



FACULTAD DE AGRONOMIA
D. PARTAMENTO DE DOCUMENTACION Y BIBLIOTECA

UNIVERSIDAD DE LA REPUBLICA ORIENTAL DEL URUGUAY
FACULTAD DE AGRONOMIA
CATEDRA DE BOTANICA

DESARROLLO Y ONTOGENIA DE LA SEMILLA DE PASPALUM
DILATATUM

(Trabajo de práctica de quinto año)

Enrique J. Valdés Barreiro

MONTEVIDEO
MARZO DE 1976

FACULTAD DE AGRONOMIA



DEPARTAMENTO DE
DOCUMENTACION Y
BIBLIOTECA

28 JUL. 1976

RECONOCIMIENTOS

Debo dejar expresa constancia de mi reconocimiento al Profesor de Botánica de la Facultad de Agronomía Ing. Agr. Bernardo Rosengurtt, gracias a cuya dirección, supervisión general y otorgamiento de facilidades diversas, fué posible la realización de este trabajo.

No menor es la ayuda recibida de la Profesora Adjunta de Botánica Ing. Agr. Primavera Izaguirre de Artucio, a quien debo entera gratitud por la orientación recibida en cuanto a los objetivos propuestos, su guía y asistencia tanto en la búsqueda de antecedentes y bibliografía auxiliar, como en la solución de numerosas dificultades presentadas en el curso del trabajo, tanto en las técnicas de laboratorio como en la interpretación de las preparaciones, en un material de naturaleza bastante compleja. Su lectura crítica del manuscrito clarificó conceptos que eran expuestos de manera ambigua y aun abstrusa. Este agradecimiento lo hago extensivo al profesor Asistente Ing. Agr. Gonzalo Ziliani. Sugerencias y explicaciones del restante personal docente de la Cátedra de Botánica me fueron de gran utilidad para la realización de los dibujos y en otras circunstancias.

Especial expresión de reconocimiento debo al Preparador de la misma Cátedra Sr. Julio Ren, gracias a cuya destreza y experiencia fué posible obtener aceptables cortes de ovarios con un instrumento en uso desde hace décadas.

La generosidad de otras Cátedras y la ayuda ocasional de otras personas de la Facultad de Agronomía, que sería imposible detallar, me resultaron de inestimable valor para la obtención de productos químicos y material de laboratorio, documentación bibliográfica, realización de fotocopias, etc.

La recolección y determinación de la especie de micro-himenópteros hallada en las espiguillas de la especie estudiada se debe a la amistosa cooperación del ex-profesor Asistente de Entomología Br. Carlos Morey Tremoleras.

Por gentileza del Ing. Agr. Gastón Navarro, en la oportunidad Jefe del Sector Investigaciones Agronómicas de A.N.C.A.P. y de la Ing. Agr. Irene Silingauskas de Sarro fué posible obtener muchos de los trabajos sobre el tema en estudio, publicados en las revistas *Agronomy Journal* y *Crop Science*.

A la Investigadora Asistente Lic. Nadir Brum de Zorrilla, de la División Citogenética del Instituto de Ciencias Biológicas debo las facilidades para el uso del Foto-Microscopio Zeiss y laboratorio fotográfico de aquel Centro. Con anterioridad el Dr. Máximo Drets, Jefe de División del mismo Instituto había puesto a mi disposición este instrumental. A ellos mi total agradecimiento.

El Ing. Agr. Juan Carlos Millot, del Centro de Investigaciones A-

grícolas "Dr. A. Boerger" leyó gran parte del manuscrito, el que gracias a sus acertadas sugerencias fué provechosamente corregido. La oportunidad de observar la profusa variabilidad en las estirpes o biotipos de Paspalum dilatatum que él ha logrado reunir, y las reiteradas conversiones, me han resultado de inestimable valor. De ellas han surgido una mayor amplitud de perspectiva y un mejor conocimiento de la esencia del problema, del cual este estudio es un parcial y modesto aporte.-

I N D I C E

	Pag.
INTRODUCCION.	1
ANTECEDENTES.	3
MATERIAL Y METODOS.	4
DESCRIPCION DE LA PLANTA ESTUDIADA.	5
OBSERVACIONES	6
CONCLUSIONES.	13
BIBLIOGRAFIA.	16
EXPLICACION DE FIGURAS Y FOTOGRAFIAS.	18

INTRODUCCION

Paspalum dilatatum ssp. *dilatatum* ("pasto miel", "pata de gallina") es una importante gramínea perenne, de ciclo estival, cuyo centro de origen es el Uruguay y regiones vecinas (22). Pertenece a la Tribu de las Paníceas. El género *Paspalum*, según Chase (1929) está representado por más de 400 especies distribuidas en zonas tropicales y cálidas del mundo (9).--

Naturalizada ampliamente en áreas de lluvias estivales o lugares favorecidos por la humedad del suelo en verano, es considerada, a título de ejemplo, como una valiosa base en la implantación de praderas en la costa australiana de Nueva Gales del Sur, de clima comparable al de Uruguay. En esta zona se asocia bien con el trébol blanco y el subterráneo, en campos mejorados. En estas condiciones, su valor nutritivo se ve altamente favorecido (7).--

Esta aptitud forrajera ha determinado que en las principales regiones donde ha sido introducida (EE.UU., Australia, Nueva Zelandia, etc.) se dediquen intensos estudios a muy diversos aspectos de su comportamiento en la pradera, características morfológicas y fisiológicas, incluyendo los problemas reproductivos que determinan una deficiente producción de semilla.--

No obstante la carencia de información disponible sobre dichos procesos reproductivos, la especie considerada, como muchas otras gramíneas, ha sido llevada al uso y cultivo por las cualidades ya mencionadas.-- Rosengurtt y otros expresan:

"Los ganaderos o agricultores que viven todo el año en sus campos o praderas deben iniciar "a mano" y "a ojo" el semillero de las buenas "estirpes o especies, importadas y nativas, y después de conocerlas repetidamente a través de años llovedores y secos, helados y calurosos, "la experiencia indicará dónde y cuándo ir a la extensión y la mecanización. La perspicacia inteligente y sensata de los agricultores sintetiza y ecuaciona intuitiva, económica y rápidamente numerosos factores fisiológicos, ecológicos, agrícolas y ganaderos visibles a ojo limpio. "Cuando los agricultores lleguen a dificultades insolubles con sus recursos, pero definidas y concretas, entonces deberá discernirse si es oportuno ocupar a científicos de entrenamiento costoso en largos programas "de Laboratorio.--"

"En resumen, la primera etapa de la introducción al cultivo de los

"buenos pastos es de los agricultores y ganaderos,"

"La dificultad más frecuente para quienes se inician en la producción de "semillas" de pastos, es usar "granos" que no contienen cariopos y consisten sólo de envolturas vacías (glumas y glumelas);" (22)

Naturalmente, los trabajos emprendidos para resolver, en último término, el problema de la pobre producción de semilla, tienen que ver con los procesos de formación de los gametos femeninos y masculinos, fecundación y posterior desarrollo de la semilla o cariopse, además de la influencia de factores ambientales. En *Paspalum dilatatum* ssp. *dilatatum* como en otras especies y particularmente en muchas gramíneas, tales procesos sexuales se ven alterados en mayor o menor grado por el fenómeno de la apomixis. Tal perturbación de la sexualidad llega a reducir enormemente la producción de semilla y limita por otro lado cualquier programa de mejoramiento de la especie.-

Las investigaciones sobre la formación del saco embrionario, fecundación y embriogénesis de *P. dilatatum* ssp. *dilatatum* se han realizado en el extranjero con introducciones desde el Uruguay y regiones próximas. Tales introducciones limitan la variabilidad de los tipos estudiados y las conclusiones podrían no tener validez general. En este sentido las investigaciones que puedan realizarse en nuestro país contarán con una inmensa fuente de variación de formas, por ser el centro de origen tanto de la sub-especie *dilatatum* como de especies afines dentro del grupo *Dilatata*. Tales estudios pueden llevar a conclusiones de interés sobre los llamados "complejos agámicos" que interrelacionan apomixis, hibridación y poliploidía (23). Y dar una base sólida y metas definidas a la práctica del mejoramiento.-

El presente trabajo tiene por finalidad verificar para nuestro país los estudios realizados sobre el desarrollo del saco embrionario y embriogénesis de *Paspalum dilatatum* ssp. *dilatatum*, así como aportar algunas observaciones adicionales sobre esos puntos y la formación posterior del cariopse; en base a las observaciones obtenidas, se trata de confirmar el mecanismo reproductivo de la sub-especie.-

ANTECEDENTES

Para el Uruguay, el período de floración de *Paspalum dilatatum* ssp. *dilatatum* abarca desde noviembre hasta fines de marzo, y sazona a partir de diciembre. Vive en lugares variados en los campos, costados de caminos, poblaciones, etc.; abunda en regiones de suelo fértil. Apetecido cuando joven, muy productivo (22). Se ha observado para la zona de Palleros (Departamento de Cerro Largo) su lozanía en el tapiz que se beneficia del abonado animal y el vigor y frecuencia que adquiere en campos aliviados o sin pastoreo (19). También es citado como predominante junto a *Paspalum notatum*, *Axonopus compressus* y otras paníceas y andropogóneas perennes, en los granillares de los suelos ricos y profundos de zonas correspondientes a la Capa de Fray Bentos; Rincón de las Gallinas, Mercedes, Bizcocho, Cololó, Young, Arroyo Negro, etc., como asimismo en el extremo norte (Artigas, norte de Salto) y en campos fértiles y engordadores de otras zonas del país (20). Se anota para el Departamento de Soriano (Estación Juan Jackson) que prospera en los campos de suelos muy buenos y en lugares abonados, mientras que en suelos pobres vive bien cuando no se paca, o cuando la carga animal se gradúa de acuerdo a la aptitud del suelo. La adaptabilidad a diferentes condiciones de suelo y humedad parece ser muy amplia en el país. La dificultad en divulgar su cultivo estriba en la baja producción de semilla, cuyo costo resulta muy elevado (21).--

