

# BIOLOGÍA REPRODUCTIVA DEL ORÉGANO MEXICANO (*Lippia graveolens* Kunth) EN TRES CONDICIONES DE APROVECHAMIENTO

## REPRODUCTIVE BIOLOGY OF MEXICAN OREGANO (*Lippia graveolens* Kunth) IN THREE EXPLOITATION CONDITIONS

Rosalía V. Ocampo-Velázquez<sup>1</sup>, Guadalupe X. Malda-Barrera<sup>2</sup>, Guadalupe Suárez-Ramos<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Facultad de Ingeniería, Campus Amazcala. Universidad Autónoma de Querétaro. 76130. Carretera a Chichimequillas, El Marqués, Querétaro (rosalia.ocampo@uaq.mx). <sup>2</sup>Facultad de Ciencias Naturales, Campus Juriquilla. Universidad Autónoma de Querétaro. 76230. Avenida de las Ciencias s/n, Juriquilla, Delegación Santa Rosa Jáuregui (gmalda@uaq.mx). <sup>3</sup>Departamento de Agronomía. Instituto Tecnológico y de Estudios Superiores de Monterrey, Campus Querétaro. 76130. Epigmenio González Núm. 500. Fraccionamiento San Pablo (gsuarezr@itesm.mx)

### RESUMEN

El orégano mexicano (*Lippia graveolens* Kunth) se recolecta de casi todo el territorio nacional y su aprovechamiento coincide con el periodo de floración de la planta limitando la formación de frutos y semillas. Se estudiaron aspectos de la reproducción de *L. graveolens* en individuos de una población silvestre sin aprovechamiento (San Juan Raya, estado de Puebla, México) y de otra población silvestre pero con aprovechamiento constante (La Salitrera, estado de Guanajuato), y de una población cultivada (Universidad Autónoma de Querétaro, estado de Querétaro, México). Se incluyó una descripción del desarrollo de sus flores, tipo de reproducción y la evaluación de la producción de frutos y semillas. *L. graveolens* presentó inflorescencias indeterminadas de tipo espigas capitadas, con un número de flores por inflorescencia muy variable (de dos a 20), siempre con flores pequeñas (4 mm). Las flores son hermafroditas, a diferencia de otras especies del mismo género que son dioicas, con lo cual, aunque su aprovechamiento coincide con la época de floración, no implica la necesidad de alguna práctica especial para su aprovechamiento por parte de los recolectores. Las diferentes condiciones de manejo no alteraron la expresión sexual ni la producción de frutos, la cual varió de 0.9 a 16.4 %, aunque sí se observó una reducción en la producción de frutos en las plantas cultivadas posiblemente por la ausencia de polinizadores. De las inflorescencias de cada planta, 61.8 % no produjeron frutos; en 38.2 % hubo de uno a ocho frutos por inflorescencia, de los cuales 93 % formaron una semilla bien desarrollada y la otra abortada, y el 7 % restante presentó dos semillas por fruto. Es importante conocer la producción de semilla al momento de la extracción, porque es la única forma de reproducción natural en esta especie.

**Palabras clave:** *Lippia graveolens*, flores, floración, hermafrodita, producción de frutos.

\*Autor responsable ❖ Author for correspondence.

Recibido: Febrero, 2008. Aprobado: Abril, 2009.

Publicado como NOTA en *Agrociencia* 43: 475-482. 2009.

### ABSTRACT

Mexican oregano (*Lippia graveolens* Kunth) is collected in nearly the entire national territory and its use coincides with the plant blooming, which limits the development of fruits and seeds. Reproduction aspects of *L. graveolens* were studied in individuals of a wild non used population (San Juan Raya, state of Puebla, México), another wild population under permanent use (La Salitrera, state of Guanajuato), and a population under cultivation (Universidad Autónoma de Querétaro, state of Querétaro, México). A description of the growth of its flowers was included, as well as the type of reproduction and an evaluation of the fruit production. *L. graveolens* presented undetermined inflorescences of the capitate spike type with a highly changeable number of flowers per inflorescence (from two to 20), always small flowers (4 mm). Flowers are hermaphrodites, unlike the other species of the same genus that are dioic. Therefore even when their use coincides with the flowering period, there is no need of a special practice for its use by collectors. The different management conditions did not alter the sexual expression neither the production of fruits which varied from 0.9 to 6.4 %; but there was a reduction in the production of fruits possibly due to the absence of pollinators; 61.8 % of inflorescences of each plant did not render fruits; in 38.2 % one to eight fruits per inflorescence were detected, of which 93 % formed a well developed seed and the other one aborted, and the remaining 7 % presented two seeds per fruit. It is important to know about seed production at the moment of extraction as it is the only way of natural reproduction of this species.

