

Biología floral y sistema reproductivo de *Phaseolus vulgaris* var. *aborigineus* (Fabaceae)

Patricia S. Hoc y María T. Amela García

Facultad de Ciencias Exactas y Naturales (U.B.A.). Pab. 2, 4° piso, Ciudad Universitaria. 1428 Buenos Aires. Argentina. T.E./Fax: 54-1-5763384. Correo electrónico: hoc@bg.fcen.uba.ar

Recibido 25-VI-1998. Corregido 26-XI-1998. Aceptado 7-XII-1998

Abstract: Observations made in Salta, northern Argentina, for a complete flowering season of five plants from several patches, allowed the authors to conclude: 1. anthesis lasts 9-13 hours and consists of two floral phases, in the last of which the stigma is not receptive; 2. stigma is receptive in the bud when anthers are not dehiscent, hence the flowers are protogynous; 3. nectar is secreted during phase 1 only; 4. the nectar composition fits that of melittophilous plants; 5. rain or drizzle do not affect the nectar composition or pollen viability because they are highly protected but do affect visitation by pollinators; 6. flowers are flag-blossom pollination units with pollen presented on stylar subapical trichomes, adapted to medium-sized hymenopterans, which transfer the pollen on their heads; 7. the ISI and RRS reproductive indexes show that the variety is partially self-compatible, but insect visitation increases reproductive success; 8. individuals of *Centris* sp. and a breed of *Bombus atratus* are the most important legitimate visitors because they work on all conspecific plants and suck nectar in few flowers (phase 1) per plant during each visit, while individuals of *Bombus opifex*, the other breed of *B. atratus* and *Megachile* spp. are also legitimate pollinators but less frequent or not constant; 9. some Lepidoptera are nectar robbers because they suck nectar but do not trigger the pollen transfer mechanism.

Key words: *Phaseolus*, Fabaceae, floral biology, reproductive system, Argentina.

Burkart (1952) describió a la entidad *Phaseolus vulgaris* var. *aborigineus* como nueva especie (o posible subespecie) señalando que difiere de *P. vulgaris* L. por su hábito grácil, floración tardía, legumbre fuertemente dehiscente, de menor tamaño y sus semillas pequeñas y marmoreadas. Baudet (1978) consideró que la entidad constituye una variedad de *P. vulgaris*.

Se han realizado numerosos estudios sobre la distribución y la variabilidad de *P. vulgaris*, cuya área se extiende desde México hasta el noroeste de Argentina (Debouck 1988, Delgado Salinas *et al.* 1988, Freyre *et al.* 1996), determinándose que existen dos acervos genéticos diferentes: uno mesoamericano y otro andino

(comprendiendo este último el sur de Perú, Bolivia y noroeste de Argentina), y admitiendo que existe un tercer grupo con características intermedias ubicado entre ambas áreas, pero se desconoce si constituye un grupo ancestral. Los resultados de estudios exomorfológicos seminales y RAPDs obtenidos por Freyre *et al.* (1996) evidenciaron la existencia de híbridos e introgresantes entre *P. vulgaris* var. *aborigineus* ("wild forms", según los autores) y formas cultivadas de *P. vulgaris* en varias poblaciones bolivianas. Nakamura (1988) realizó cruzamientos en *P. vulgaris* empleando un cultivar comercial y una entrada silvestre procedente de México, concluyendo que el aborto seminal era mayor cuando se realizaban autopolinizaciones.

Este aporte al conocimiento de la biología floral y el sistema reproductivo de *P. vulgaris* var. *aborigineus*, desconocidos hasta el momento, tiene por objeto señalar las precauciones que deben tomarse en los bancos de germoplasma cuando se debe multiplicar y rejuvenecer las entradas preservando su acervo genético, y evaluar el impacto de la fragmentación ambiental en su sistema reproductivo.