Ya se señalaba en 1945 por Burton y en 1948 por Smith, basados en estudios citológicos y análisis de la descendencia, la posibilidad de que la apomixis fuera la forma reproductiva de esta especie (2).--

Posteriores estudios de Bashaw y Holt, en 1958 inducen a sugerir la existencia de apomixis obligada, a través de la formación de sacos apospóricos, desarrollo autónomo del embrión y la necesidad de polinización para el desarrollo del endosperma de la semilla (2).--

La apomixis ha sido indicada como el mecanismo probable de propagación para más de la mitad de las especies del género *Paspalum* (3). Precisamente la versatilidad de la apomixis en la formación de especies se muestra con mayor evidencia en este género, donde coexisten especies apo

míticas y sexuales relacionadas, capaces de hibridarse y producir continuamente nuevas formas (3). La característica de algunos de estos híbridos apomíticos es la severa limitación de la fertilidad, compensada por un gran vigor y alto potencial de variación cuando la sexualidad es ocasionalmente liberada. El hallazgo reciente por Juan C. Millot (comunicación verbal) de un biotipo de *Paspalum dilatatum* ssp. *dilatatum* con un amplio rango de variación en la progenie, supone la aparición de formas sexuales espontáneas.-

En esta especie, la esterilidad se manifiesta por una muy baja formación de "semilla llena" en la inflorescencia, que rara vez pasa del 40 % y normalmente es inferior al 20 % (1).-

MATERIAL Y METODOS

Se usó como material de estudio un espécimen de *Paspalum dilatatum* ssp. *dilatatum* (tipo común) encontrado en la zona de Toledo, Departamento de Canelones y trasladado al Jardín de Botánica de la Facultad de Agronomía. El ejemplar se encuentra herborizado con el N^o 12684 en el Herbario de la Cátedra de Botánica. Para la descripción botánica se sigue la terminología usada por Rosengurtt, Arrillaga de Maffei e Izaguirre de Artucio (22).-

Las espigas se fijaron en F.A.A. (mezcla de formol, ácido acético glacial y alcohol etílico, en la proporción 5:5:90) y F.P.A. (formol, ácido propiónico y alcohol etílico, en la misma proporción), usándose en todos los casos una bomba de vacío para facilitar la penetración del fijador. Este material se guardó hasta su utilización en alcohol etílico al 70 %.-

Se disecaron bajo lupa los ovarios de espiguillas en estados progresivos de madurez, con la inflorescencia aun envuelta por la vaina hasta la anthesis y estados posteriores hasta la formación del cariopse.-

Después de una tinción previa en eritrosina (en solución alcohólica al 70%) para facilitar el manipuleo, los ovarios se deshidrataron con la técnica descrita por Johansen (14), utilizándose concentraciones progresivamente mayores de alcohol butílico terciario, en soluciones detalladas por E.C. Bashaw (no publicado), y se embebieron finalmente en pa-

rafina, incluyéndose en cada block series de cinco a doce ovarios. Este material fué seccionado en un micrótopo para parafina según Minot, marca Leitz, en láminas de espesor variable entre 10 y 14 micrones. Una vez fijadas al portaobjeto, las tirillas de secciones continuas se sometieron al proceso de coloración safranina O-fast-green, posterior decoloración diferencial con aceite de clavo y montadas con bálsamo del Canadá.--

Las fotografías se obtuvieron con un Foto-Microscopio Zeiss modelo III utilizándose película Kodak High Contrast y revelado en Microdol durante 9 minutos a 20° C. La fotografía D de la Lámina 1 se tomó con dispositivo de contraste de fases.--

El dibujo de la figura 1 se realizó con macollos e inflorescencias del espécimen, directamente del natural. Los dibujos de la figura 2 se realizaron utilizando una lupa marca Wild M 5 y tubo de dibujo. Para los dibujos de las figuras 3 al 11 se utilizó un microscopio Olympus Mod. ECE - Bi.--

Cada dibujo de las figuras 3 al 11 es el resultado de integrar los diversos elementos que van apareciendo en las sucesivas secciones de un mismo ovario.--

Para todos los dibujos se expresa la escala gráficamente, ya en centímetros, milímetros o micrones. La escala gráfica de la Lámina 1 (A) es válida para las restantes fotografías excepto la D de la misma Lámina, por lo que ésta lleva su propia escala.--

DESCRIPCION DE LA PLANTA ESTUDIADA

Corresponde a la sub-especie dilatatum. Para el Uruguay se han descripto 36 especies y 15 categorías infraespecíficas pertenecientes al Género (22).--

Planta herbácea, perenne, de ciclo estival. Espigas unilaterales, reunidas en panoja laxa, alternas, en número de 4 a 6 (3 - 7), mayores de 4 cm. en longitud, llegando a 11 cm. en las inferiores. Con pelos largos y sedosos en la inserción en el raquis. Espiguillas colocadas con la gluma II y lemma II adaxiales; de cara adaxial convexa y cara abaxial aproximadamente plana; faltan gluma I, pálea I y flor I. Espiguillas binadas, la externa pedunculada, la interna brevemente pedunculada

a sésil; dispuestas en cuatro carreras a lo largo de la espiga. Espiguilla de 3 - 4 mm. de longitud, de 2 - 2,7 mm. de ancho; relación long./ancho 1,5 - 1,7. Gluma II y lemma I membranosas, con 7 nervios poco perceptibles, no prominentes, con pelos sub-marginales de 1,5 - 3 mm., sedosos o lanosos. Gluma II mayor al antecio. Antecio II gruesamente coriáceo, oval a suborbicular, moreno, glabro, de 1,9 - 2,2 mm. de ancho. Anteras en número de 3, violáceas, insertas por sus respectivos filamentos en la base del ovario. Este con 2 estigmas violáceos. Cariopse sub-orbicular, poco más largo que ancho, de 1,4 - 1,6 mm. de ancho. Caña ascendente; panoja y espigas curvadas. Rizoma corto. Sin estolón. Prefoliación convolutada. Vaina cilíndrica hendida. Innovación intravaginal, comprimida y carenada, en la parte media o superior de las vainas; la carena se continúa en la parte inferior de la lámina. Lámina con el nervio medio engrosado y canaliculado en la base o poco más, de márgenes a veces violáceo y ondulado; de 6 - 12 (-15) mm. de ancho, de 10 - 40 (-60) mm. de longitud, de cara inferior glabra, cara superior con pelos largos y sedosos en la base. Lígula de 2 - 6 mm. membranacea. Pelos de la vaina sedosos, inferiormente engrosados, sobre tubérculos poco perceptibles.--

Desde el punto de vista citológico presenta 50 cromosomas somáticos que se comportan en la meiosis como 20 bivalentes y 10 univalentes (10). Se le interpreta como un pentaploide, con la constitución genómica AABBC, es decir, con tres genomios diferentes (17).--

OBSERVACIONES

El óvulo es anátropo, de forma casi esférica, adherido por un grueso funículo a la pared lateral del ovario.--

Las células del tejido nucelar, en la mitad basal del óvulo son isodiamétricas y grandes. Hacia la zona micropilar se vuelven comprimidas y dispuestas en forma radial desde el centro hacia los bordes, dejando bien delineada la micrópila.--

El tegumento interno, formado por dos capas de células, cubre totalmente a la nucela y se encuentra adosado a la epidermis de ésta. En el ápice conforma también la entrada micropilar. El tegumento externo cu

bre la zona micropilar y allí las dos capas de células que los constituyen se transforman en cinco a siete capas, formando un domo o ápice prominente (Lámina 1: A, B, C, E y H).--

Ya en estados tempranos, cuando todavía la inflorescencia se encuentra en el interior de la vaina, se forma el saco embrionario, a partir de una célula megaspórica funcional. Este saco incipiente crece a expensas de las células nucelares próximas, las que son despojadas de su contenido plasmático, del que van quedando relictos junto con las membranas, en el linde de la membrana del saco.--

Casi simultáneamente con el comienzo de las divisiones nucleares del saco, se ha observado en algunos cortes, que una o más células nucleares se agrandan y toman a la vez forma de saco, sus núcleos se vuelven grandes, perfectamente esféricos y toman el colorante intensamente. El citoplasma muestra a la vez grandes vacuolas (Figuras 3 y 4, Lámina 1:A). Estas células van tomando sitio en el espacio destinado al saco embrionario y en su competencia con éste lo comprimen y deforman. Por lo general se ha observado que el saco próximo a la micrópila, el que por su posición podría suponerse originado de la megáspora funcional (2), adquiere ventajas en el desarrollo, produciéndose normalmente las tres divisiones celulares que dan lugar al aparato oosférico en la zona micropilar (oófera y sinérgidas), dos núcleos polares y las antípodas, éstas a su vez sometidas a posteriores divisiones (figuras 3 y 4). En esta forma, los sacos apospóricos, es decir, de origen somático, se disponen paralelos al saco primario o en la zona basal del óvulo (figuras 4 y 5, Lámina 1: B y C), compitiendo con aquél en el crecimiento y desarrollándose a expensas del tejido nucelar.--

Así llegan a la madurez uno, dos o más sacos embrionarios.--

Las células antipodales fueron observadas en uno de los sacos del complejo, no pudiéndose determinar su presencia en los restantes. En un caso observado (figura 5) el saco que contenía aparentemente las antípodas (sacos inmaduros) y sinérgidas era prominente, pero no era el más próximo a la micrópila. Esta observación se repitió aunque no tan claramente en otros ovarios, lo que arroja dudas sobre la posibilidad de que

el saco de origen megaspórico, es decir, el que contiene todos los elementos de un saco sexual normal, pueda identificarse por su mayor proximidad a la micrópila.-