**Key words:** *Lippia graveolens*, flowers, blooming, hermaphrodite, fruit production.

### INTRODUCTION

Oregano is the common name of a spice applied to more than 60 species and subspecies of the Lamiaceae and Verbenaceae families, of which

## INTRODUCCIÓN

El orégano es el nombre común de un condimento, aplicado a más de 60 especies y subespecies pertenecientes a las familias Lamiaceae y Verbenaceae, de las cuales las más importantes son las del orégano mediterráneo o europeo (*Origanum vulgare* subsp. *hirtum*, *O. vulgare* subsp. *gracite*) y del orégano mexicano (*Lippia graveolens* y *L. palmeri*) (Huerta, 1997). Es importante estudiar algunos aspectos de la reproducción del orégano mexicano porque se extrae principalmente de poblaciones naturales y su re-aprovechamiento al coincidir con la floración de la planta, altera la formación de frutos y semillas. Además, dichas poblaciones se han reducido en superficie y densidad. En la familia Verbenaceae, hay especies hermafroditas, dioicas y monoicas. Algunas especies (*L. obscura*, *L. hassleriana*, *L. sclerophylla*, *L. aberrans*) son dioicas pues presentan plantas que desarrollan flores femeninas que carecen de estambres o muy raras veces, presentan uno o dos estaminodios, una corola reducida y el cáliz bien desarrollado; mientras que las plantas masculinas tienen flores aparentemente hermafroditas por la presencia de gineceo, aunque de menor tamaño y con estambres bien desarrollados, corola de mayor tamaño, con el tubo donde se fijan las anteras ensanchado y el cáliz muy reducido o ausente (Troncoso, 1961). La información disponible de *L. graveolens* es muy escasa.

Elementos externos (agua, temperatura y luz) e internos (carbohidratos, niveles de nitrógeno, hormonas y genéticos) afectan la fenología de las plantas que incluye la floración y expresión sexual (Evans *et al.*, 2003). En especies hermafroditas los recursos para la reproducción están divididos en la parte masculina (polen) y la femenina (flores y semillas) que determina el número y peso de los frutos producidos (Guitian, 1993). La translocación de nutrimentos no siempre es regulada por la planta, sino también influyen las condiciones ambientales y la historia evolutiva de la planta. En condiciones silvestres, las plantas femeninas de *Plantago lanceolata* producen un mayor número de inflorescencias y sus semillas son más grandes que en las plantas hermafroditas, pero en condiciones de cultivo las hermafroditas no difieren de las dioicas (Stephenson, 1981).

La producción de semillas por individuo en un periodo depende del número de flores femeninas, del número de óvulos, del número de flores polinizadas y del número de óvulos fertilizados. El número de semillas puede ser reducido por depredación de frutos, condiciones ambientales adversas y reducción de nutrientes de la planta madre (Eynard y Galetto, 2002).

the most important are those of the Mediterranean or European oregano (*Origanum vulgare* subsp. *hirtum*, *O. vulgare* subsp. *gracite*) and Mexican oregano (*Lippia graveolens* and *L. palmeri*) (Huerta, 1997).

The study of Mexican oregano reproduction is important as it is extracted mostly from natural populations and its re-use alters the formation of fruits and seeds because it coincides with the flowering stage of the plant. In addition, such natural populations have reduced in surface and density. In the Verbenaceae family there are hermaphrodite, dioic and monoic species. Some species (*L. obscura*, *L. hassleriana*, *L. sclerophylla*, *L. aberrans*) are dioic as they have plants with female flowers that lack stamens or very rarely show one or two staminodes, a small corolla and a well developed calyx; while male plants have flowers that are apparently hermaphrodite because of the presence of the gynoeceum, though smaller and with well developed stamens, a bigger corolla, with a thicker tube where anthers are held to and a very small or non existent calyx (Troncoso, 1961). The information available on *L. graveolens* is scarce.

External factors (water, temperature and light) and internal ones (carbohydrates, nitrogen levels, hormones and genetic factors) affect the phenology of plants including blooming and sexual expression (Evans *et al.*, 2003). In hermaphrodite species resources consist of the male (pollen) and female (flowers and seeds) components that determine the amount and weight of the fruits produced (Guitian, 1993). The translocation of nutrients is not always regulated by the plant, but also environmental conditions have an influence as well as the evolutionary history of the plant. In wild conditions, the *Plantago lanceolata* female plants produce a greater amount of inflorescences and their seeds are bigger than those of hermaphrodite plants, but under cultivation conditions the latter do not differ from dioic plants (Stephenson, 1981).

Seed production per individual in a certain period depends on the number of female flowers, the number of ovules, the number of pollinated flowers and of fertilized ovules. The number of seeds could be reduced due to fruit depredation, adverse environmental conditions and reduced availability of nutrients from the mother plant (Eynard and Galetto, 2002).

