

## Estudio del grano de polen en especies del genero *Heliconia* L. bajo el microscopio óptico

Pollen grain study in species of the *Heliconia* L. genus under optical microscope

M.E. Sanabria<sup>1</sup>, N. Maciel<sup>1</sup>, L.J. Cumana<sup>2</sup> y R.E. Delgado<sup>2\*</sup>

<sup>1</sup>Universidad Centroccidental "Lisandro Alvarado", Postgrados de Agronomía, Barquisimeto, estado Lara.

<sup>2</sup>Universidad de Oriente, Herbario IRBR, Cumaná, estado Sucre.

### Resumen

Los estudios palinológicos de las Zingiberales han tenido la limitante de la fragilidad que presentan las paredes de sus granos de polen. Con el objeto de realizarlos, se propuso la aplicación de los métodos para el tratamiento de dichas estructuras y obtener información sobre las características de los mismos. Las muestras consistieron en 5 anteras maduras separadas de las flores de *Heliconia bihai* (L.) L.; *H. psittacorum* L.; *H. latispatha* Bentham, *H. platystachys* Baker y *H. rostrata* Ruiz & Pavón naturales o cultivadas en los estados Sucre y Lara, Venezuela y fijadas antes de la dehiscencia en F.A.A. (75%) o en ácido acético glacial. Los granos de polen se observaron, fotografiaron y midieron en un microscopio Olympus BX40 con aumentos de 50 y 100X. La determinación de la forma se hizo en base a 25 medidas del diámetro ecuatorial (E) y polar (P) de granos seleccionados al azar en corte óptico meridiano y se calculó la relación P/E cuyo resultado se comparó con una tabla de índices establecidos. Los granos de polen de las especies estudiadas resultaron ser subesferoidales, asimétricos y con valores de P/E comprendidos entre 0,75 y 1,33 mm, La exina es microespinulada al igual que la intina, No se observaron diferencias entre los tamaños de los granos de polen provenientes de especímenes cultivados y silvestres y el patrón polínico observado fue semejante en las especies estudiadas.

**Palabras clave:** Polen, Heliconiaceae, morfología de polen.

## Abstract

Zingiberales Palynologic studies have been limited because of the walls fragility of its pollen grain. In order to accomplish these studies, methods applying for these structures treatment was proposed and such a way to get information about its characteristics. Samples consisted on five mature anthers from flowers of *Heliconia bihai* (L.) L.; *H. psittacorum* L.; *H. latispatha* Bentham, *H. platystachys* Baker and *H. rostrata* Ruiz & Pavón nature or cultivated at Sucre and Lara states, Venezuela, fixed before dehiscence in F.A.A. (75%) or in glacial acetic acid. Pollen grains were observed, photographed and measured under microscope Olympus BX40 at 50 and 100X augmentations. Form determination was made basing on 25 measurements of equatorial diameter (E) and polar diameter (P) of at random grains in meridian optical cut and P/E relationship was estimated and this result was compared with an established index table. Pollen grains of evaluated species were sub spheroid, asymmetric and with P/E values between 0.75 and 1.33  $\mu\text{m}$ . Exine and intine are micro spinulous. There were not observed differences between the sizes of pollen grains of cultivated and wild species and the polinic pattern observed was similar in the studied species.

**Key words:** Polen, *Heliconiaceae*, polen morphology.

## Introducción

Existen aspectos relacionados con la familia *Heliconiaceae* que requieren ser evaluados, uno de estos es el palinológico, el cual sorpresivamente aún no ha sido estudiado con detalle, por el hecho de que las técnicas tradicionales, son de limitado valor para la determinación de la forma y el tamaño de los frágiles granos de polen de las Zingiberales (5 y 6).