Antes de los cambios producidos en la estructura del saco por la recepción del tubo polínico, en lugar de los núcleos de las sinérgidas, se observa una mancha intensamente coloreada por el fast-green, de contornos festoneados, constituida por celulosa u otros hidratos de carbono (a parato filar, Jensen, 1965), ubicada junto a la micrópila y vecina a la oósfera. Esta estructura fué también observada en sacos apospóricos dispuestos en la parte basal del óvulo.-

La ausencia de sinérgidas organizadas en los sacos maduros hace sospechar que tales células degeneran con independencia de la entrada del tubo polínico. Se requerirían mayor número de observaciones para llegar a conclusiones más seguras.-

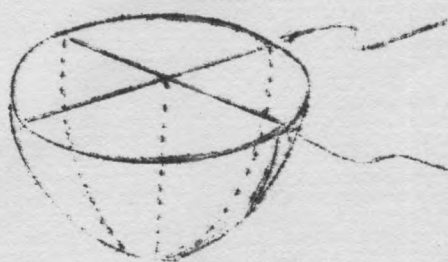
En las espiguillas fijadas durante la antesis fué posible observar un pequeño núcleo próximo a los polares al tiempo que era visible la media luna de cuerpos X rodeando la oósfera (figura 6). La fusión efectiva del segundo núcleo espermático con los núcleos polares concede muy pocas posibilidades de ser observada, por cuanto es un estado crítico, muy breve, en el proceso de la fertilización. Solamente la estrecha vecindad en que se detectaron y la subsiguiente e igualmente rápida división de los polares tomados en anafase (Lámina 1:D), en placas donde no se observó la permanencia de ningún otro elemento próximo, hace pensar que se ha ya producido realmente la triple fusión.-

A partir de la triple fusión, el núcleo resultante se divide (Lámina 1: D) dando comienzo al desarrollo del endosperma. Este es del tipo nuclear, es decir, no hay formación de paredes celulares durante las primeras divisiones (40 - 50 núcleos). Los núcleos se van disponiendo próximos a la periferia y el centro es ocupado por una gran vacuola.-

La especie muestra cierta variación en el proceso de formación del embrión. Por lo general la oósfera permanece inactiva y solamente se aprecia un aumento de su volumen en tanto se producen las primeras divisiones nucleares del endosperma. En un número de ovarios que puede consi

derarse no mayor al veinte por ciento, se observaron embriones con cierto desarrollo (dieciséis células) sin apreciarse signos de formación del endosperma (figura 7). Los núcleos polares, muy voluminosos, permanecen junto al embrión y aparentemente no ha habido fusión con el núcleo espermático. En este caso es destacable el racimo de células antipodales:-

La primera división de la oósfera es transversa con relación al eje mayor del saco embrionario, resultando una célula apical (a) pequeña y una basal (b) de mayor volumen. La siguiente división del pro-embrión es nuevamente transversal en la célula basal (b_1 y b_2), pero en la apical se produce longitudinalmente, originando dos células apicales a_1 y a_2 (Lámina 1: H). El proceso continúa con la división nuevamente en sentido longitudinal de las dos células apicales, pero esta vez según un plano perpendicular al de la primera división, dando lugar a cuatro células $a_{1.1}$, $a_{1.2}$, $a_{2.1}$ y $a_{2.2}$ (figura 8).-



plano de la primera división, que origina dos células apicales a_1 y a_2

plano de la segunda división, que origina cuatro células apicales $a_{1.1}$, $a_{1.2}$, $a_{2.1}$ y $a_{2.2}$

Entre tanto, en la célula adyacente a las apicales ocurre una división también según el plano longitudinal ($b_{2.1}$ y $b_{2.2}$). En cuanto a la célula basal, de lo observado se deduce que se produce una nueva división transversal ($b_{1.1}$ y $b_{1.2}$), resultando el conjunto en un pro-embrión de ocho núcleos. En pro-embriones de treinta y dos células (figura 9) se observa que han ocurrido divisiones longitudinales en dos capas de células apicales, tanto en planos frontales como sagitales. En las células basales, en cambio, los planos de división son transversales al eje longitudinal; se observan sin embargo algunos cortes sesgados. En la figura se aprecia una inminente división transversa. Otra observación destacable es la prominencia de la célula basal que dará origen al suspensor (Lámina 2:A).-

A esta altura los núcleos del endosperma se dividen profusamente y las paredes celulares que se empezaron a formar en la zona adyacente a la micrópila, rodean al pro-embrión, se extienden con rapidez y ocupan progresivamente la zona central donde desaparece la vacuola inicial.-

El endosperma aumenta el volumen a expensas del tejido de la nucela, el cual queda reducido en los últimos estadios, a una o dos capas de células colindantes con la epidermis nucelar, que desaparecen finalmente. No obstante, dos capas de células planas correspondientes al tegumento interno y la capa de células rectangulares correspondiente a la epidermis nucelar persisten y se adosarán a las paredes del ovario. Por otra parte, en cariopses prematuros, se observó que el tegumento externo desaparece completamente al progresar el desarrollo del endosperma (figura 10).-

Ocasionalmente se han encontrado óvulos con dos pro-embriones en desarrollo (Lámina 2: B). El escaso número de embriones múltiples que se han observado no explicaría por sí solo el colapso del ovario y la baja producción de semilla debido a una presunta competencia en su desarrollo. Por otra parte, el endosperma con dos pro-embriones ha logrado un desarrollo normal, en los casos observados.-

Los restantes sacos apospóricos se van desorganizando a medida que se desarrolla el endosperma del saco funcional. Es notable en este proceso la persistencia de los núcleos polares de los primeros, los que aun en estados muy avanzados en la formación del cariopse se distinguen claramente (Lámina 1: E, F, G; Lámina 2: C y D).-

Se ha observado en estos estadios la presencia de un tejido adyacente al endosperma, caracterizado por células con citoplasma denso y núcleos pequeños (Lámina 2: C). No se determinó su origen ni se ha seguido su evolución posterior, aunque podría presumirse "prima facie" que se trata de una proliferación de células antipodales. Se piensa, con referencia a otras gramíneas estudiadas, que las antipodales cumplen una función de nutrición del endosperma o de intermediarias en el crecimiento de éste a expensas del tejido nucelar.-

En el estudio del endosperma se han constatado dos tipos estructuralmente diferenciables: un tipo común (Lámina 2: A, B, C y D) con grandes y numerosas vacuolas, que relegan el contenido citoplásmico a una red que envuelve al núcleo e irradia hacia la pared celular. Durante el desarrollo, el espacio intercelular es bastante amplio, las células se muestran separadas y el conjunto presenta un aspecto laxo o disperso. Las células se van adosando finalmente y las paredes son en todo momento muy definidas. Se ha observado un segundo tipo de endosperma (Lámina 2:E), de aspecto denso, con menor número de vacuolas en relación con el tipo anterior, de forma esférica y más reducidas. El citoplasma ocupa la mayor parte del contenido celular. Las células están estrechamente adosadas, el conjunto es macizo y toma una coloración más intensa.-

El pericarpio se origina por transformación del tejido parenquimático que constituye la pared del ovario (figura 10). Esta pared, en el momento de la antesis, está formada por siete a ocho capas de células alargadas, dispuestas con el diámetro mayor en forma paralela a la epidermis. Las capas interiores están formadas por células más gruesas y las que constituyen las epidermis externa e interna son aplanadas y rectangulares.-

A medida que avanza la formación del cariopse, las células de las capas internas entran en colapso y se observan grandes espacios vacíos, primero en la zona media de la pared del ovario y más tarde en las zonas estilar y basal.-

Las capas restantes se comprimen, suberizan y adhieren a la epidermis nucelar, primero en la región basal, avanzando el proceso hacia el ápice del ovario. La epidermis nucelar conserva su identidad en el cariopse maduro, pero sus células aparecen desprovistas de contenido. Adh^{er}ida a su pared interna se observa la capa de aleurona.-

El embrión maduro ocupa la base y el lado dorsal del cariopse. El eje se constituye en la zona hipocotiledonar por la raíz primaria que se prolonga en la cofia o caliptra, envueltas por la coleoriza, y en la porción epicotiledonar por un coleoptile cónico que encierra dos primordios foliares, el mayor en posición opuesta al escutelo. Sobre la mitad del

eje se ubica el nudo cotiledonar y tejido procambial que se prolonga por el escutelo hacia su ápice.--

El escutelo rebasa en longitud al eje embrional y lo envuelve completamente en su cara interna (Lámina 2: H). La superficie opuesta del escutelo, convexa, está en contacto con las células del endosperma por una epidermis de células pequeñas y rectangulares. El resto del escutelo se constituye con células más voluminosas, con numerosas y pequeñas vacuolas.--

En inflorescencias avanzadas en la maduración pero aun verdes, junto a cariopses bastante desarrollados, permanece en las espigas un elevado número de espiguillas con ovarios no desarrollados. Estos presentan un aspecto exterior ligeramente diferente al de los ovarios en antesis. Se presentan algo mayores, tienen una coloración más pálida que aquéllos, y estigmas y estilos se muestran flácidos y alargados (figura 2: j). Se pudo comprobar que había habido extrusión o salida de las anteras. Seccionados con la misma técnica que los ovarios normales, revelan la estructura de los sacos previa a la antesis (Lámina 2: F, G), con la óosfera, dos prominentes y brillantes núcleos polares y las células antipodales. No se observaron núcleos de sinérgidas.--

Estas espiguillas aparentemente no fecundadas se encuentran al azar, aunque su alta frecuencia hace que muchas estén ubicadas consecutivamente en la espiga.--

Un recuento somero de semillas formadas dió como resultado que el número de cariopses fuera del 24 % en diciembre y descendiera en enero al 8,3 %.--

En este último mes se hizo un recuento comparativo con la sub-especie *flavescens*, sexual, de donde ésta resultó con un 73 % de "semilla llena".--