Demographic studies of flowers and fruits (Primack, 1987; Coupland *et al.*, 2006) reveal that a small number of fruits coming from a reduced number of female fruits reach maturity since many flowers and immature fruits are lost by abscission. There is no consistent pattern since it varies among species inhabiting at different altitudes, cultivated or wild, or pollinated by different agents. Thus the proportion of mature fruits produced varies among

Estudios demográficos de flores y frutos (Primack, 1987; Coupland *et al.*, 2006) revelan que pocos frutos llegan a desarrollarse a partir de unas pocas flores femeninas debido a que se pierden muchas flores y frutos inmaduros por abscisión. No existe un patrón consistente, pues varía en especies cultivadas y silvestres que habitan en diferentes altitudes, o bien polinizadas por diferentes agentes. Así la proporción de frutos maduros varía entre especies. Por ejemplo, *Ceiba pentandra* produce solo 0.1 % es decir un fruto por cada 1000 o más flores (Janzen, 1969), *Rhizophora stylosa* 0.5 %, *Ceriops australis* 3 %, *Asclepia verticilata* 15-70 %, y *Cassia fasciculata* 30-60 % (Coupland *et al.*, 2006). El aprovechamiento de *L. graveolens* implica la remoción de hojas y tallo, y sus consecuencias en la producción de flores y frutos son desconocidas. En *Ilex aquifolium* la remoción de hojas causada por herbivoría no redujo la producción de frutos (Obeso, 1998). Lo mismo se registró en *Phellodendron amurense* var. *sachalinense*, sin embargo, en esta última hubo una diferencia en el volumen de las semillas, aunque el número de semillas por fruto se mantuvo (Mizui y Kikuzawa, 1991). En el orégano mexicano no se han estudiado los aspectos determinantes en el éxito en la reproducción como: tipo de reproducción, desarrollo floral, producción de frutos y semillas. Por lo anterior, el objetivo del presente estudio fue comparar diferentes condiciones de aprovechamiento en *L. graveolens*, para determinar sus posibles efectos sobre el tipo de flores e inflorescencias, el tipo de reproducción, y la producción de frutos y semillas.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### Localización del área de estudio

Las condiciones de manejo estuvieron representadas por tres localidades de estudio. La primera correspondió a una población sin ningún aprovechamiento, en San Juan Raya, Zapotitlán Salinas, Puebla (18° 18' 58" N y 97° 38' 04" O), a una altitud de 1750 m, con clima semiseco semicálido, precipitación media anual de 443.7 mm, principalmente en verano; la temperatura media anual de 17.9 °C (estación climatológica No. 82<sup>[4]</sup>). La segunda localidad se estudió fue una población sujeta a aprovechamiento constante, en la comunidad de La Salitrera, Victoria, Guanajuato (21° 11' 20.3" N y 100° 08' 37.5" O), a una altitud de 1605 m, con clima semiseco, precipitación media anual de 381.5 mm en verano, con temperatura media anual de 15.3 °C (estación climatológica No. 65<sup>[4]</sup>). La tercera localidad fue la de una población cultivada, establecida en julio de 2000 en la Universidad Autónoma de Querétaro (UAQ), (20° 35' 24.8" N y 100° 24' 45.56" O), con una altitud de 1850 m,

species. For example, the *Ceiba pentandra* tree produces only 0.1 %, that is, one fruit every 1000 or more flowers (Janzen, 1969), *Rhizophora stylosa* 0.5 %, *Ceriops australis* 3 %, *Asclepia verticilata* 15-70 %, and *Cassia fasciculata* 30-60 % (Coupland *et al.*, 2006). The use of *L. graveolens* entails the removal of leaves and stems, and its impact on the production of flowers and fruits remains unknown. In *Ilex aquifolium* the removal of leaves caused by herbivory did not reduce the production of fruits (Obeso, 1998). The same occurred in *Phellodendron amurense* var. *sachalinense*, yet in this one there was a difference in the volume of seeds, though the number of seeds per fruit remained stable (Mizui and Kikuzawa, 1991). No study has been conducted on the aspects that determine the successful reproduction of Mexican oregano, like type of reproduction, flower development, production of fruits and seeds. Therefore the objective of the present study was to compare the different conditions of use of *L. graveolens* to determine its possible effects on the type of flowers and inflorescences, type of reproduction and the production of fruits and seeds.

## MATERIALS AND METHODS

### Study area location

Three locations subjected to different management conditions were selected in this study. The first one corresponded to a population with zero use, in San Juan Raya, Zapotitlán Salinas, Puebla (18° 18' 58" N and 97° 38' 04" W), at 1750 m above sea level, with a semi dry semi warm climate, an annual mean precipitation of 443.7 mm, mainly in summer; an annual mean temperature of 17.9 °C (weather station No. 82<sup>[4]</sup>). The second location was a population subjected to constant use, in the community of La Salitrera, Victoria, Guanajuato (21° 11' 20.3" N and 100° 08' 37.5" W), at 1605 m above sea level, semi dry climate, annual mean precipitation of 381.5 mm, in summer, and annual mean temperature of 15.3 °C (weather station No. 65<sup>[4]</sup>). The third location was a population subjected to cultivation, set up in July 2000 at the Autonomous University of Querétaro (UAQ), (20° 35' 24.8" N and 100° 24' 45.56" W), 1850 m above sea level, semi dry climate, annual mean precipitation of 532 mm, in summer, and annual mean temperature of 18.8 °C (weather station of the Comisión Estatal del Agua, in Querétaro/state water commission).