Se han establecido similitudes entre el polen de géneros del orden Zingiberales. En la familia *Heliconiaceae* han sido descritos como: asimétricos, circulares u oblongos, con la región distal indistinta, la esporodermis radialmente estriada; una estructura ulceroide con granulaciones opacas en la superficie, con la intina transparente, la exina

## Introduction

There are related aspect with *Heliconiaceae* family these is necessary being evaluated like palinologic which have not been studied in detail because traditional techniques have a limited value for shape determination and size of fragile grains of Zingiberales (5 and 6).

Similarities have been established between pollen of genus Zingiberales order. *Heliconiaceae* family has been described like asymmetric, circular and oblong, with an indistinct distal region, the sporodermis striated in a radial way, an ulceroid structure with pale granulations at surface, transparent intine, exine very thin and short (3).

Rowley and Skvaria (11) studied the pollen grain morphology of *Canna*

muy delgada y espínulas cortas (3).

Rowley y Skvaria (11) estudiaron la morfología del grano de polen del género *Canna* y encontraron que la intina y la exina eran muy delgadas y presentaban espínulas aisladas. Esta configuración impide a los palinólogos contar con la acetólisis como una herramienta para la preparación de los granos de polen para su estudio, igual opinión tienen Moncada y Salas (10).

Los granos de polen del género *Heliconia* L. en general se describen en base a trece especies estudiadas, como radialmente simétricos, heteropolares, de tamaño medio a grande (diámetro mayor: 57,45 a 129,60  $\mu\text{m}$ ). En los antecedentes se señala la presencia de una abertura distal simple en estas estructuras; sin embargo, en *H. lacletteana* y *H. laneae*, observaron aberturas que parecen ser intermedias entre los tipos monosulcados y bisulcados, constituida por un pseudosulco formado por una invaginación de la exina, que tiene un poro en cada extremo; en otras especies no se observó abertura alguna, como en el caso de *H. farinosa* donde se presentaron invaginaciones de la exina semejante a los poros por donde irrumpió el tubo polínico (13).

La ultraestructura de la exina de las especies de *Heliconia* colectadas en Guatemala, Panamá y Perú: *H. collinsiana*, *H. irrasa* y *H. peru* presentaron diferencias entre estas especies, en lo que se refiere a las características de la esporodermis y el protoplasto del grano de polen, las cuales podrían utilizarse para aclarar la taxonomía de estas plantas (7).

Los granos de polen de las espe-

genus and they found intine and exine were very thin and they showed isolated spinulous. This configuration difficult to palinologist to count with acetolysis like a tool for the preparation of pollen grains for its study, as Moncada and Salas says (10).

*Heliconia* L. genus pollen grains are described basing on three species studied like radially symmetric, hetero polar, medium to grand size (high diameter: 57,45 to 129,60  $\mu\text{m}$ ). In previous studies, the presence of simple distal opening in these structures is pointed out, however, in *H. lacletteana* and *H. laneae*, were observed openings that appears to be every other one between monosulcate and bisulcate, constituted by a pseudosulcate formed by an exine invagination that have a pore each extreme; in other species it was not observed any opening, as in case of *H. farinosa* in where exine invagination in pores by where polinic tube came were observed (13).

E ultra structure of *Heliconia* species collected in Guatemala, Panama and Peru: *H. collinsiana*, *H. irrasa* and *H. peru* showed significative differences between them, refers to sporodermis characteristics and pollen grain protoplast which could be used for this plants taxonomy explanation (7).

Pollen grain of *Heliconia* L. species are unopened, oblates or steroidals from equatorial view reaching 80  $\mu\text{m}$ , normally spinulous at distal face and with a elongation of thin exine ulceroid which functions as a cover at the generation moment of polinic tube (5, 6 and 7). Cellular wall

cies de *Heliconia* L. son inaperturados, oblatos o esferoidales en vista ecuatorial y llegando a medir 80 mm, comúnmente espinulosos en la cara distal y con una prolongación de la delgada exina ulcerode la cual funciona como una abertura al momento de generarse el tubo polínico (5, 6 y 7). La arquitectura de la pared celular podría describirse como bizarra, la exina como homogénea y no podría considerarse como lo suficientemente fuerte como para ser la responsable de proteger el protoplasma celular. La intina es estratificada con dos o más capas.