Durante el recuento de semillas efectuado en enero de 1976 se observaron larvas de micro-himenópteros alojadas en el antecio de la sub-especie *dilatatum* así como casos de cleistogamia. Las flores atacadas por el insecto, cuya identidad está siendo investigada, aun cuando tu-

vieran el ovario intacto, no proyectaron los estigmas y anteras, lo que no permitió determinar si hubo efectiva cleistogamia fisiológica.-

Cabe agregar que no se observó ataque del hongo *Claviceps paspali* ni de otros patógenos hasta la finalización de los trabajos, en la primera quincena de enero de 1976.-

FACULTAD DE AGRONOMIA

DEPARTAMENTO DE
DOCUMENTACION Y
BIBLIOTECA

CONCLUSIONES

- 1.- El estudio del desarrollo del gametofito femenino confirma la formación de sacos embrionarios múltiples ya observados (2), de origen apospórico seguramente la mayoría, y posiblemente diplospóricos algunos.-
- 2.- No se constató ni la fusión con la oófera ni la proximidad con ésta del primer núcleo espermático, en los casos observados, y sí en cambio una profusión de cuerpos intensamente coloreados, observados por otra parte por Narayanaswami para *Paspalum scrobiculatum* L. (18).-
- 3.- La presencia de células antipodales en algunos de los sacos embrionarios múltiples, así como en sacos únicos (figuras 5, 6 y 7; Lámina 2: G) ha originado interpretaciones divergentes en cuanto a la naturaleza sexual o somática de éstos. Burton, Millot, Powell y Hanna (11) distinguen los sacos apomícticos de *Panicum maximum* Jacq. por la ausencia de células antipodales y consideran esta carencia como un criterio útil para la identificación de óvulos con un único saco apospórico. Por su parte Burson y Bennett, en el análisis de sacos de *Paspalum nicorae* Parodi (8) señalan que la existencia de antipodales es engañosa, ya que normalmente están ausentes en sacos apospóricos. Estas dan la apariencia de sacos sexuales, especialmente cuando madura uno sólo en el óvulo. Citan la presencia de antipodales en los sacos apospóricos de *Paspalum secans* Hitchc. y en sacos diplospóricos de *Paspalum orbiculare* Forst. En lo que se refiere al presente trabajo, en sacos con el

característico racimo de antipodales, se ha observado el desarrollo autónomo de pro-embriones muy probablemente partenogenéticos (figura 7). En tales sacos no se ha detectado la triple fusión (fertilización parcial) del gameto masculino y núcleos polares. Por otra parte la presencia de células antipodales es frecuente, sobre todo en sacos únicos, lo que induce a pensar que su origen es diplospórico, es decir, la célula madre es la megáspora funcional. Como no se han registrado casos de sexualidad natural en el tipo común de la sub-especie dilatatum y en los escasos híbridos obtenidos cruzando experimentalmente ésta por la sub-especie flavescens, se ha comprobado que la célula madre del tipo común no era reducida (6), se debe concluir que no se produce la meiosis normal en este caso, requisito que junto con la unión gamética define la sexualidad (23). Se considera por tanto inadecuado para la sub-especie en estudio, la caracterización de la naturaleza sexual o apomíctica de los sacos embrionarios por las células antipodales. En cambio, posiblemente se pueda atribuir su presencia a la naturaleza diplospórica de tales sacos.-

- 4.- La triple fusión del segundo núcleo espermático con los núcleos polares concuerda con la característica de los tipos de apomícticos donde es necesaria la polinización para el desarrollo continuado del endosperma, sin el cual el embrión no alcanza la madurez (seudogamia) (16).-
- 5.- El desarrollo del embrión y endosperma, una vez iniciado, es independiente del número de sacos embrionarios que contenga el óvulo. Estos se van reabsorbiendo y no interfieren en el crecimiento normal del cariopse.-
- 6.- El endosperma es del tipo nuclear durante la primera fase del desarrollo. Este sigue un patrón similar en todos los géneros de las Paníceas (18).-
- 7.- Los dos tipos de estructura del endosperma podrían ser una consecuencia de la variabilidad genética que transportan los gametos masculinos. Esta variabilidad encuentra su expresión fenotípica

- con la parcial fertilización del saco embrionario, al producirse la fusión del núcleo espermático con los núcleos polares.--
- 8.- Las primeras divisiones del pro-embrión siguen una secuencia definida, hasta por lo menos el estado de ocho células. No obstante, para Bennett (4) los planos de división celular no serían regulares. Este autor duda sobre su significación y se inclina a atribuir a los factores de crecimiento modificaciones en el desarrollo del conjunto del embrión.--
- 9.- El alto número de ovarios que permanece sin fecundar, dando lugar a "semilla vana", junto a las irregularidades meióticas que originan granos de polen con graves deficiencias cromosómicas (10), hacen pensar en una muy baja viabilidad de éstos. La esterilidad resultante de la no polinización o de la incapacidad del polen para desarrollarse y alcanzar el saco embrionario parece constituir un importante factor al considerarse la baja producción de semilla. Sin embargo, de ser la inviabilidad del polen la única causa, debería encontrarse, aunque esporádicamente, un individuo con una presencia casi total de semilla (6) (en el hipotético caso de que todas las flores de la panoja fueran polinizadas con polen con la dotación cromosómica completa). Como esto no ha sido observado, se supone que hay factores ambientales determinantes de la fertilidad. Trabajos efectuados en La Estanzuela en 1969 - 70 indican una estrecha asociación de la humedad del suelo, y en menor grado del fotoperíodo, con el porcentaje de semilla llena (15). El recuento de semilla efectuado en este trabajo, aunque muy somero, concuerda con las anteriores presunciones.--
- 10.- La constancia en la uniformidad de las progenies de la multitud de estirpes o biotipos con características morfológicas y fisiológicas diversas que se encuentran en el país (15), las observaciones citológicas que demuestran la extrema irregularidad meiótica en la microgametogénesis (10) y los estudios embriológicos, tienden a confirmar el mecanismo reproductivo de *Paspalum dilatatum* ssp. *dilatatum* como de apomixis obligada con pseudogamia.--
-

BIBLIOGRAFIA

- 1.- BASHAW, E.C. and FORBES, I. 1958. "Chromosome Numbers and Microsporogenesis in Dallisgrass *Paspalum dilatatum* Poir." Agr. J. 50: 441-445.
- 2.- BASHAW, E.C. and HOLT, E.C. 1958. "Megaspороgenesis, Embryo Sac Development and Embryogenesis in Dallisgrass, *Paspalum dilatatum* Poir." Agr. J. 50: 753-756.
- 3.- BASHAW, E.C., KOVIL, A.W. and HOLT, E.C. "Apomixis, its evolutionary significance and utilization in plant breeding." Proc. of the XI Int. Grassland Cong. 245-248. 1970.
- 4.- BENNETT, H.W. 1944. "Embryology of *Paspalum dilatatum*". The Bot. Gaz. 106: 40-45.
- 5.- BENNETT, H.W. and BASHAW, E.C. 1960. "An interspecific hybrid in *Paspalum*." J. of Hered. 51 (2).
- 6.- BENNETT, H.W., BURSON, B.L. and BASHAW, E.C. 1969. "Intraspecific Hybridization in Dallisgrass, *Paspalum dilatatum* Poir." Crop Sci. 9: 807-809.
- 7.- BREAKWELL, E. 1962. Anuario de la Sociedad de Mejoramiento de Praderas. N° 6: 17-24. Montevideo.
- 8.- BURSON, B.L. and BENNETT, H.W. 1970. "Cytology, Method of Reproduction, and Fertility of Brunswickgrass, *Paspalum nicorae* Parodi." Crop Sci. 10: 184-187.
- 9.- BURSON, B.L. and BENNETT, H.W. 1971. "Chromosome Numbers, Microsporogenesis, and Mode of Reproduction of Seven *Paspalum* Species." Crop Sci. 11: 292-294.
- 10.- COLL, Jorge J. "Citología de algunas especies nativas del género *Paspalum*." Tesis. Montevideo. 1975. Universidad de la República. Facultad de Agronomía.
- 11.- HANNA, W.W., POWELL, J.B., MILLOT, J.C., and BURTON, G.W. 1973. "Cytology of Obligate Sexual Plants in *Panicum maximum* Jacq. and Their Use in Controlled Hybrids." Crop Sci. 13: 695-697.
- 12.- HAYWARD, H.E. 1953. "Estructura de las plantas útiles." Buenos Aires. E. Acme S.A.
- 13.- JENSEN, W.A. 1965. "The Ultrastructure and Histochemistry of the Synergids of Cotton." Amer. J. Bot. 52 (3): 238-256.
- 14.- JOHANSEN, D.A. 1940. "Plant Microtechnique." N. York. Mc Graw-Hill Book Co. Inc.
- 15.- LA ESTANZUELA. Centro de Inv. Agr. "A. Boerger". 1971. "Producción de Semillas de *Paspalum dilatatum*". Reunión Técnica Organizada por el Plan Agropecuario. Tomo II, Cap. 7.