### Blooming phenology

The lifespan of flowers was recorded, as well as their number per inflorescence in the individuals of the population set up at the UAQ in 2002. In order to learn about flowers' lifespan, two flowers

<sup>4</sup> Sistema Meteorológico Nacional ❖ National Weather System.

clima semiseco, precipitación media anual de 532 mm, en verano, temperatura media anual de 18.8 °C (estación climatológica de la Comisión Estatal del Agua, Querétaro).

### Fenología de la floración

Se registró la duración de las flores y el número de flores por inflorescencia en individuos de la población establecida en la UAQ en 2002. Para conocer la duración de las flores se marcaron dos flores por planta en 15 plantas. Se definieron las etapas de floración a estudiar de acuerdo con Dafni (1992): 1) botón incipiente, cuando los pétalos no rebasan el cáliz; 2) botón desarrollado, cuando los pétalos rebasan el cáliz pero aún no se expanden; 3) prefloración, en el momento en que los pétalos se encuentran expandidos pero no se han abierto; 4) floración; 5) senescencia. Las observaciones se efectuaron a las 11:00 h. Se marcaron dos inflorescencias por planta en 30 plantas y se registró el número de flores producidas por inflorescencia, así como su duración desde botón incipiente hasta su senescencia. Los resultados se analizaron estadísticamente calculando medias de tendencia central (Montgomery, 1993).

### Sistema de reproducción

Para caracterizar morfológicamente el sistema de reproducción de cada población de *L. graveolens* en San Juan Raya, La Salitrera y Cultivo UAQ, durante 2001 y 2002, se examinaron dos flores de cinco inflorescencias de 30 individuos. Para el muestreo se delimitaron rectángulos de 20×10 m (200 m<sup>2</sup>), donde las primeras 30 plantas con flores fueron elegidas y de éstas se recolectaron las inflorescencias de la parte media de cada planta, fijándolas en FAA (10 % formol comercial, 35 % agua destilada, 5 % ácido acético glacial, 50 % etanol 96° GL) para la posterior observación de estructuras reproductoras con un microscopio estereoscópico. Para conocer el desarrollo del ovario y anteras, los tejidos se incluyeron en parafina y se hicieron cortes histológicos (10 μm) transversales secuenciados de flor, y se tiñeron con safranina O y verde rápido. Se identificaron las estructuras reproductivas femeninas y masculinas y se fotografiaron.

### Éxito de la reproducción

Para evaluar la producción de frutos durante 2001 y 2002, se delimitaron parcelas de 50×10 m (500 m<sup>2</sup>) en las poblaciones de San Juan Raya y de La Salitrera. Se marcaron las primeras 100 plantas con flores, mientras que en la población cultivada, se marcaron las primeras 100 plantas con flores de la fila cuatro. Se marcaron 12 flores por planta (cuatro en la parte superior, cuatro en la media y cuatro en la parte baja), resultando 1200 flores por población. Después de 60 d se recogieron las inflorescencias y las flores marcadas se revisaron con un microscopio estereoscópico para verificar la presencia de frutos y el número de semillas producidas. Los datos se analizaron mediante una comparación de proporciones

per plant were marked in 15 plants. The blooming stages studied according to Dafni (1992) were the following: 1) incipient bud, the petals do not exceed the calyx; 2) well developed bud, when the petals exceed the calyx but do not expand yet; 3) preblooming, the petals have expanded but are not open; 4) blooming; 5) senescence. Observations were made at 11:00 h. Two inflorescences per plant were marked in 30 plants, and the number of flowers produced per inflorescence was registered, as well as their life from incipient bud up to their senescence. Results were statistically analyzed calculating measures of central tendency (Montgomery, 1993).

### Reproduction system

To morphologically characterize the reproduction system of each population of *L. graveolens* in San Juan Raya, La Salitrera and the UAQ cultivated site, in 2001 and 2002, two flowers from five inflorescences of 30 individuals were examined. For the sampling, rectangles of 20×10 m (200 m<sup>2</sup>) were delimited, and the first 30 plants with flowers were chosen, and of these the inflorescences of the middle part of each plant were collected, placing them in FAA (10 % commercial formol, 35 % distilled water, 5 % glacial acetic acid, 50 % ethanol 96° GL) for a later observation of reproductive structures with a stereoscopic microscope. To observe the development of the ovary and anthers, tissues were soaked in kerosene and histological flower sequential cross sections were prepared and stain with safranin O and fast green. Female and male reproductive structures were identified and photographed.

### Reproduction results

To evaluate the production of fruits during 2001 and 2002, plots of 50×10 m (500 m<sup>2</sup>) were delimited in the San Juan Raya and La Salitrera populations; the first 100 plants with flowers were marked. In the cultivated population, the first 100 flowering plants, were marked at the four row. Twelve flowers per plant were marked (four at the top, four in the middle and another four in the lower part), giving a total of 1200 flowers per population. After 60 d inflorescences were recollected and the marked flowers were examined with a stereoscopic microscope to verify the presence of fruits and the count the number of seeds produced. The data obtained were analyzed by comparing the proportions of Square Chi (Devore, 2005), did not were normal. Also the number of fruits per inflorescence was recorded in 30 inflorescences of 30 plants of each population in 2001 and 2002. The results were statistically analyzed with a contingency table by Square Chi (Devore, 2005).