MATERIALES Y METODOS

Area de estudio: Las observaciones se llevaron a cabo entre el 27 de febrero y el 24 de abril de 1995 (fecha en la cual se cosecharon los frutos maduros), comprendiendo todo el período de floración. Las plantas de *P. vulgaris* var. *aborigineus* crecían en la Quebrada del Toro, a lo largo de la ruta 51 (24° 54' S 65° 38' W, Depto. Rosario de Lerma, Salta, Argentina) en la Selva de las Yungas que se encuentra fragmentada debido a la actividad humana (cría de ganado en las pasturas naturales sin reposición, cultivos e intenso tránsito a lo largo de la ruta hacia Chile). Cinco plantas ubicadas en distintos manchones fueron el centro de las observaciones, a pesar de que en el área crecían no menos de 20 (100 m²): el N° 1 estaba compuesto por una planta de *P. vulgaris* var. *aborigineus* y otra de *Paugusti* Harms y medía 1.2 m de alto X 3 m de largo; el N° 2 estaba compuesto por una planta de *P. vulgaris* var. *aborigineus* y varias de *Desmodium uncinatum* (Jacq.) DC, medía 3.4 m de largo X 1.1 m de ancho; el N° 3 estaba compuesto por tres plantas (diferenciables) de *P. vulgaris* var. *aborigineus* y varias plantas de *Macropodium fraternum* (Piper) Juárez & Pérez, medía 1m de largo X 1.5 m de ancho. Los manchones N° 1 y 3 se encontraban en el mismo lado de la ruta, el manchón N° 2 se encontraba del otro lado, en la barranca del río. Las condiciones meteorológicas fueron registradas con un termohigrómetro digital. La humedad relativa no fue ilustrada en las figuras debido a que no cambiaba sustancialmente durante el día, las precipitaciones fueron incluídas porque afectaban el régimen de visitas.

Fases florales y visitantes, carga polínica:

La evolución de las fases florales fue seguida desde el comienzo de la antesis utilizando lupas de mano y un estereomicroscopio. La receptividad estigmática fue registrada siguiendo el método de Osborn *et al.* (1988), tomando como resultado positivo el burbujeo en el estigma ante la presencia del peróxido de hidrógeno. Flores en distintas fases florales fueron fijadas en FAA, en el laboratorio los pistilos fueron montados sobre un portaobjetos con agua glicerizada (50%), coloreados con una solución acuosa de violeta de cresilo (saturada) y se observó bajo microscopio de epifluorescencia provisto de un filtro V (380-425 nm) si había polen germinado.

Tanto el espectro como la frecuencia y el comportamiento de los visitantes florales en cada planta fueron registrados continuamente. Ejemplares de toda la vegetación en flor fueron colectados y determinados; en el laboratorio se caracterizó el polen de cada taxón luego de acetolizar las muestras según Erdtman (1959). El método de Genise *et al.* (1990) fue empleado para determinar la composición de la carga polínica en cada visitante floral. Tanto los ejemplares de herbario como los preparados de polen se encuentran depositados en el Herbario BAFIC, especímenes de los visitantes florales se encuentran depositados en el Museo Argentino de Ciencias Naturales "Bernardino Rivadavia".

Viabilidad polínica: Fue analizada siguiendo el método de Greissl (1989).

Néctar: Fue medida la altura del néctar colectado con tubos capilares de diámetro conocido, luego se calculó el volumen utilizando la fórmula del cilindro. Un grupo de flores en diferentes fases de la antesis (capullos incluídos) fue embolsado antes y después de la remoción del néctar para conocer si existía respuesta a la misma. Otro grupo de capullos fue embolsado y el volumen de néctar fue registrado al final de la antesis. El % de azúcares totales fue determinado empleando un refractómetro de mano, los mg de hexosas/ dl fueron registrados utilizando tiras Diastix.

Sistema reproductivo: Para determinar la existencia de autopolinización espontánea se embolsaron diez capullos de la mata N° 3, se marcaron 45 capullos de las matas N° 1 y 2 como testigos de polinización libre y se realizaron cruzamientos recíprocos entre flores emasculadas; pero las precipitaciones afectaron la viabilidad polínica en los estigmas expuestos del último tratamiento y las flores se marchitaron. La evolución de los tratamientos fue seguida hasta la cosecha de las semillas, registrando el número de flores marchitas sin fructificar. Los valores del ISI (N° de frutos producidos por autopolinización/ N° de frutos producidos por polinización cruzada) y del RRS ((N° de frutos producidos / N° de flores producidas) X (N° de semillas producidas / N° de óvulos producidos)) fueron obtenidos siguiendo a Dafni (1992) quien citó a Zapata & Arroyo (1978) y Stanton & Preston (1988). Para calcular estos índices fueron empleados los resultados obtenidos de la autopolinización espontánea y de la polinización libre. El número de óvulos en esta variedad es fácil de contar en los frutos maduros porque son uniseriados, y, de no producirse semillas, persisten restos en la placenta.