El grano de polen de *H. imbricata* tiene una morfología única dentro del género; mientras, que los de otras especies son semejantes, como en *H. bihai* y *H. rodriguesia* (1). Este autor consideró los granos de polen como heteropolares con un hemisferio distal dominante o discordes, con los hemisferios diferenciados por la presencia de una escultura, y el distal ligeramente espinuloso con una depresión más o menos conspicua.

Los granos de polen de las plantas cultivadas fueron de mayor tamaño que, los de las planta silvestre; sin embargo, no se estableció en que estado de desarrollo fueron evidentes estas diferencias (13).

En esta investigación se estudiaron algunos aspectos de la morfología del grano de polen de cinco especies del género *Heliconia* L. (*H. bihai* (L.) L.; *H. psittacorum* L.; *H. latispatha* Bentham; *H. platystachys* Baker y *H. rostrata* Ruiz & Pavón) localizadas y recolectadas en los estados Sucre y Lara, Venezuela; para lo cual se esta-

architecture could be describes as brave, exine as homogeneous and could not be considered as sufficient strong for being responsible of protect cellular protoplasm. intine is stratified with two or more layers.

Pollen grain of *H. imbricate* has a unique morphology inside the genus, whereas those of other species are similar, like *H. bihai* and *H. rodriguesia* (1). Author considered pollen grains like hetero polar with a dominant distal hemisphere or discordant, with hemispheres differenced by the sculpture presence and distal lightly spinuloso with a depression more or less prominent.

Pollen grains of plants cultivated were of higher size than wild plants, however, it was not establish in which development stage these differences were evident (13).

In this research some aspects of grain morphology of five species of genus *Heliconia* L. (*H. bihai* (L.); *H. psittacorum* L.; *H. latispatha* Bentham; *H. platystachys* Baker and *H. rostrata* Ruiz & Pavon) located and collected at Sucre and Lara states, Venezuela, for this, following objectives were established: a) compare established methods by Erdtman (3), Santos (13); Mello (9) and Kress *et al.* (5) for treatment of this structures with morphological studies purposes under optical microscope; b) describe pollen grains by using a polinic pattern according to Erdtman (2, 3) and Santos (13); y c) basing on the studied morphology, to establish the relationship between these species and possible differences between cultured and wild.

blecieron los tres objetivos siguientes: a) Comparar los métodos establecidos por Erdtman (3), Santos (13); Mello (9) y Kress *et al.* (5) para el tratamiento de estas estructuras con fines de estudios morfológicos bajo el microscopio óptico; b) Describir los granos de polen utilizando un patrón polínico según Erdtman (2 y 3) y Santos (13) y c) En base a la morfología estudiada, establecer la relación existente entre estas especies y las posibles diferencias entre especímenes cultivados y silvestres.

## Materiales y métodos

Las muestras consistieron en cinco anteras maduras separadas de flores de cada una de las especies, las cuales se recolectaron en diferentes localidades de los estados Sucre y Lara, Venezuela; algunas se usaron frescas y otras fueron fijadas antes de la dehiscencia en alcohol etílico 75%; en F.A.A, (formol: alcohol etílico: ácido acético glacial al 75%) ó en ácido acético glacial (50%).

El estudio se realizó en el laboratorio de microtecnia del posgrado de Biología de la Universidad de Oriente, Cumaná, en Cerro del Medio, estado Sucre y en el laboratorio de microtecnia e histopatología vegetal de la Universidad Centroccidental «Lisandro Alvarado» en Tarabana, estado Lara. Una vez en el laboratorio, se extrajeron los granos de polen rompiendo las anteras con la ayuda de agujas de disección. Los mismos se trataron según las metodologías para estudios palinológicos que se describen a continuación; a fin de compararlas:

## Materials and methods

Samples consisted in five mature anthers separated from flowers each one of species which were collected in different localities of Sucre and Lara states, Venezuela: some were fresh and others were fixed before dehiscence in ethylic alcohol 75% in F.A.A, (formaldehyde: ethylic alcohol; glacial acetic acid to 75%) or in glacial acetic acid (50%).