## RESULTS AND DISCUSSION

### Description of flowers and inflorescences

In accordance with the description by Rzedowski and Calderón (2002), the *L. graveolens* flowers were found to be small, of 4 mm, sessile and zygomorphic;

por Chi Cuadrada (Devore, 2005), debido a que los datos no fueron normales en el 2001 y 2002. También se contó el número de frutos por inflorescencia en 30 inflorescencias de 30 plantas de cada población. Los resultados se analizaron estadísticamente con una tabla de contingencia por Chi Cuadrada (Devore, 2005).

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### Descripción de las flores e inflorescencias

En coincidencia con la descripción de Rzedowski y Calderón (2002), se encontró que las flores de *L. graveolens* son pequeñas de 4 mm, sésiles y zigomorfas; con cáliz gamosépalo de cuatro lóbulos; corola gamopétala con cinco lóbulos desiguales de color crema. La vida (de botón incipiente a su senescencia) promedio de las flores fue  $13 \pm 1.7$  d. Las inflorescencias son espigas capitadas indeterminadas, axilares, generalmente en grupos de cuatro, lo que puede favorecer la atracción de polinizadores. El número de flores por inflorescencia fue muy variable encontrándose con mayor frecuencia 10 flores por inflorescencia.

### Sistema de reproducción

Todas las flores provenientes de las tres localidades fueron hermafroditas, a diferencia de otras especies del mismo género que se han registrado como dioicas (Troncoso, 1961). El gineceo está formado por un ovario súpero, glabro, bicarpelar, dos rudimentos seminales placentación axial, estilo terminal y estigma bifido. El androceo está formado por cuatro estambres didínamos, con filamentos epipétalos, insertos a distintas alturas en la parte media de la corola, incluidos; las anteras son biloculares con dehiscencia longitudinal.

En los cortes histológicos de la etapa de botón floral incipiente se observaron dos rudimentos seminales jóvenes con el saco embrionario en desarrollo (Figura 1A); mientras que el polen estaba dentro de las anteras, turgente y ya formado (Figura 1D). En la etapa de prefloración se observó un óvulo ya fecundado (Figura 1B) y el polen liberado (Figura 1E), el cual aparecía turgente sin daño y viable. Por encontrarse el óvulo fecundado antes de la anthesis podría proponerse que la planta es autocompatible y de producción de frutos y semillas abundante; sin embargo, no se descarta la posibilidad de que también se presente la fecundación cruzada, pues la flor permanece abierta alrededor de 7 d antes de envejecer. Finalmente, en los cortes histológicos de las flores en senescencia se observó claramente un embrión en desarrollo (Figura 1C) y algunos granos de polen dañados (Figura 1F).

with a gamosepalous calyx of four lobules; gamopetalous corolla of five uneven cream-colored lobules. The average lifespan (from incipient bud to senescence) of flowers was 13.1.7 d. Inflorescences were undetermined axillary capitate spikes appearing in groups of four, which may favor the attraction of pollinators. The number of flowers per inflorescence varied a great deal, frequently having 10 flowers per inflorescence.

### Reproduction system

All the flowers from the three sites were hermaphrodite, unlike other species of the same genus classified as dioic (Troncoso, 1961). The gynoecium is formed by a super, glabrous bicarpelar ovary, two seminal rudiments, axial placentation, terminal style and bifid stigma. The androecium is formed by four didynamous stamens, with epipetalous filaments inserted at different levels in the middle part of the corolla; the anthers are bilocular with longitudinal dehiscence.

In the histological sections of the incipient flower bud stage two young seminal rudiments with the developing embryo sac were observed (Figure 1A); while pollen was inside the anthers, turgent and already formed (Figure 1D). In the pre-anthesis stage an already fertilized ovule was detected (Figure 1B) as well as the released pollen (Figure 1E), which appeared turgent with no damage and viable. Since the ovule was fertilized before anthesis of the flower it could be proposed that it is an auto compatible plant with abundant production of fruits and seeds; however, cross-fertilization cannot be ruled out, as the flower remains open for about 7 d before senescence. Finally, in the histological sections of senescent flowers a developing embryo was clearly observed (Figure 1C) and some sterile pollen grains (Figure 1F).

### Reproduction results

On average fruit production was recorded in only 11.4 % of the flowers in the three sites along the years of sampling. It is frequent to find a greater production of flowers than fruits in hermaphrodite species, which indicates the possible abortion of seeds, as documented in the study of various species (Janzen, 1969; Primack, 1987).