Atractivos: para determinar la existencia de guías de néctar las flores en distintas fases de la antesis fueron fotografiadas con y sin un filtro UV.

RESULTADOS

Antesis: Los racimos axilares son portadores de 2-7 flores generalmente geminadas. En cada nudo las flores se abren en diferentes días, son papilionadas, y el néctar, producido por un nectario anular que rodea el ginopodio, se acumula en la base del tubo formado por 9 de los 10 estambres, el restante (vexilar) no está soldado permitiendo el acceso a la recompensa. El estigma estaba receptivo antes de producirse la antesis, el polen era presentado en los tricomas estilares una vez comenzada la misma, por lo tanto las flores son protóginas. La antesis duraba entre 9 y 13 horas, según la

exposición al sol que tenían las flores, en cada manchón la evolución de las fases era sincrónica. En algunos manchones que recibían escasa iluminación las flores persistían en su última fase hasta la mañana siguiente, marchitándose al mediodía. La apertura comenzaba a las 7 hs y al cabo de 15 minutos el limbo de las alas se encontraba desplegado y paralelo al del estandarte, luego de 1 hora ambas alas presentaban su limbo perpendicular al del estandarte (Fig. 1, A).

Fases florales: desde el comienzo hasta la finalización de la antesis fueron reconocidas las siguientes fases :

1. (Fig. 1, B). El estandarte presentaba el limbo paralelo al raquis de la inflorescencia, con los márgenes recurvos. Las alas eran de limbo suborbicular. La quilla, levógira, se ubicaba sobre el ala izquierda.

Si se producían visitas legítimas, el estigma receptivo estaba total o parcialmente cubierto de granos de polen germinando, pero los granos presentados por la misma flor en

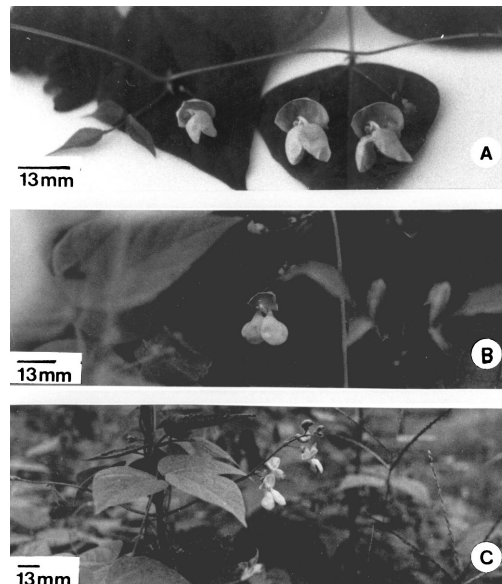


Fig. 1. A, tres flores al comienzo de la antesis, con el limbo de las alas y del estandarte desplegándose; B, flor en fase 1; C, flor en fase 2 (centro) y dos flores en fase 1 (izquierda y derecha).

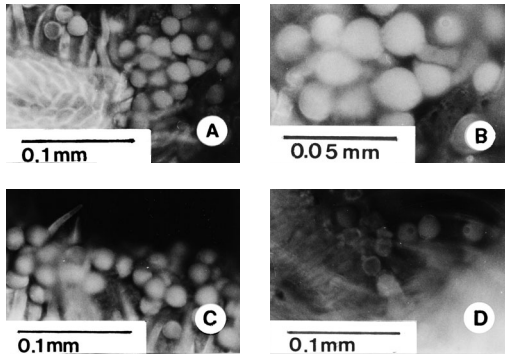


Fig. 2. A, ápice del estigma de una flor en fase 1 visitada, granos de polen germinando; B, detalle de A; C, resto de la misma superficie estigmática cubierta de granos de polen; D, tricomas subestigmáticos del mismo pistilo presentando los granos de polen pertenecientes a esa flor.

los tricomas estilares persistían sin germinar (Fig. 2, A-D). El volumen de néctar secretado era de 0.41 ml, con 20-38% de azúcares y 500 mg de hexosas/dl ($n=10$). En aquellas flores recién visitadas se registró un remanente de 0-0.04 ml ($n=11$, $x=0.006$), pero después de 1-2 horas no tenían néctar. Una presión descendente ejercida sobre el ala izquierda permitía la exposición del estigma y los tricomas estilares que presentaban el polen, luego, tanto las alas como el estilo volvían a su posición original. Si se producían sucesivas visitas durante esta fase, las alas se rompían parcialmente.