- 16.- MAHESHWARI, P. 1950. "An Introduction to the Embryology of Angiosperms." N. York. Mc Graw-Hill Book Co. Inc.
 - 17.- MORAES-FERNANDEZ, M.I.B. de, BARRETO, I.L. and SALZANO, F.M. 1968. "Cytogenetic, ecologic and morphologic studies in Brazilian forms of *Paspalum dilatatum*." Can. J. Genet. Cytol. 10: 131-138.
 - 18.- NARAYANASWAMI, S. 1954. "The Structure and Development of the Caryopsis in some Indian Millets. III. *Paspalum scrobiculatum* L." Bull. of the Torrey Bot. Club. 81:288-299.
 - 19.- ROSENGURTT, B. 1943. "Estudios sobre praderas naturales del Uruguay." 3a. Contribución. Montevideo.
 - 20.- ROSENGURTT, B. 1944. "Las formaciones campestres y herbáceas del Uruguay." 4a. Contribución. Montevideo. Revista AGROS, Nº 134.
 - 21.- ROSENGURTT, B. 1946. "Gramíneas y Leguminosas de Juan Jackson-Comportamiento en el campo y en cultivo". En: "Estudios sobre praderas naturales del Uruguay." 5a. Contribución. Montevideo.
 - 22.- ROSENGURTT, B., ARRILLAGA de MAFFEI, B.R. e IZAGUIRRE de ARTUCIO, P. 1970. "Gramíneas Uruguayas". Montevideo. Universidad de la República. Departamento de Publicaciones.
 - 23.- STEBBINS, G.L. 1950. "Variation and evolution in plants". N. York. Columbia University Press.
-

EXPLICACION DE FIGURAS Y FOTOGRAFIAS

- Fig. 1. Macollos e inflorescencias.
- Fig. 2. Espiguilla. (a) cara adaxial; gluma II; (b) cara abaxial; lemma I; (c) anteras, con las tecas abiertas. Antecio (d) cara adaxial; lemma II; (e) cara abaxial; pálea encerrada por los bordes de la lemma II; (f) cara dorsal de la pálea, con lodículas, estambres y estigmas, próximo a la antesis; (h) con junto de ovario y estambres; (i) ovario y estigmas, próximo a antesis. (j) Ovario disecado de una espiga próxima a la madurez, comparado con un cariopse de la misma espiga (explicación en el texto). (g) Perfil, cara dorsal y cara ventral del cariopse maduro.
- Fig. 3. Saco embrionario con seis núcleos y un saco apospórico incipiente.
- Fig. 4. Ovulo con cuatro sacos en formación; el mayor posiblemente de origen megaspórico, comprimido por los restantes, presenta sus núcleos sobre un eje casi perpendicular al de la disposición normal.
- Fig. 5. Ovulo con cuatro sacos embrionarios todavía inmaduros; el mayor, con oósfera, sinérgidas, núcleos polares y antípodas, se encuentra alejado de la micrópila.
- Fig. 6. Momento de la fertilización parcial de un saco único: un núcleo espermático próximo a los polares; la media luna de cuerpos X rodea la oósfera.
- Fig. 7. Desarrollo autónomo de un pro-embrión en un saco aparentemente no fertilizado (post-antesis); los núcleos polares permanecen inactivos; se advierte el contorno de la estructura filar y el racimo de células antipodales.
- Fig. 8. Desarrollo del pro-embrión; estado de ocho células; se observan núcleos del endosperma en desarrollo.
- Fig. 9. Pro-embrión de treinta y dos células; no se han representado todos los planos de división, por lo que aparenta haber más de un núcleo en algunas células; la prominente célula basal da origen al suspensor.
- Fig. 10. Corte sagital del cariopse próximo a la madurez; en este estado persiste la epidermis nucelar aunque desprovista de contenido celular y con la pared externa engrosada; las capas internas del pericarpio aparecen con grandes espacios intercelulares por reabsorción de las células que formaban las paredes del ovario.
- Fig. 11. Corte sagital del cariopse; se muestra la disposición del embrión sobre la base y la cara dorsal de la semilla.
-

- Lámina 1. A - Desarrollo de dos sacos embrionarios, el menor de origen nucelar;
- B y C - cortes consecutivos de un ovario: un saco apospórico con los núcleos polares y la óosfera dispuestos sobre el lado opuesto a la micrópila; la flecha indica el aparato filar;
- D - iniciación del desarrollo del endosperma; división del núcleo resultante de la triple fusión;
- E, F y G - cortes consecutivos de un óvulo con cinco sacos embrionarios, uno de ellos con embrión, endosperma en desarrollo y células antipodales; los restantes sacos en proceso de desintegración; las flechas indican los respectivos núcleos polares;
- H - pro-embrión de cuatro células, de las que se ven las dos apicales y una basal.

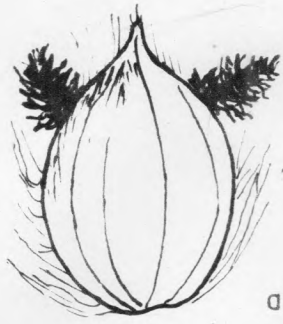
- Lámina 2. A - embrión multinucleado, con suspensor;
- B - cariopse en desarrollo con dos embriones; el que se observa en la parte inferior parece emerger de la masa del endosperma;
- C y D - persistencia de núcleos polares (marcados con flechas) de sacos apospóricos reabsorbidos, en estados avanzados de desarrollo del endosperma;
- E - endosperma de tipo denso o macizo, observable junto a ovarios con el tipo de endosperma de A y B;
- F y G - cortes consecutivos de un ovario no desarrollado, con un saco único; aparecen todos los elementos de un saco normal: óosfera, dos núcleos polares y las células antipodales; aparentemente no se ha producido la fecundación parcial que da origen al endosperma;
- H - corte sagital de un embrión ya formado.-

B. B. B.

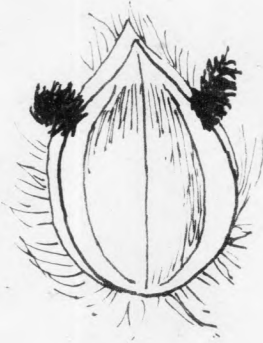


fig

E. Volz



a

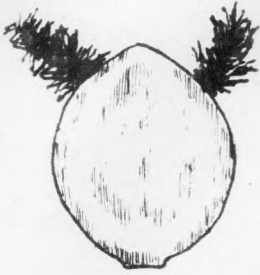


b

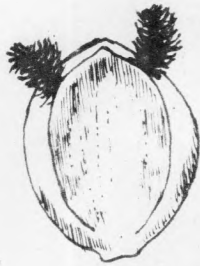


c

0
1
2 mm



d



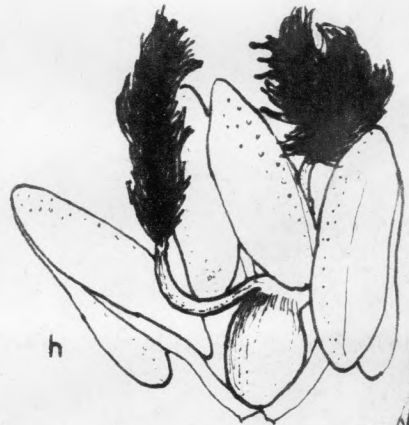
e



f



g

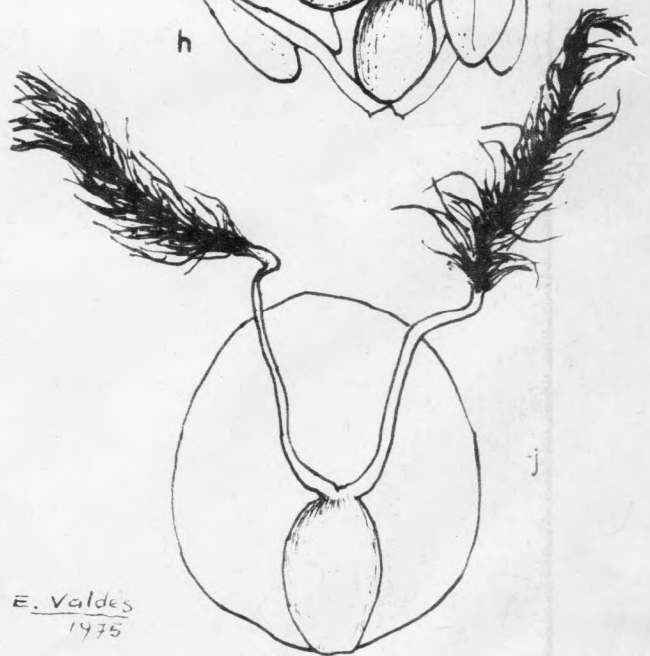


h



i

0
1
2 mm



j

fig. 2

E. Valdes
1975

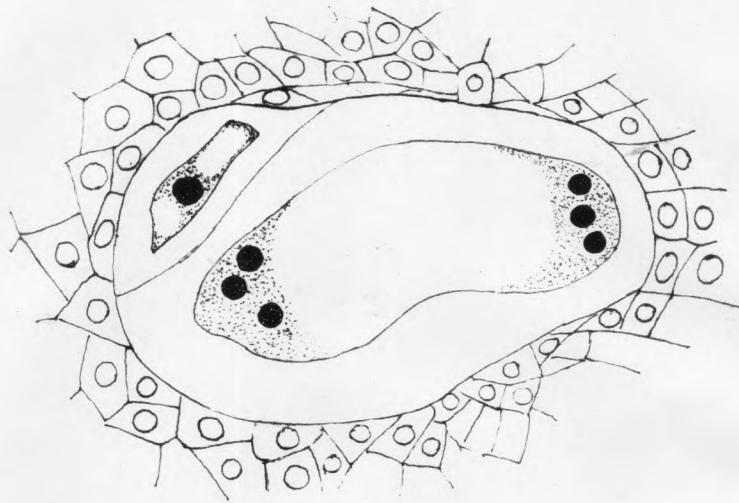


fig.3

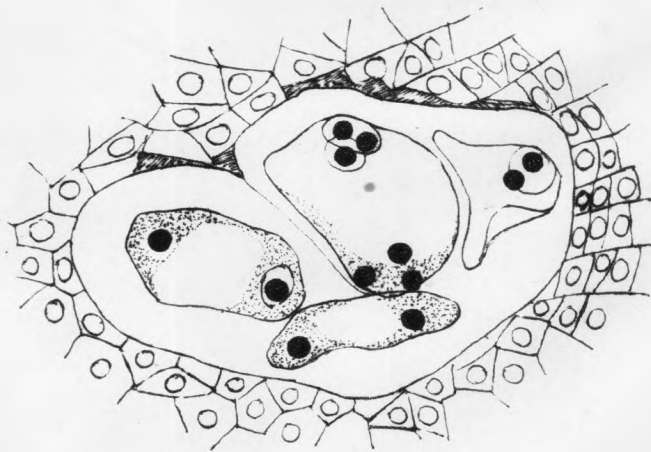
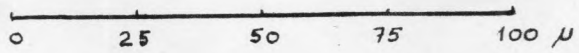