In fruit production, there are no differences among the sites and years of recollection, with the exception of the La Salitrera-2002 collect, where the flowers becoming fruit, were (0.9 %) more than expected. This was probably due to a delay of the

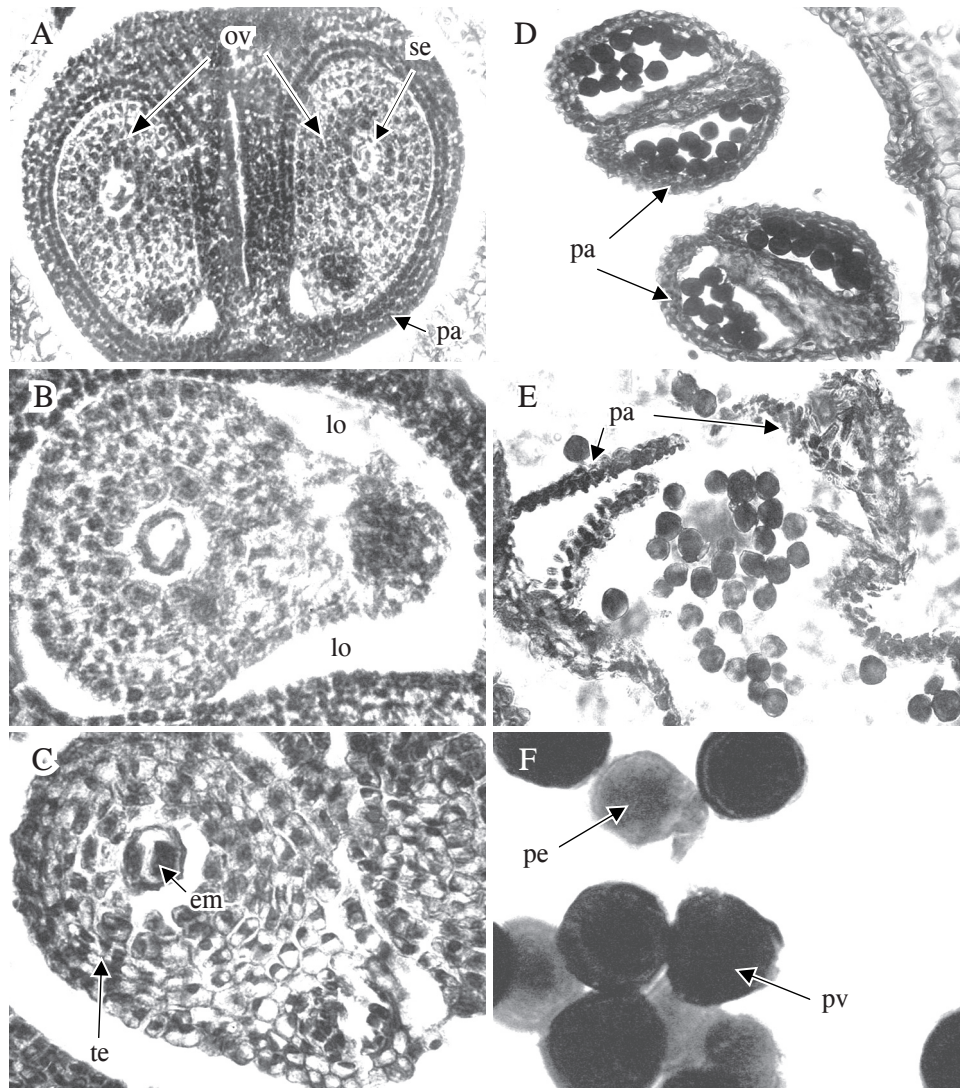


Figura 1. A. Corte transversal de ovario; B. Óvulo pre-antesis; C. Óvulo fertilizado; D. Corte transversal de antera; E. Antera en antesis; F. Viabilidad del polen. po, pared del ovario; se, saco embrionario; lo, lóculo; te, tegumentos; sp, sacos polínicos; p, polen; pa, pared de la antera; pe, polen estéril; pv, polen viable; em, embrión. A, 10X; B, C, D, E, 40X; F, 100X.

Figure 1. A. Ovary, transversal section; B. Ovule pre-anthesis; C. Ovule fertilized; D. Anther, transversal section; E. Anther at anthesis; F. Pollen viability. po, ovary wall; se, embryo sac; lo, locule; te, teguments; sp, pollen sacs; p, pollen; pa; anther wall; pe, sterile pollen; pv, viable pollen; em, embryo. A, 10X; B, C, D, E, 40X; F, 100X.

### Éxito de la reproducción

En promedio, la producción de frutos se presentó sólo en 11.4 % de las flores, en las tres localidades y años de muestreo. Es frecuente encontrar una mayor producción de flores que de frutos en especies hermafroditas, lo cual sugiere un fenómeno de aborto de semillas, como se ha documentado en varias especies (Janzen, 1969; Primack, 1987).

En la producción de frutos, no hay diferencias entre las diferentes localidad y años de colecta, con excepción de La Salitrera-2002, donde flores que derivaron

rainy season (September to October), in addition to low temperatures in October that could accelerate leaf and flower senescence.