Study was carried out at Microtechnic Laboratory of Biology Post-Graduate of Universidad de Oriente, Cumana, Cerro del Medio, Sucre state, and at Microtechnic and Vegetable Histopathology of Universidad Centro Occidental "Lisandro Alvarado" in Tarabana, Lara state. Once at laboratory, pollen grains were extracted by breaking anthers with aid of dissection needles. They were treated according to methodologies for palinologic studies described as follows:

a. Erdtman acetalysis (2):

Completes anthers were previously fixed inside a centrifugation tube with pure glacial acetic acid and was centrifuged three times at 200 rpm during 3 minutes. Acetolyc mix was prepared by using anhydride acetic acid and sulfuric acid (9:1). Gradually both solutes were joined by recipient walls. Vegetable material was included in the acetolyc mix just prepared and it was placed at Water Bath, from cold to ebullition for 5 – 10 minutes, It was left at resting to became cold and it was centrifuged at 2000 rpm during 3 minutes. It was decanted the supernatant and the residue at the

a. Acetólisis de Erdtman (2).

Se colocaron las anteras completas fijadas previamente dentro de un tubo de centrifugación con ácido acético glacial puro y se centrifugó tres veces a 2000 rpm durante 3 minutos. Se preparó la mezcla acetolítica utilizando para ello ácido acético anhidro y ácido sulfúrico (9:1). Gradualmente se fueron uniendo ambos solutos por las paredes del recipiente. Se incluyó el material vegetal en la mezcla acetolítica recién preparada y se colocó en baño de María, partiendo de frío hasta ebullición por 5 a 10 minutos. Se dejó reposar hasta enfriar y se centrifugó a 2000 rpm por 3 minutos. Se decantó el sobrenadante y el residuo, en el fondo del tubo, se lavó con ácido acético glacial puro y se centrifugó por tres veces a 2000 rpm durante 3 minutos. Se lavó dos veces con agua destilada y se decantó. El material se sometió a un proceso de deshidratación en una batería de alcohol etílico, partiendo de 70 hasta 100%, cada paso con una duración de 3 minutos y decantando los alcoholes con precaución. Se agregó benceno y se dejó reposar por 5 minutos, se centrifugó a 2000 rpm y nuevamente se dejó reposar. Se preparó una mezcla benceno: aceite de silicón (1:1); se colocó el material vegetal en envases pequeños y se le añadió la mezcla. Se dejó reposar por 24 horas, destapado a fin de facilitar la evaporación del benceno. Para las observaciones al microscopio óptico, se colocó una gota del preparado en un portaobjetos, se cubrió con una cubreobjeto y se esperó el tiempo necesario para que se extendiera la muestra de granos de polen.

end of tube was cleaned with pure glacial acetic acid and it was centrifuged three times at 2000 rpm during 3 minutes. It was cleaned twice with distilled water and decanted. Material was submitted to a dehydration process in a ethylic alcohol battery, from 70 to 100%, each path with 3 minutes of duration and by decanting alcohols with a lot of preventing. Benzene was added and left at rest during 5 minutes. It was centrifuged at 2000 rpm and left at rest again. A benzene mix was prepared: silicon oil (1:1); vegetable material was located at small recipients and mix was added. It left at rest during 24 hours, without tape for making easier the benzene evaporation. For observations to optical microscope, a drop of preparation was placed on microscope slides and covered with other one and time required for grain sample being extended

b. Potassium hydroxide treatment (KOH) (2).