2. (Fig. 1, C: centro). Al promediar esta fase el estigma dejaba de estar receptivo y las alas comenzaban a marchitarse. El volumen de néctar era de 0.5 ml ($n=10$) en las flores no visitadas. No se registró néctar en aquellas flores visitadas durante la fase 1. Una presión descendente ejercida sobre el ala izquierda generaba la misma reacción que en la fase 1, pero las alas recuperaban muy lentamente su posición original y el ápice del estilo quedaba expuesto en el 70% de los casos. Hacia el final de esta fase las alas y el estandarte estaban completamente marchitos, y, si había ocurrido fecundación, comenzaba a crecer el ovario.

Néctar: el volumen obtenido de las flores embolsadas durante toda la antesis fue de 0.96

ml ($n=7$), registro similar a la sumatoria del producido por las dos fases florales, se infiere que no existe respuesta a la remoción, pero el tamaño muestral es pequeño como para establecer una conclusión definitiva.

Patrón de coloración: Las fotografías obtenidas con el filtro UV revelan un patrón de contraste espectral dentro de la flor (la base del estandarte, de las alas y los últimos giros de la quilla son claros, reflectantes, mientras que el limbo del estandarte, el de las alas y el resto de la quilla son oscuros, absorbentes). El extremo de la quilla señala el camino de acceso al néctar (Fig. 3). El limbo de las alas es aterciopelado, brindando una superficie no resbaladiza. La base del ala derecha produce el mismo efecto visual que el extremo de la quilla como guía de néctar (Fig. 3, B, D).

Viabilidad polínica. Efecto de las precipitaciones: La viabilidad fue del 100% ($n=420$). Las precipitaciones no afectaban ni la viabilidad del polen ni la composición del néctar debido a que ambos se encontraban protegidos dentro de la flor.

Sistema reproductivo: Los resultados de los tratamientos realizados para determinarlo están expuestos en el Cuadro 1, y preliminarmente permiten concluir que la variedad es parcialmente au-

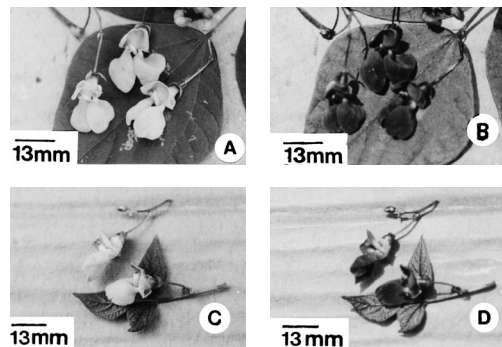


Fig. 3. A, flores en fase 1, foto tomada sin filtro UV; B, las mismas flores de A, foto tomada con filtro UV-A; C, flores en fase 1 vistas de perfil, foto tomada sin filtro UV; D, las mismas flores de C, foto tomada con filtro UV.

CUADRO 1

Tratamientos reproductivos

Nº de mata	Flores tratadas	Nº de frutos producidos	Nº de semillas totales producidas	Nº de semillas/fruto	Nº de óvulos totales producidos	Nº de óvulos/fruto	Nº de óvulos abortados
Fecundación libre: RRS (Exito reproductivo) = 0.81							
3 (Hoc 283)	22	18	99	5.1 (2-6)	104	5.6 (4-7)	1 (0-2) n=3
1 (Hoc 357)	15	15	64	4.6 (2-6)	69	4.8 (3-6)	0.3 (0-3) n= 5
3 (Hoc 353)	6	6	30	5 (4-6)	33	5.5 (5-6)	0.2 (0-1) n= 3
2 (Hoc 354)	4	3	15	5	17	5.6 (5-7)	0.6 (0-2) n= 2
Total	47	42	208	4.9 (2-6)	223	5.4 (3-7)	0.5 (0-3) n= 13
Autofecundación espontánea: RRS (Exito reproductivo) = 0.5							
3 (Hoc 346)	3	3	18	6	19	6.3 (6-7)	0.3 (0-1) n= 1
3 (Hoc 283)	7	2	11	5.5 (5-6)	11	5.5 (5-6)	0 n= 0
Total	10	5	29	5.8 (5-6)	30	6 (5-7)	0.2 (0-1) n= 1

tocompatible (ISI obtenido = 0.6, ISI de tablas = $0.2 < ISI < 1$) y que su éxito reproductivo alcanza el 80% cuando actúan los visitantes legítimos.