fig.4



E. Valdés
1975

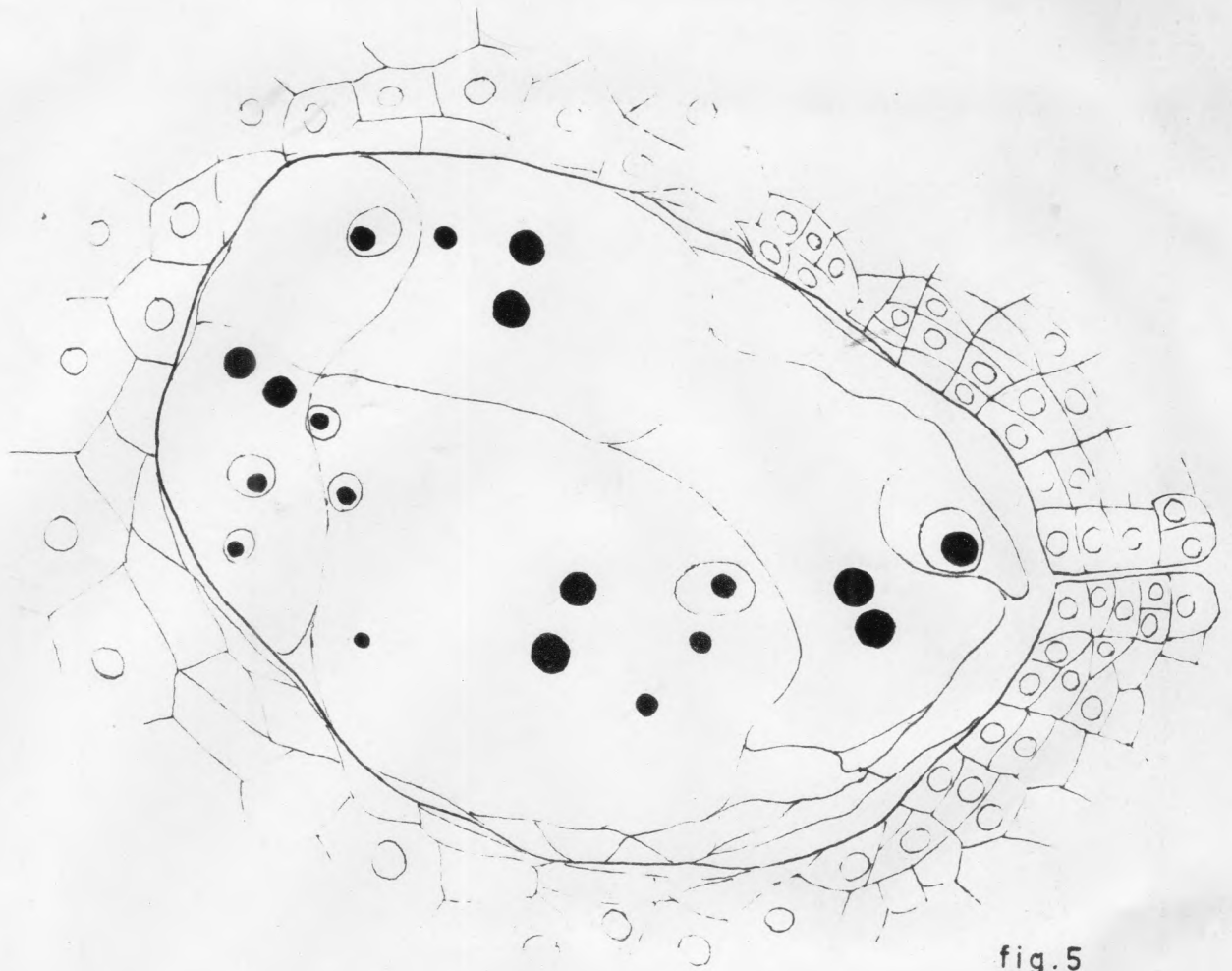
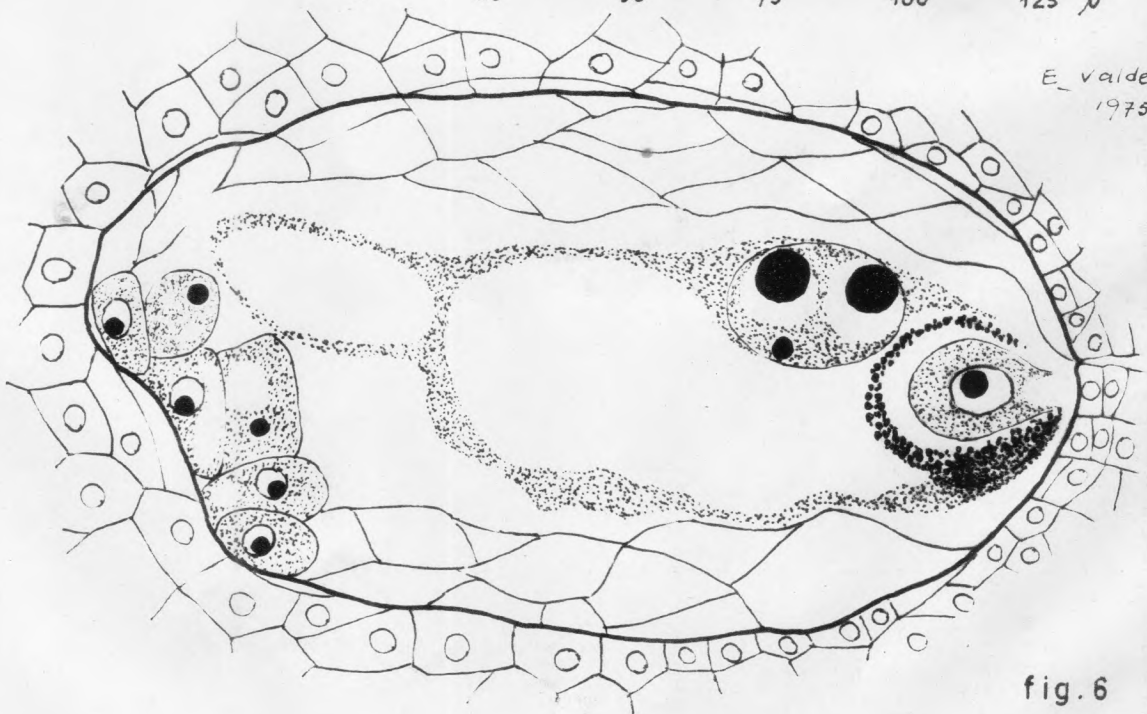


fig.5

0 25 50 75 100 125 μ



E. Valdes
1975

fig.6

0 25 50 75 100 125 μ

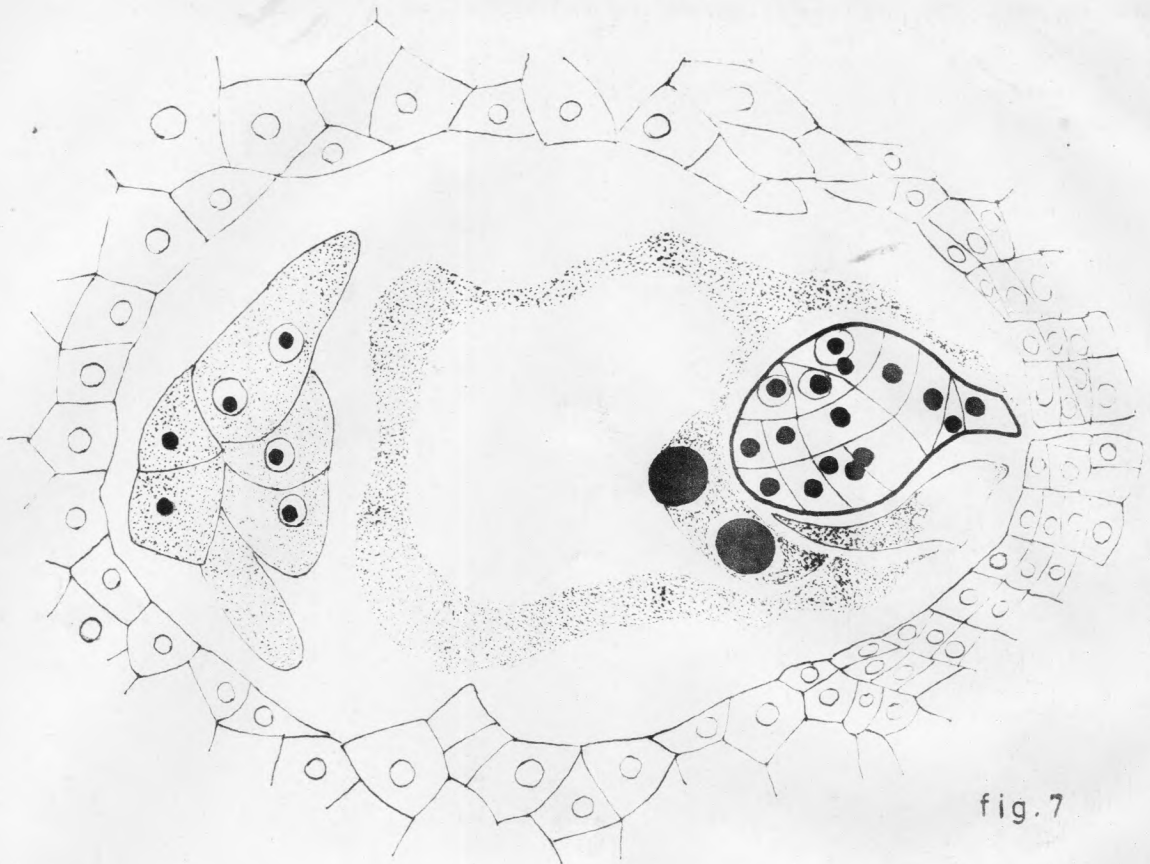
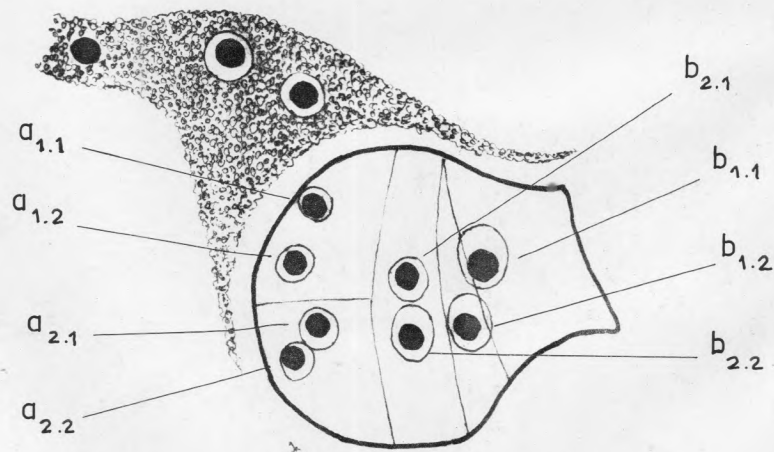