Anther was included in KOH at 10% and placed in Water Bath. Preparation was left at rest and it was cleaned with distilled water. Vegetable material was dehydrated by passing through an ethylic alcohol battery (70, 95 and 100%), each path of 5 minutes. It was centrifuged at 2000 rpm three times and during 3 minutes each time and being decanted carefully in each path. Vegetable material was placed in benzene during 5 minutes and it was decanted. It was covered with a mix of benzene:silicon in proportion of 1:1. It was left at rest for 24 hours or until benzene was evaporated. For optical microscope (OM) observation, drops of

b. Tratamiento con hidróxido de potasio (KOH) (2).

Se incluyeron las anteras en KOH al 10% y se colocaron en baño de María. La preparación se dejó enfriar y se lavó con agua destilada. El material vegetal se deshidrató pasándolo por una batería de alcohol etílico (70, 95 y 100%), cada paso de 5 minutos. Se centrifugó a 2000 rpm tres veces y por 3 minutos cada vez y decantando cuidadosamente en cada paso. El material vegetal se colocó en benceno por 5 minutos y se decantó. Se cubrió con una mezcla de benceno:silicón en proporción 1:1. Se dejó reposar por 24 horas o hasta que el benceno se evaporó. Para la observación al microscopio óptico (MO), se colocaron gotas del preparado en un portaobjetos, se cubrieron con un cubreobjeto y se esperó el tiempo necesario para que se extendiera la muestra de granos de polen.

c. Saenz (12) y Kress (6 y 7).

Los granos de polen fueron extraídos de las anteras con la ayuda de una aguja de disección, se colocaron en un portaobjeto y se les añadió una gota de xilol puro. Se cubrieron con un cubreobjeto y se sellaron las preparaciones con esmalte para uñas transparente. En caso de que se requirieran preparaciones permanentes, el xilol fue sustituido por bálsamo de Canadá o Permount.

d. Mello Filho (9).

Esta metodología se puede utilizar tanto para anteras frescas, fijadas o tomadas de material herborizado y se recomienda para preparaciones rápidas. El procedimiento consistió en extraer los granos de polen de las anteras, colocarlos en un

preparación were placed in a microscope slide and were covered with other one, and time required for grain sample being extended.

c. Saenz (12) and Kress (6, 7).

Pollen grains were extracted from anthers with the aid of a dissection needle, it was placed in a microscope slide and a pure xilol drop was added. It was covered with an over microscope slide and preparations were sealed with transparent nail. In case of requiring permanent preparations, xilol was substituted by Canada balsam or Permount.

D, Mello Filho (9).

This methodology can be used for fresh anthers, fixed or taken from dried material and it is recommended for rapid preparations. Procedure consisted in to extract pollen grains for anthers, place in a microscope slide and adds a drop of mix conformed by chloral founded hydrate, Lactophenol and glycerin 50% (1/3 each).

For every methodology, pollen grains were observed, photographed and measured with an optical microscope (OM) Olympus BX40 with 50X and 100X augmentations. For its characterization it was used index table established by Erdtman (2, 3) and 11. Size determination was based on 25 measurements of polar diameter (P) and equatorial (E) of these structures selection at random, in meridian optical cut and relationship P/E applying.

## Results and discussion

After studying morphology of pollen grains of *H. bihai*, *H. pittacorum*, *H. platystachys* and *H.*

portaobjetos y añadirles una gota de una mezcla conformada por hidrato de cloral fundido; lactofenol y glicerina 50% (1/3 de cada uno).

Para todas las metodologías los granos de polen se observaron, fotografiaron y midieron con un microscopio óptico (MO) Olympus BX40 con aumentos de 50X y 100X. Para la caracterización de los mismos se utilizó la tabla de índices establecida por Erdtman (2 y 3) y 11. La determinación del tamaño se basó en 25 medidas del diámetro polar (P) y ecuatorial (E) de estas estructuras seleccionadas al azar, en corte óptico meridiano y la aplicación de la relación P/E.