Visitantes florales legítimos: Al posarse sobre el ala izquierda para acceder al néctar, ejercían una presión descendente que desplazaba la quilla hacia abajo y permitía la exposición del estigma y los tricomas estilares que presentaban el polen, de este modo se realizaba una transferencia polínica nototriba, en la cabeza de los visitantes. Ocasionalmente, se posaban en el ala derecha accediendo al néctar, pero no tomaban contacto con el estigma ni el polen, por lo tanto no polinizaban, es posible que estas visitas, no favorables para las flores, se deban a la guía que presenta el ala derecha. Estos visitantes siempre libaban en las flores en fase 1, y, en cuanto se producía el cambio de

fase, abandonaban el sitio. Eran visitantes legítimos los individuos pertenecientes a: *Bombus opifex*, 2 castas de *Bombus atratus*, *Megachile* sp. y *Centris* sp.

Bombus atratus: comenzaban su actividad cerca de las 8 hs y terminaban las visitas cuando el sol dejaba de iluminar el lote o bien llovía. Una de las dos castas estaba compuesta por individuos de abdomen rayado (de ahora en más Nº 1) y eran los visitantes más frecuentes, libando en la mayoría de las flores (Fig. 4, Cuadro 2). Si la temperatura superaba los 20° C sus visitas se incrementaban. Su preferencia por el manchón Nº 2 fue mayor debido a que éste ofrecía más flores que los otros, allí libaban en *P. vulgaris* var. *aborigineus* y luego en *Desmodium uncinatum*, en el manchón Nº 1 libaban en *Phaseolus augusti* y luego en *P. vulgaris* var. *aborigineus*. Los individuos que componían la

segunda casta eran de abdomen negro (de ahora en más, casta N° 2), visitaban todas las flores de cada planta, pero con menor frecuencia y permanecían menos tiempo (aunque su moda era igual que la de la casta N° 1, cfr. Cuadro 2, Fig. 4), luego abandonaban el manchón.

Bombus opifex: comenzaban su actividad después de las 9 hs, cesándola si las precipitaciones eran frecuentes (Fig. 4). Visitaban pocas flores de cada planta, mostrando mayor preferencia por el manchón N° 2. Exhibían un comportamiento bimodal con respecto al número de flores libadas por visita (Cuadro 2). Trabajaban en las mismas matas que los individuos de la casta N° 1 de *B. atratus* siguiendo igual patrón.

Megachile sp.: libaron tres flores durante dos días (Cuadro 2). Era evidente su preferencia por las flores de *P. augusti*, que permanecían abiertas durante dos días y ofrecían más néctar (Hoc & Amela García 1998).

Centris sp.: fueron los visitantes más frecuentes además de la casta N° 1 de *B. atratus*. Libaron en 1-10 flores por visita a cada planta. Especialmente el 4/III sus picos de actividad se alternaban con los correspondientes a los individuos de la casta mencionada, aparentemente, realizando un reemplazo temporal (Fig. 4, Cuadro 2).

Visitantes florales ilegítimos: eran lepidópteros (*Lycaenidae* y *Hesperidae*) que ocasionalmente libaron en flores de la planta ubicada en el manchón N° 2. Durante sus visitas no discriminaron entre fases florales (Cuadro 2, Fig. 4). Se posaban sobre las alas de la flor e introducían su espiritrompa evertida por el costado de la quilla, accediendo al néctar. No ejercían la presión necesaria para exponer el estigma y los tricomas estilares, por lo tanto, no polinizaban. Su actividad no interfería con la de los visitantes legítimos.

DISCUSION

La antesis de escasa duración, con oferta de néctar sin reposición (Cruden *et al.* 1983), las pocas flores producidas en cada inflorescencia, la floración breve y la rápida captación y germinación del polen conespecífico durante la fase 1, favorecen la xenogamia. Los resultados del experimento para determinar el sistema reproductivo de esta variedad, aunque preliminares, indican que el éxito reproductivo es mayor cuando actúan los visitantes legítimos, coincidiendo con los resultados de xenogamia inducida del experimento de Nakamura (1988) y con la compilación de Mc Gregor (1976).