fig. 7

0 25 50 75 100 μ



a_{1.1}
a_{1.2}
a_{2.1}
a_{2.2}

b_{2.1}
b_{1.1}
b_{1.2}
b_{2.2}

fig. 8

0 10 20 30 40 50 μ

E. Valdés
1975

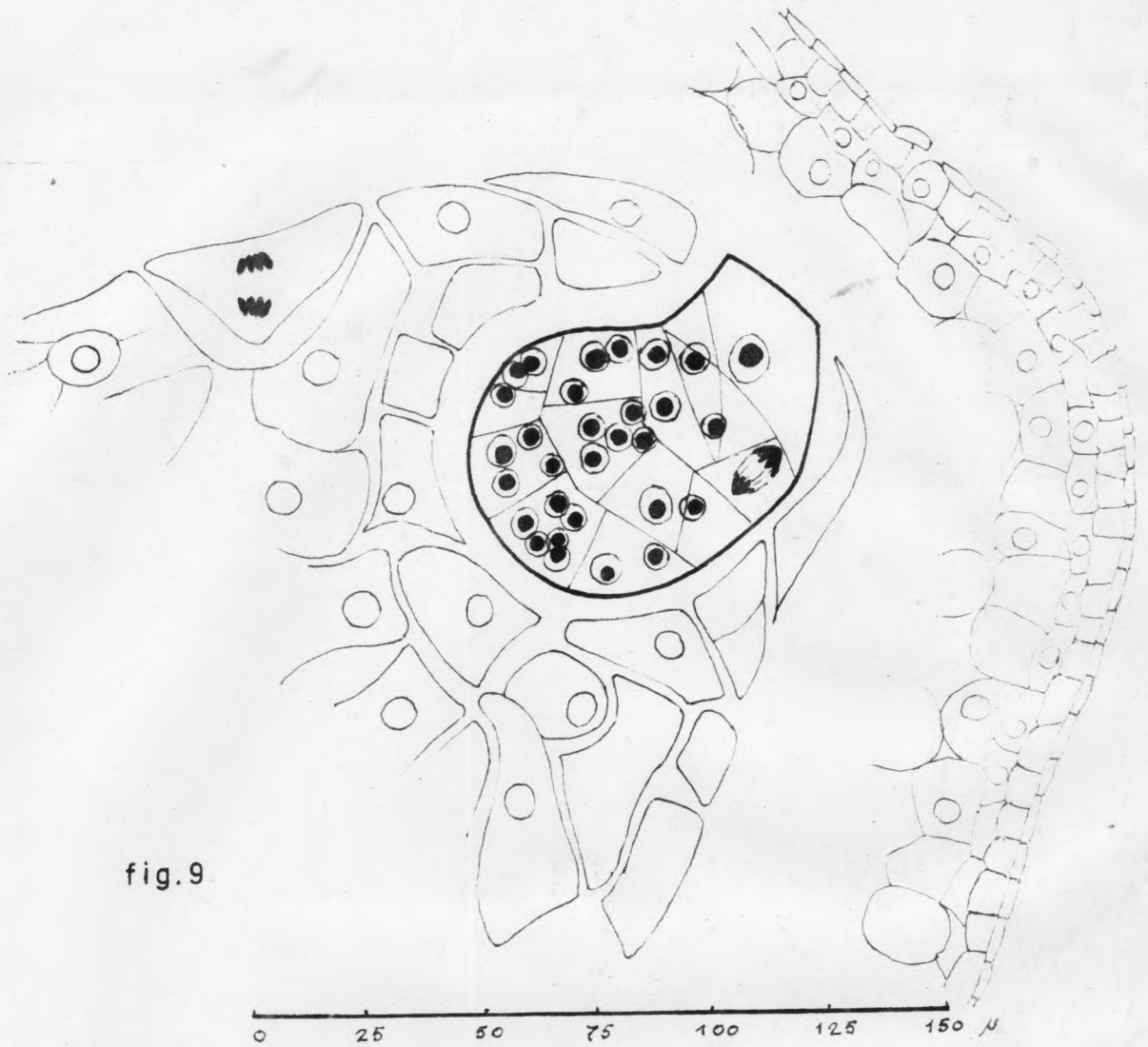


fig.9

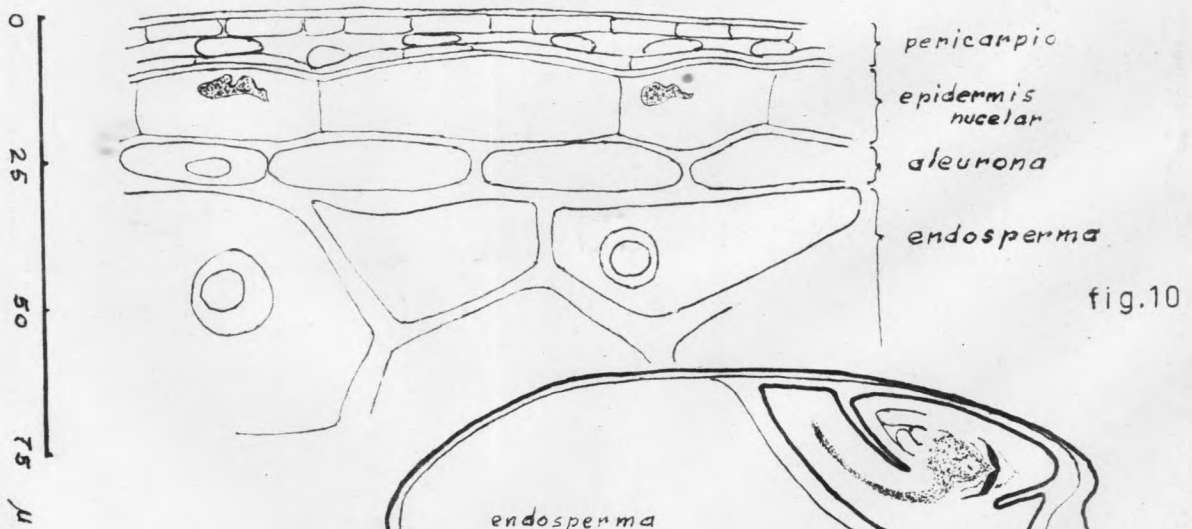
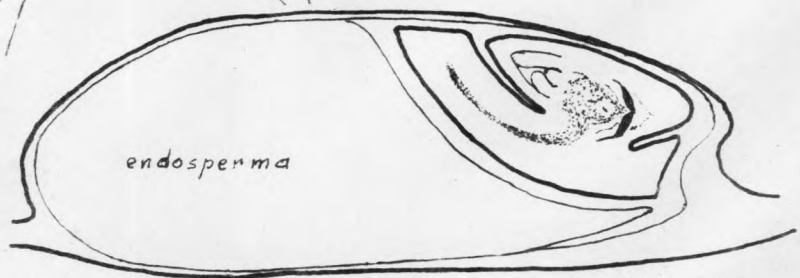
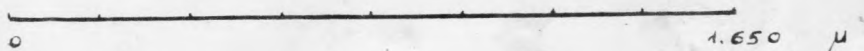