## Resultados y discusión

Después de estudiar la morfología de los granos de polen de *H. bihai*, *H. psittacorum*, *H. latispatha*, *H. platystachys* y *H. rostrata* mediante las metodologías recomendadas por Erdtman (2 y 3); Santos (13), Mello Filho (9) y Kress (5 y 6), se coincidió con los resultados obtenidos por Rowley y Skavaria (11); Kress *et al.* (7) y Moncada y Salas (10) en el sentido de que las técnicas palinológicas tradicionales, tales como la acetólisis de Erdtman y la aplicación de KOH, fueron de limitado valor en cuanto al estudio de la forma y el tamaño, por lo frágiles que fueron los granos de polen de *Heliconia* L. (7,10 y11). Se podría inferir que la exina delgada no resistió la acción de los químicos de la metodología a y b, ya que se observaron al MO más del 80% de los granos de polen destruidos. Los métodos de fijación (alcohol etílico 75%; F.A.A. y ácido acético glacial 50%) resulta-

*rostrata* through methodologies recommended by Erdtman (2, 3), Santos (13), Mello Filho (9) and Kress (5, 6). These results are in agreement with Rowley and Skavaria (11), Kress *et al.* (7) and Moncada and Salas (10) in the sense of traditional palinologic techniques such as Erdtman acetolysis and KOH applying, were of a limited value in relation to the shape and size study because of pollen grains of *Heliconia* L (7, 10, 11) fragility. It can be inferred that thin exine do not resisted chemical actions of methodologies a) and b) since it were observed to OM more than 80% of pollen grain destroyed. Fixation methods (ethylic alcohol 75%; F.A.A. and glacial acetic acid 50%) resulted adequate for preservation, because they do not altered pollen grains shape.

Setting ups according to Saenz (12), Mello (9) and Kress *et al.* (7) permitted observation of the unopened pollen grains, with a prolongation similar to those described by Kress *et al.* (7) as ulceroid and as he says, function as an opening at the moment of producing polinic tube; exine was thin and micro spinulous (figure 1).

Values obtained by measuring the equatorial (E) and polar (P) diameter in meridian cut and quotient (table 1) by comparison with values table for Erdtman (2, 3) and Saenz (12) determined that pollen grains can be included in the sub spherical shape class (ellipsoid) in five species studied (range of 0.75 to 1.33  $\mu\text{m}$ ).

With the purpose of detecting differences between species and specimens cultured and wild, values of P/E were compared, by



ron adecuados para la preservación dado que no alteraron la forma de los granos de polen.

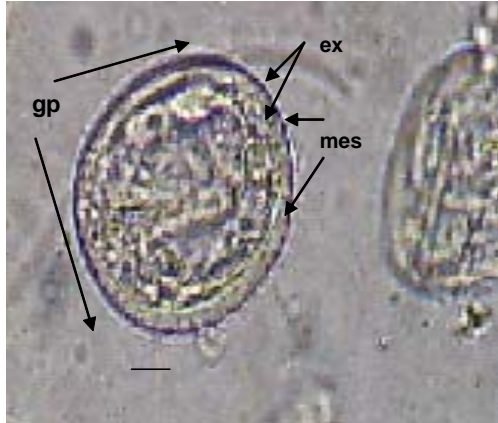
Los montajes realizados de acuerdo a la metodología de Saenz (12), Mello (9) y Kress *et al.* (7) permitieron la observación de granos de polen inaperturados, con una prolongación semejante a la descrita por Kress *et al.* (7) como "ulceroso" y que a juicio de este mismo autor funciona como una abertura al momento de producir el tubo polínico. La exina se observó delgada y microespinulada (figura 1).

Los valores obtenidos al medir el diámetro ecuatorial (E) y polar (P) en corte meridiano y los resultados del cociente P/E (cuadro 1), permitieron determinar por comparación con la tabla de valores para los índices de

corresponding the more elevated to the *H. platystachys* (1.08  $\mu\text{m}$ ) and *H. latispatha* (1.02  $\mu\text{m}$ ), both collected at Cumana city gardens, and *H. rostrata* (1,5  $\mu\text{m}$ ) cultured at Lara state.