CUADRO 2

Número de flores visitadas en cada arribo a una planta, preferencia de fases y plantas, y tiempo en cada flor

Especie	Moda de flores libadas/visita (Valores mínimo y máximo)	Número de visitas a cada fase	Número de visitas a cada planta	Tiempo mínimo y máximo en cada flor (seg.)
<i>B. opifex</i>	1 & 4 (1-6) *	F1: 8	P2: 4 P3: 1 P5: 3	1-30 n= 7
<i>B. atratus</i> casta 1	4 (1-14)	F1: 32	P2: 5 P3: 19	1-88 n= 33
<i>B. atratus</i> casta 2	4 (1-5)	F1: 4	P3: 3 P5: 1	1-2 n= 4
<i>Centris</i> sp.	1 (1-10)	F1: 10	P2: 2 P3: 7	1-7 n= 9
<i>Megachile</i> spp.	3 (3-3)	F1: 2	—	17-24 n= 2
Lepidoptera	1 (1-2)	F1: 3 F2: 1	P2: 1 P3: 1	10-30 n= 3

* Fue bimodal

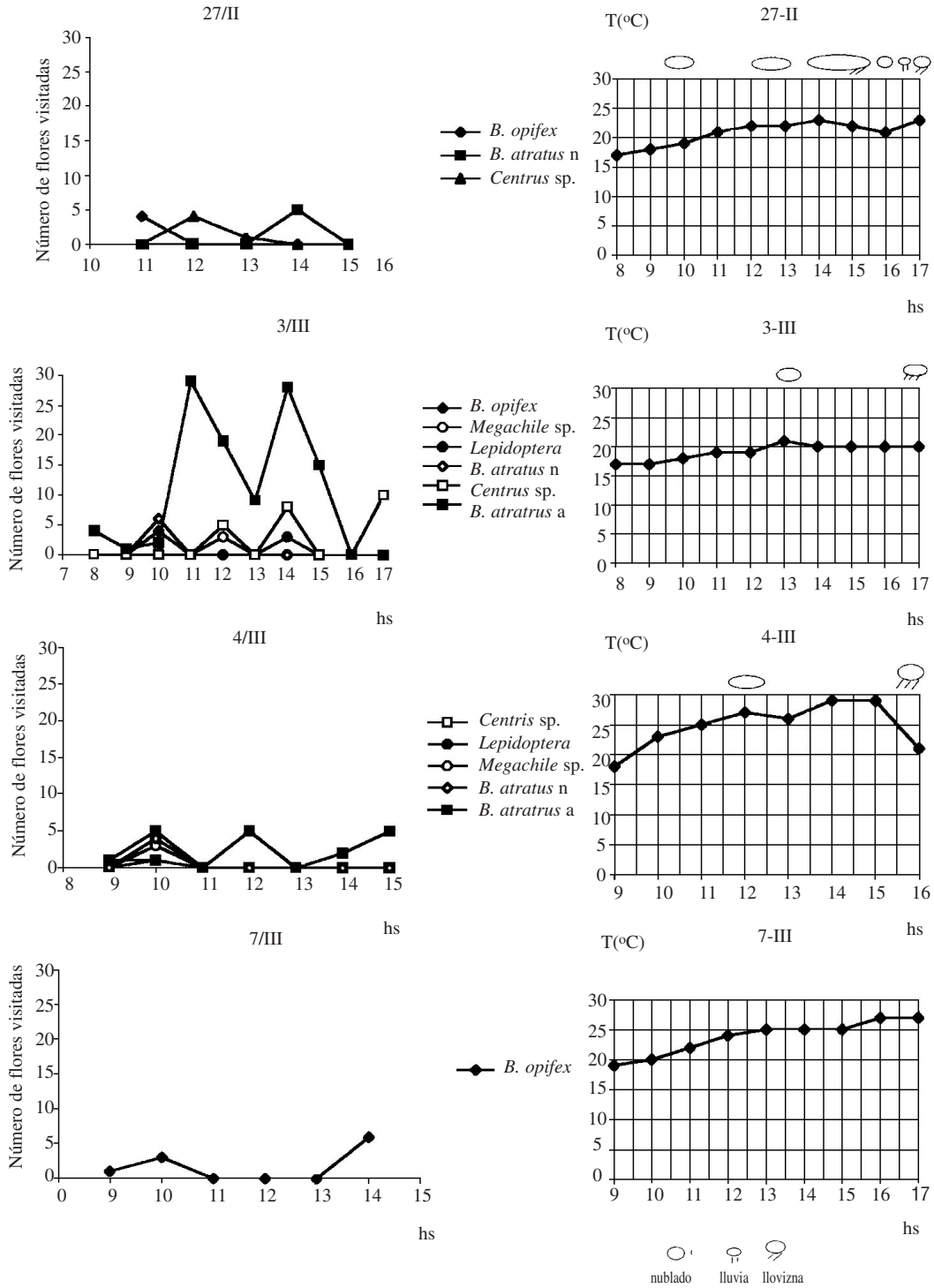


Fig. 4. Número de flores visitadas por cada taxon de visitantes y condiciones meteorológicas durante los mismos días. Referencias: *Bombus atratus a* = casta de abdomen rayado; *Bombus atratus n* = casta de abdomen negro.

La protoginia observada puede constituir una estrategia tendiente a captar el polen transferido desde otras flores durante la primera visita legítima, éste germina rápidamente y tiene mayor probabilidad de alcanzar los óvulos que el polen presentado en los tricomas estilares, en consecuencia es posible que exista algún mecanismo incipiente de autoincompatibilidad.

La fragmentación del medio no parece afectar la fructificación de esta variedad, como lo hace con *P. augusti*, cuyas plantas producen numerosas inflorescencias con un gran número de flores que ofrecen néctar durante dos días, por lo tanto, los visitantes producen geitonogamia y el éxito reproductivo es muy bajo (Hoc & Amela 1998).

Las flores son melitófilas (Faegri & Van der Pijl 1979) porque son papilionadas, con guías de néctar determinadas por un contraste espectral dentro de las mismas que señalan su ubicación. Los visitantes legítimos deben forzar la entrada para acceder a la recompensa, en este caso la transferencia del polen es nototriba. Por su composición, el néctar es adecuado para himenópteros medianos (Cruden *et al.* 1983).

