr. Sergio Maidana del Laboratorio de Fisiología Bacteriana en la Facultad de Ciencias Veterinarias, U. N. N. E. su valiosa colaboración en lo referente a cromatografía sobre papel.

Asimismo, a la Dra. L. Zulema Ahumada, la lectura crítica del manuscrito.

#### BIBLIOGRAFIA

- ECKARDT, T. H. 1964. *Helobiae (Alismatales)*. En: H. Melchior (Hrsg.), A. Engler's *Syllabus der Pflanzenfamilien* 12. Aufl. II: 499-512. Berlin-Nikolassee.
- EICHLER, A. W. 1875. *Blüthendiagramme* I. Leipzig.
- ENGLER, A. 1876. Vergleichende Untersuchungen über die morphologischen Verhältnisse der *Araceae*. *Nova Acta Acad. Leop. Carol. nat. cur.* 29, 2.
- 1920. *Araceae*. Pars generalis et index familiae generalis. En: A. Engler. *Das Pflanzenreich* IV. 23 A. H. 74. Leipzig.
- GIARDELLI, M. L. 1935. Las flores de *Wolffiella oblonga*. *Revista Argent. Agron.* 2: 17-20. Buenos Aires.
- 1968. *Lemnaceae*. En: A. L. Cabrera (Editor). *Flora de la Provincia de Buenos Aires* 1: 428-447. Buenos Aires.
- HUTCHINSON, J. 1959. *The families of Flowering Plants*. 2 ed. Oxford.
- KUGLER, H. 1970. *Blütenökologie* 2. Aufl. Stuttgart.
- LANDOLT, E. 1981. Distribution of the family *Lemnaceae* in North Carolina. *Veröff. Geobot. Inst. ETH, Stiftung. Rübel*, Zürich, 77: 112-148. Zürich.
- LAWALRÉE, A. 1945. La position systématique des *Lemnaceae* et leur classification. *Bull. Soc. Roy. Bot. Belgique* 77: 27-38.
- MASON, H. L. 1938. The flowering of *Wolffiella lingulata* (Hegelm.) Hegelm. *Madroño* 4: 241-251.
- PASTUSKA, G. 1961. Untersuchungen über die qualitative und quantitative Bestimmung der Zucker mit Hilfe der Kieselgelschicht-Chromatographie. *Z. f. analyt. Chemie* 179: 427-429. Wiesbaden.
- PERCIVAL, M. S. 1961. Types of nectar in Angiosperms. *New Phytol.* 60: 235-281.
- RANDERATH, K. 1964. *Thin-layer chromatography*. Weinheim/Bergstr.
- STAHL, E. & U. KALTENBACH. 1961. Dünnschicht-Chromatographie. VI. Mitteilung. Spurenanalyse vom Zuckergemischen auf Kieselgur G - Schichten. *J. Chromatogr.* 5: 351-355. Amsterdam.
- TREVELYAN, W. E., D. P. PROCTER & J. S. HARRISON. 1950. Detection of sugars on paper chromatograms. *Nature* 166: 444-445. London.