It was not possible to establish comparison between species in relation to P/E because *H. latispatha* is an occidental hot forest specimen and *H. platystachys* of oriental south one (8). P/E values more lower it were presented in wild and cultured specimen of *H. psittacorum* (0.83  $\mu\text{m}$ ) and of *H. bihai*; in this case, they resulted very closed (0.87 and 0.86  $\mu\text{m}$ , respectively).

As a difference from Kress *et al.* (7) observations for *H. collinsiana*, *H. irrasa* and *H. peru* collected in Guatemala, Panama and Peru, in *H. bihai*, *H. psittacorum*, *H. latispatha*,



**Figura 1.** Granos de polen (gp) subesferoidales (elipsoides) e inaperturados de *Heliconia latispatha* Benth (Heliconiaceae) mostrando la delgada exina (ex) microespinulada (mes).

**Figure 1.** Pollen grains (pg) sub spheroids (ellipsoids) and unopened of *Heliconia latispatha* Benth (Heliconiaceae) by showing the thick and micro spinulate exine (mes).

**Cuadro 1. Determinación del diámetro ecuatorial (E), polar (P) y de P/E de los granos de polen de cinco especies de *Heliconia* L. (Heliconiaceae) silvestres (S) o cultivadas (C), recolectados en los estados Sucre y Lara. Unidades micras (mm).**

**Table 1. Determination of equatorial diameter (ED), polar (P) and of P/E of pollen grains in five *Heliconia* L. (Heliconiaceae) wild species (WS) or cultured (C), collected at Sucre and Lara state. Unit micras (mm).**

Sección	Especies	E			P			P/E		
		S	C		S	C		S	C	
<i>Heliconia</i> L. Andersson	<i>H. bihai</i>	56,47 ± 3,61	64,77 ± 13,84	49,43 ± 4,43	55,81 ± 10,63	0,87	0,86			
	<i>H. psittacorum</i>	68,15 ± 4,75	63,78 ± 6,43	57,67 ± 5,51	53,52 ± 5,93	0,83	0,83			
Tortex	<i>H. latispatha</i>	—	62,11 ± 6,912	—	80,67 ± 7,09	—	1,02			
Pendulatae	<i>H. platystachys</i>	—	66,15 ± 5,08	—	60,93 ± 7,20	—	1,08			
	<i>H. rostrata</i>	—	62,15 ± 4,50	—	65,54 ± 5,80	—	1,05			

Erdtman (2 y 3) y Saenz (12), que los granos de polen pueden ser incluidos en la clase de forma subesferoidales (elipsoides) en las cinco especies estudiadas (rango 0,75 a 1,33 mm).

A fin de detectar diferencias entre las especies y entre especímenes cultivados y silvestres se compararon los valores de P/E, correspondiendo los más elevados a los de *H. platystachys* (1,08 mm) y *H. latispatha* (1,02 mm), ambas recolectadas en los jardines de la ciudad de Cumaná y a *H. rostrata* (1,05 mm), cultivada en el estado Lara.

No fue posible establecer comparación entre especies en cuanto a P/E debido a que *H. latispatha* es un espécimen de bosques calientes occidentales y *H. platystachys* del sur de oriente (8). Los valores más bajos de P/E se presentaron en ejemplares silvestres y cultivados de *H. psittacorum* (0,83 mm) y de *H. bihai*, en este último caso resultaron ser muy cercanos (0,87 y 0,86 mm, respectivamente).

A diferencia de lo observado por Kress *et al.*, (7) para *H. collinsiana*, *H. irrasa* y *H. peru* recolectadas en Guatemala, Panamá y Perú, en *H. bihai*, *H. psittacorum*; *H. latispatha*, *H. platystachys* y *H. rostrata* no se observaron diferencias en cuanto a la esporodermis del grano de polen.