La preferencia de los visitantes legítimos por las flores en fase 1 y el bajo número de flores libadas por planta durante cada visita favoreció la xenogamia y abundante fructificación, sin embargo, ésta pudo haber sido mayor debido a que las precipitaciones condicionaban la actividad de estos visitantes.

Los individuos de la casta N° 1 de *B. atratus* y los de *Centris* sp., por su comportamiento, frecuencia de visitas y la transferencia de polen conoespecífico entre plantas, serían los polinizadores efectivos. Los restantes visitantes legítimos, dada su baja frecuencia, discontinuidad o preferencia por otras especies en flor, no parecen ser efectivos.

El aumento del éxito reproductivo como resultado de las polinizaciones cruzadas realizadas por los visitantes, debería ser tenido en cuenta por los encargados del rejuvenecimiento y multiplicación de semillas en los bancos de germoplasma. Al sembrar conjuntamente varias

entradas correspondientes a distintos cultivares o variedades, se realizaría un intercambio no deseado de material genético, como consecuencia de la acción de los visitantes legítimos. Hasta que los experimentos que se están llevando a cabo en invernadero no indiquen lo contrario, es aconsejable diseñar los cultivos en viveros acondicionados para impedir el acceso de los visitantes florales o bien realizar la siembra en parcelas aisladas entre sí.

AGRADECIMIENTOS

Las autoras agradecen a N. Gill y a A. Martínez por su ayuda durante las observaciones de campo, a A. Roig Alsina por la determinación de los himenópteros y sus valiosos comentarios, a R. Palacios por la lectura crítica del manuscrito, a la Universidad de Buenos Aires y al CONICET por los subsidios otorgados, con parte de los cuales fue financiada la presente investigación.