It is worth pointing out that in the three sites in 2001 precipitation was lower (SJR:370.5, LS:188, CUL:523.4) than in 2002 (SJR:460.4,

LS:232, CUL:628.7), and with the exception of San Juan Raya in 2002, precipitation was lower than normal in the 1993-2003 period. This might indicate that in this species fruit production is genetically regulated, as registered in other species (Stephenson, 1980; Guitian *et al.*, 1996; Aigner, 2004). The

en fruto fueron más de los esperados (0.9 %). Lo anterior se debió probablemente al retraso del periodo de lluvias (septiembre y octubre), acompañadas de temperaturas bajas en octubre, lo que pudo acelerar la senescencia de hojas y flores.

Es importante resaltar que en las tres localidades, en 2001 la precipitación fue menor (SJR:370.5, LS:188, CUL:523.4) que en el 2002 (SJR:460.4, LS:232, CUL:628.7), y con excepción de San Juan Raya en 2002 la precipitación fue menor que la normal del periodo 1993-2003. Esto pudiera indicar que en esta especie la producción de frutos está regulada genéticamente como se ha registrado en otras especies (Stephenson, 1980; Guitian *et al.*, 1996; Aigner, 2004). Cabe señalar que la población cultivada careció de riegos de auxilio desde inicios de 2002, y en esta localidad la producción de frutos fue sólo 10.3 %, aun cuando la precipitación fue mayor (628.7 mm) que en las otras localidades. Lo anterior pudiera deberse a que allí la presencia de polinizadores fue menor que en los ambientes de las poblaciones silvestres, o que la especie observada (*Aphis mellifera*) sea menos eficiente que la especie *Melipona* sp. registrada en las poblaciones silvestres.

En cuanto al número de semillas producidas por fruto, el 93 % de los frutos producidos formaron una sola semilla y el 7 % restante presentaron dos semillas por fruto. Sin embargo, en la localidad de La Salitrera-2002, 100 % de los frutos tenían una sola semilla y no se produjo ninguno con dos semillas. Lo anterior puede estar influenciado por sesgos de muestreo, ya que sólo se contó con una muestra de cinco frutos producidos debido a factores climáticos adversos.

A simple vista se observaron diferencias en el tamaño de las semillas de *L. graveolens*: Las semillas únicas tuvieron mayor tamaño que aquellas procedentes de frutos con dos semillas. Lo anterior puede relacionarse con los niveles de polinización, ya que niveles altos de polinización pueden indirectamente reducir el peso de la semilla al aumentarse el número de semillas (Galen *et al.*, 1985). Además, el genotipo del polen puede influir en el peso de la semilla en plantas que producen semillas más pequeñas con autofecundación que en las de polinización cruzada (Schemske y Pautler, 1984). Al relacionar lo anterior con *L. graveolens*, también pudiera ser que las dos semillas pequeñas por fruto sean derivadas de autofecundación, y que una sola semilla de mayor tamaño sea producto de la fecundación cruzada donde el polinizador sí tiene una función importante.

Respecto al número de frutos por inflorescencia, en promedio, 61.8 % de las inflorescencias de cada planta carecieron de frutos; el resto, (38.2 %), presentó de uno a ocho frutos. Hubo diferencias significativas

population under cultivation lacked auxiliary irrigation since early 2002, and the production of fruits here was only 10.3 %, even when precipitation was higher (628.7 mm) than in other locations. This could be caused by a smaller number of pollinators there compared to the environments with wild populations, or because the species under study (*Aphis mellifera*) is less efficient than the *Melipona* sp. species present in wild populations.

As to the number of seeds produced per fruit, 93 % of the fruits produced formed one sole seed and the remaining 7 % produced two seeds per fruit. However, in the location La Salitrera-2002, 100 % had one single seed and none had two. This could be the result of bias in sampling since it was possible to obtain only one sample of five fruits produced due to adverse climate factors.

At first sight differences in the size of *L. graveolens* seeds were observed: the single seeds were bigger than those from fruits with two seeds. This could be related to the levels of pollination as when they are high they can indirectly reduce the weight of the seed when the number of seeds rises (Galen *et al.*, 1985). Also the pollen genotype may have an influence on the weight of the seed in plants producing smaller seeds with self-fertilization than in those by cross-pollination (Schemske and Pautler, 1984). In relation to *L. graveolens*, it could also be possible that the two small seeds per fruit come from self-fertilization and that one single bigger seed is the product of cross-fertilization, where the pollinator has in this case an important function.

On the number of fruits per inflorescence, on average 61 % of the inflorescences of each plant had no fruit; the rest, 38.2 %, had one to eight fruits on them. There were significant differences in the number of fruits per inflorescence ( $F=53.35$ ;  $p=0.001$ ), but with no variations on account of location or year ( $F=0.00$ ;  $p=1.00$ ).

## CONCLUSIONS

In the environments and populations studied *L. graveolens* is a hermaphrodite species. Its ovary is bicarpelar, with a seminal rudiment per carpel and the capacity to form two seeds per fruit. In the different development stages of flowers, the gynoecium and androecium structures appeared to be normal, leading to assume that these structures are functional in pre blooming; pollen was found to be released from the anthers and possible fertilized ovules, indicating that this species is auto compatible and fertilizes itself. Fruit production occurred on average only in 11.4 % of total flowers, probably due to seed abortion. Data analysis

en el número de frutos por inflorescencia ( $F=53.35$ ;  $p=0.001$ ), pero sin variaciones debidas a localidad ni año ( $F=0.00$ ;  $p=1.00$ ).