## Conclusiones

Las técnicas acetólisis de Erdtman y la aplicación de KOH no fueron útiles para estudiar la morfología de los granos de polen de *Heliconia* L.

Los fijadores simples tales como el alcohol etílico 75% y el ácido acéti-

*H. platystachys* and *H. rostrata* there were no differences in relation to the pollen grain sporodermis.

## Conclusions

Erdtman acetolysis techniques and HOH applications were no useful for studying morphology of pollen grains of *H. Heliconia* L.

Simple fixates such as ethylic alcohol 75% and the glacial acetic acid and fixing mix F.A.A. (75%) resulted inadequate for preserving pollen grains of studied species.

Pollen grains were unopened, with an ulceroid prolongation and the exine was thin and micro spinulose, no matter if they were from wild or cultured specimen and can be included in sub spheroid (ellipsoids).

Observations at optical microscope do not showed differences in relation to sporodermis of five studied species so it do not have value for studying taxonomy of these species.

*End of english version*

---

co glacial y la mezcla fijadora F.A.A. (75%), resultaron adecuados para preservar los granos de polen de las especies estudiadas.

Los granos de polen fueron inaperturados, con una prolongación "ulceroides" y la exina fue delgada y microespinulada independientemente si provenían de ejemplares silvestres o cultivados y pueden ser incluidos en la clase subesferoidales (elipsoides).

Las observaciones con microscopio

pio óptico no presentaron diferencias en cuanto a la esporodermis de las cinco especies estudiadas, por lo tanto la misma carece de valor para aclarar la taxonomía de estas especies.

## Literatura citada

1. Andersson, L. 1985. Revision of *Heliconia* subgen. *Stenochlamys* (Musaceae-Heliconiaceae). Opera Botánica. 82:1-123.
2. Erdtman, G. 1971. Pollen morphology and plant taxonomy. Hafner publishing Company. New York. 541p.
3. Erdtman, G. 1986. Handbook of palynology. Munksgaard. Copenhagen. 200 p.
4. Kapp, R. 1969. How to know pollen and spores. W.M.C. Brown Company publishers. EEUU. v-249 p.
5. Kress, J. 1981. A new species of *Heliconia* (Heliconiaceae) from Costa Rica. Brenesia. Museo Nac. Costa Rica. 19(20):201-207.
6. Kress, J. 1986. Pollination and reproductive biology of *Heliconia*. Monogr-Syst-Bot-Gard. St. Louis. 10:273-285.
7. Kress, J., E. Donald y S. Sellers. 1978. Ultrastructure of exine-less pollen: *Heliconia* (Heliconiaceae). Amer. J. Botany 65(10):1064-1076.
8. Maciel, N. 1991. Potencial y uso ornamental de las Heliconias. Aspectos Morfológicos y Fisiológicos. Postgrado de Horticultura. U.C.L.A. Mecanografiado 20 p. Barquisimeto, estado Lara.
9. Mello, F. 1976. *Heliconiae novae Brasilensis*. III. In Bradea. 11(15):91-94.
10. Moncada, M. y E. Salas. 1983. Polen de plantas melíferas en Cuba. Inst. de Bot. Acad. de Ciencias de la Habana. Cuba. Centro de información y divulgación agropecuaria. pp 7-64.
11. Rowley, J. y J. Skavarla. 1974. Origen of inner intine in pollen *Canna*. En: C.J. Aeceneaux (Ed.) Ann. Proc. Electron Microscopy Soc. Amer. St. Louis. 361-362 p.
12. Saenz, C. 1978. Polen y esporas. Introducción a la palinología y vocabulario palinológico. H. Blume Edit. Madrid. 9-213 p.
13. Santos, E. 1978. Revisão das espécies do genero *Heliconia* L. (Musaceae s.l.) espontaneas na regio Fulminense. Rodriguesia. XXX (45):99-221.