RESUMEN

Las observaciones realizadas sobre la biología floral y los experimentos realizados para conocer el sistema reproductivo permiten concluir que: 1. la antesis dura de 9-13 horas y pueden reconocerse dos fases florales, en la segunda el estigma no está receptivo; 2. el estigma se encuentra receptivo en los capullos, cuando las anteras no están dehiscientes, por lo tanto las flores son protóginas; 3. el néctar es secretado durante la fase 1; 4. la composición del néctar reúne las características de las plantas melitófilas; 5. ni la lluvia ni la llovizna afectan la composición del néctar o la viabilidad polínica debido a que se encuentran protegidos, pero afectan el trabajo de los polinizadores; 6. las flores son papilionadas, están adaptadas a himenópteros medianos y la transferencia polínica es nototriba; el polen es presentado en los tricomas estilares; 7. los valores obtenidos del ISI y del RRS muestran que la variedad es parcialmente autocompatible, por lo tanto su éxito reproductivo aumenta si trabajan los polinizadores; 8. individuos de *Centris* sp. y una casta de *Bombus atratus* son los visitantes legítimos más importantes, porque trabajan en todas las plantas conoespecíficas y liban néctar en pocas flores (en fase 1) por planta durante cada visita, mientras que individuos de *Bombus opifex*, otra casta de *Bombus atratus* y *Megachile* spp., aunque son visitantes legítimos, trabajan con menor frecuencia y constancia; 9. algunos lepidópteros son ladrones de néctar porque liban pero no desencadenan el mecanismo de transferencia polínica

REFERENCIAS

- Baudet, J. C. 1977. Origine et classification des espèces cultivées du genre *Phaseolus*. Bull. Soc. Roy. Bot. Belg. 110: 65-76.
- Burkart, A. 1952. Las leguminosas argentinas silvestres y cultivadas. Acme, Buenos Aires. 569 p.
- Cruden, R. W., S. M. Hermann & S. Peterson. 1983. Patterns of nectar production and plant-pollinator coevolution p.: 80-125. In B. Bentley & Th. Elías (eds.). The biology of Nectaries. Columbia University, Itaca, Nueva York.
- Dafni, A. 1992. Pollination Ecology. A practical approach. Oxford University, Oxford. 250 p.
- Debouck, D. 1988, p. 3-29. P. In Gepts (ed.). Genetic Resources of *Phaseolus* beans. Kluwer Academic, Dordrecht, Holanda.
- Delgado Salinas, A., A. Bonnet & P. Gepts. 1988. p. 163-184. In Gepts (ed.) Genetic Resources of *Phaseolus* beans. Kluwer Academic, Dordrecht, Holanda.
- Erdtman, G. 1952. Pollen morphology and plant taxonomy. Angiosperms. (An introduction to palynology I). Almquist & Wicksell, Estocolmo. 539 p.
- Faegri, K. & L. Van der Pijl. 1979. The Principles of Pollination Ecology. Pergamon, Oxford. 244 p.
- Freyre, R., R. Ríos, L. Guzmán, D. G. Debouck & E. Gepts. 1996. Ecogeographic distribution of *Phaseolus* spp. (Fabaceae) in Bolivia. Econ. Bot. 50: 195-215.
- Genise, J., R. A. Palacios, P. S. Hoc, R. Carrizo, L. Moffat, M. P. Mom, M. A. Agulló, P. Picca & S. Torregrosa. 1990. Observaciones sobre la biología floral de *Prosopis* (Leguminosae, Mimosoideae). II. Fases florales y visitantes en el distrito chaqueño serrano. Darwiniana 30: 71-85.
- Greissl, R. 1989. Vitality analysis of monadic and polyadic pollen grains using optical contrast fluorescence microscopy. Zeiss, Sci. and Techn. Inform. 15: 180-184.
- Hoc, P. S. & M. T. Amela García. 1998. Floral biology and reproductive system of *Phaseolus augusti* (Fabaceae). Beitr. Biol. Pflanzen 70, (en prensa).
- Mc Gregor, S. E. 1976. Insect pollination of cultivated plant crops. U. S. Dep. Agric. Handbook 496. 411 p.
- Nakamura, R. R. 1988. Seed abortion and seed variation within fruits of *Phaseolus vulgaris*: pollen donor and resource limitation effects. Amer. J. Bot. 75: 1003-1010.
- Osborn, M. M., P. G. Kevan & M. A. Lane. 1988. Pollination biology of *Opuntia polyacantha* and *Opuntia phaeacantha* (Cactaceae) in Southern Colorado. Pl. Syst. Evol. 159: 85-94.
- Stanton, M. L. & R. E. Preston. 1988. A cualitative model for evaluating the effects of flower attractiveness on male and female fitness in plants. Am. J. Bot. 75: 540-544.
- Zapata, T. R. & M. T. K. Arroyo. 1978. Plant reproductive ecology of a secondary deciduous tropical forest in Venezuela. Biotropica 10: 221-230.