### CONCLUSIONES

En los ambientes y poblaciones estudiados *L. graveolens* es una especie hermafrodita. Su ovario es bicarpelar, con un rudimento seminal por carpelo y con capacidad de formar dos semillas por fruto. En los diferentes estados de desarrollo de las flores, las estructuras del gineceo y del androceo parecieran ser normales, lo que permite suponer que estas estructuras son funcionales en la prefloración; se observó polen liberado de las anteras y posibles óvulos fecundados, lo que indica que esta especie es autocompatible y se autofecunda. La producción de frutos ocurrió sólo en 11.4 % del total de flores, en promedio, posiblemente por aborto de semillas, y el análisis de los datos sugiere que las variables climáticas no son un factor que influya en este porcentaje ya que no se encontraron diferencias entre localidades.

### AGRADECIMIENTOS

Agradecemos al Consejo de Ciencia y Tecnología del Estado de Querétaro por su apoyo económico para llevar a cabo el presente trabajo.

### LITERATURA CITADA

Aigner, P. A. 2004. Ecological and genetic effects on demographic processes: pollination, clonality and seed production in *Dithyrea maritima*. *Biol. Conservation*. 116: 27-34.

Coupland, G. T., E. I. Paling, and K. A. McGuinness. 2006. Floral abortion and pollination in four species of tropical mangroves from northern Australia. *Aquatic Bot.* 84: 151-157.

Dafni, A. 1992. *Pollination Ecology: A Practical Approach*. Oxford University Press. Oxford, England. 250 p.

Devore, J. L. 2005. *Probabilidad y Estadística para Ingeniería y Ciencias*. Sexta ed. Ed. Thomson. México, D. F. 794 p.

Evans, M. E. K., E. S. Menges, and D. R. Gordon. 2003. Reproductive biology of three sympatric endangered plants endemic to Florida scrub. *Biol. Conservation*. 111: 235-246.

suggests that climate variables have no influence on this percentage as no differences were detected among the different locations.

—End of the English version—



Eynard, C., and L. Galetto. 2002. Pollination ecology of *Geoffroea decorticans* (Fabaceae) in central Argentine dry forest. *J. Arid Environ.* 51: 79-88.

Galen, C., R. C. Plowright, and J. D. Thomson. 1985. Floral Biology and regulation of seed set and seed size in the lily, *Clintonia borealis*. *Am. J. Bot.* 72(10): 1544-1552.

Guitian, J. 1993. Why *Prunus mahaleb* (Rosaceae) produces more flowers than fruits?. *Am. J. Bot.* 80: 1305-1309.

Guitian, J., P. Guitian, and L. Navarro. 1996. Fruit set, fruit reduction, and fruiting strategy in *Cornus sanguinea* (Cornaceae). *Am. J. Bot.* 83: 744-748.

Huerta C. 1997. Orégano mexicano: oro vegetal. *Biodiversitas* 3(15): 8-13.

Janzen, D. H. 1969. Seed-eaters versus seed size, number, toxicity and dispersal. *Evolution* 23: 1-27.

Mizui, M., and K. Kikuzawa. 1991. Proximate limitations to fruit and seed set in *Phellodendron amurense* var. *sachalinense*. *Plant Species Biol.* 6: 39-46.

Montgomery, D. C. 1993. *Diseño y Análisis de Experimentos*. Jaime Delgado Saldivar (trad). Ed. Iberoamérica. México, D. F. 589 p.

Obeso, J. R. 1998. Effects of defoliation and girdling on fruit production in *Ilex aquifolium*. *Functional Ecol.* 12: 486-491.

Primack, R. B. 1987. Relationships among flowers, fruits and seeds. *Ann. Rev. Ecol. Syst.* 18: 409-430.

Rzedowski, J., G. Calderon R. 2002. *Verbenaceae*. Flora del Bajío y de Regiones Adyacentes. Fascículo 100. Instituto de Ecología, A. C. Centro Regional del Bajío. Pátzcuaro, Michoacán. 145 p.

Schemske, D. W., and L. P. Pautler. 1984. The effects of pollen composition on progeny fitness components in a neotropical herb. *Oecologia* 62: 31-36.

Stephenson, A. G. 1980. Fruit set, herbivory, fruit reduction and the fruiting strategy of *Catalpa speciosa* (Bignoniaceae). *Ecology* 61: 57-64.

Stephenson, A. G. 1981. Flower and fruit abortion: proximate causes and ultimate functions. *Ann. Rev. Ecol. Syst.* 12: 253-279.

Troncoso, N. S. 1961. Las *Lippia* (Verbenaceae) descritas del Paraguay por Robert Chodat y John Briquet. *Darwiniana* 12: 256-292.