fig.10

fig.11



E. Valdes
1975



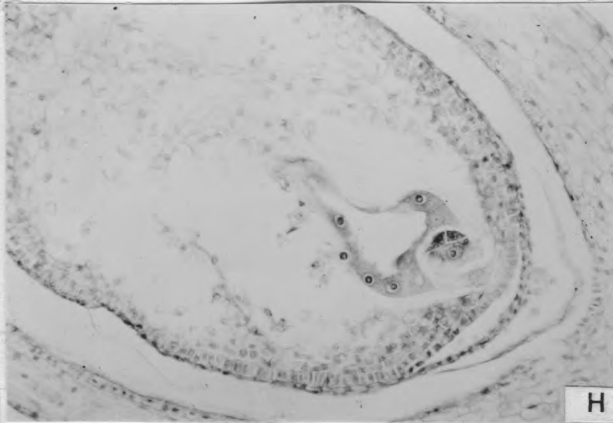
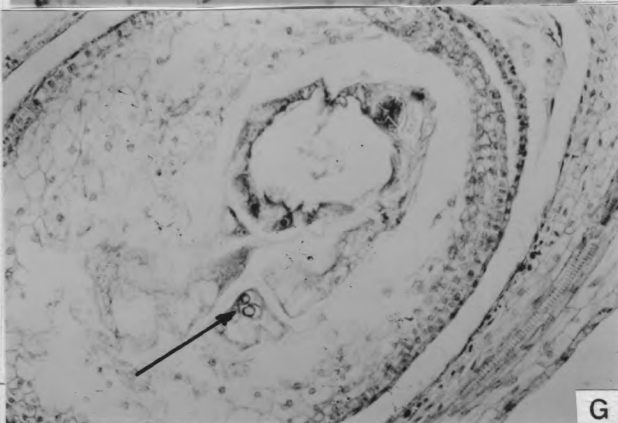
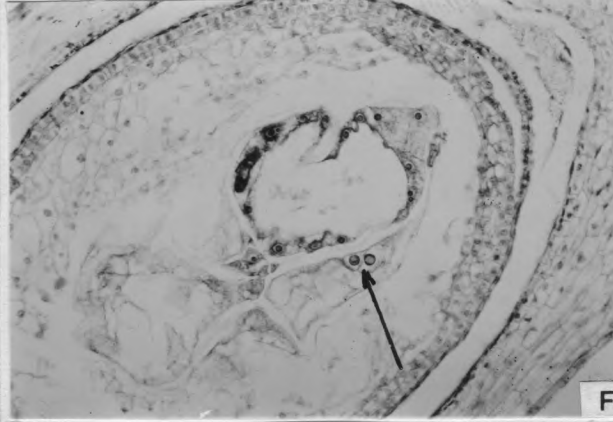
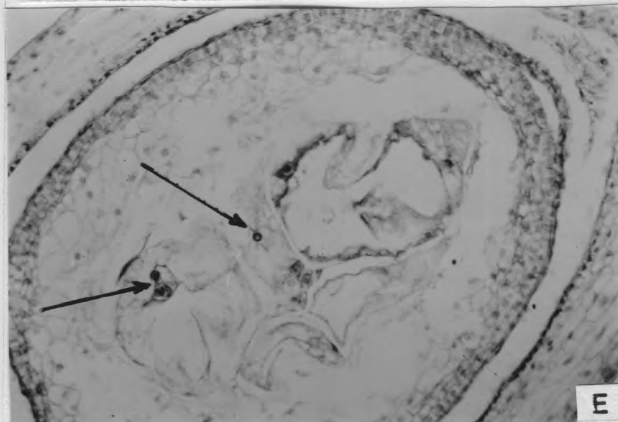
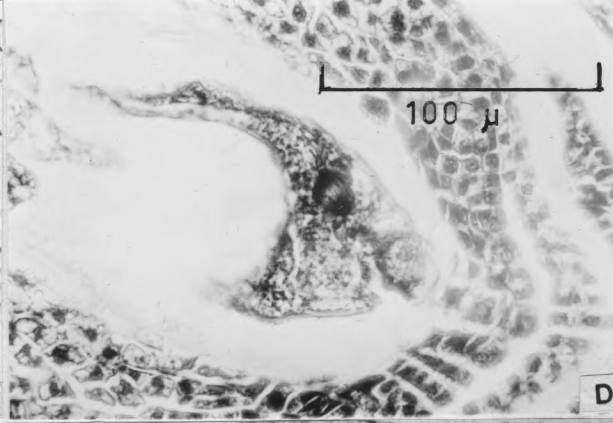
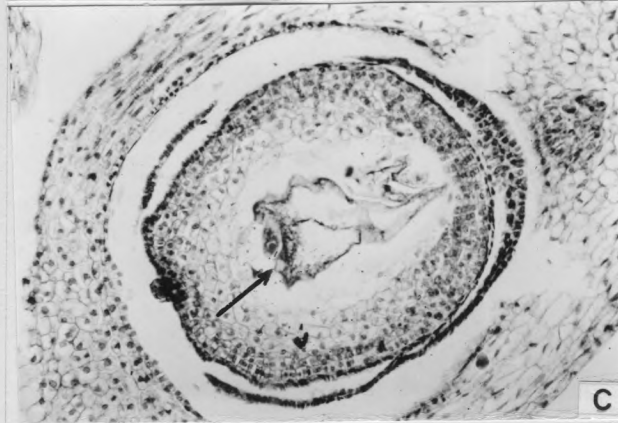
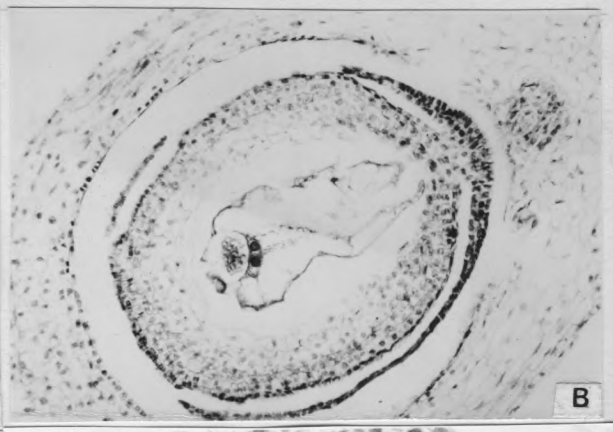
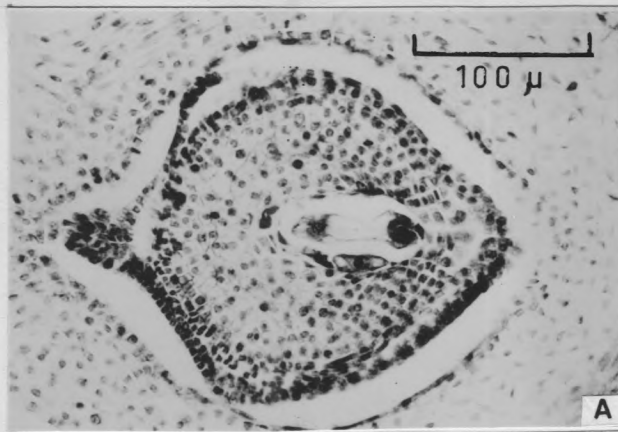


Lámina 1

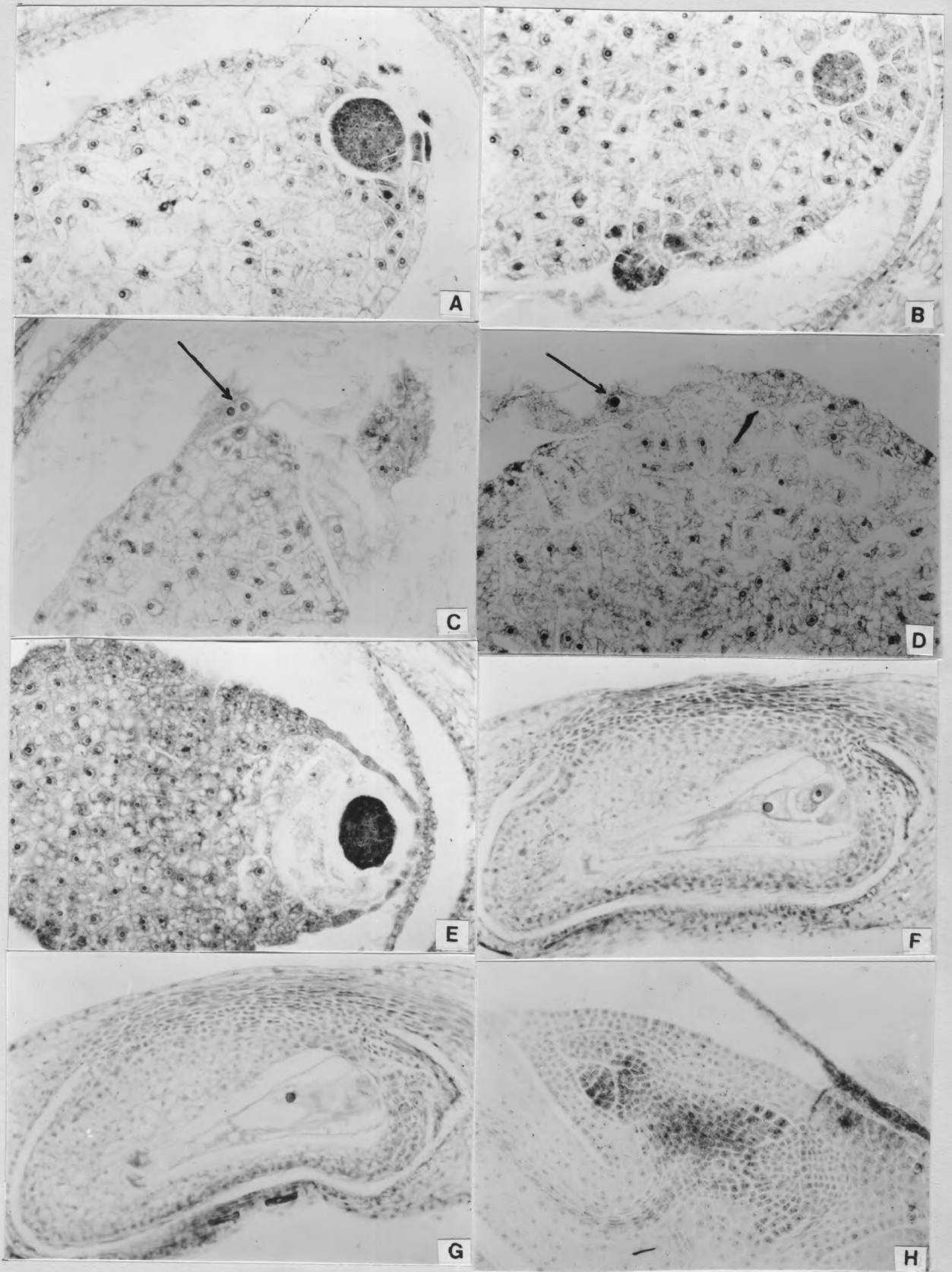


Lámina 2