

## Anatomía comparada de los cariósides de tres especies forrajeras (Gramineae) perennes de la región del Salado, Prov. de Buenos Aires, Argentina

M. R. LOVISOLO

Cátedra de Botánica I, Facultad de Ingeniería y Ciencias Agrarias, Universidad Nacional de Lomas de Zamora, Ruta 4 Km 2, 1836 Llavallol, Argentina

LOVISOLO M.R. 1997. Anatomía comparada de los cariósides de tres especies forrajeras (Gramineae) perennes de la región del Salado, Prov. de Buenos Aires, Argentina. Rev. Fac. Agron., La Plata 102 (2): 187-195.

Se ha estudiado la estructura externa e interna de los cariósides de las forrajeras características de los terrenos bajos de la cuenca del Salado, Prov. de Buenos Aires, Argentina. Las especies estudiadas pertenecen a la familia Gramineae (subfamilia Festucoideae) y son: *Arrhenatherum elatius*, *Festuca arundinacea* y *Phalaris aquatica*. Son todas de ciclo perenne con la mayor producción de volumen forrajero en otoño, invierno y primavera, encontrándose adaptadas a diversas condiciones del suelo.

**Palabras clave:** Gramineas, cariósido, pericarpio, embrión, endosperma.

LOVISOLO M.R. 1997. Comparative anatomy of the caryopsis of three perennial forage crops (Gramineae) from the Salado region, Buenos Aires province, Argentina. Rev. Fac. Agron., La Plata 102 (2): 187-195.

The external and internal structure of the caryopsis of forages, characteristic from the Salado region (Buenos Aires province, Argentina) was studied. All the species belong to the Gramineae family (Festucoideae subfamily) and they are: *Arrhenatherum elatius*, *Festuca arundinacea* y *Phalaris aquatica*. They are perennial with greater forage volume production in autumn, winter and spring and are adapted to diverse soil conditions.

**Key words:** Gramineae, caryopsis, pericarp, embryo, endosperm.

### INTRODUCCIÓN

Se describe la estructura externa e interna de los cariósides de tres especies de gran importancia forrajera. Se trata de especies perennes, introducidas, presentes en los terrenos bajos de la cuenca del Salado. El conocimiento de estas estructuras estudiadas, podría ser útil para distinguir más fácilmente las "semillas" de las tres pasturas.

Las especies estudiadas pertenecen a la familia Gramíneae (=Poaceae) y a la Subfamilia Festucoideae y son: Tribu Aveneae, *Arrhenatherum elatius* (L.) P. Beauv. ex J. Presl.; Tribu Festuceae, *Festuca arundinacea* Schreb.; Tribu Phalarideae, *Phalaris aquatica* L., se trata de plantas forrajeras de buena calidad, pero adaptadas a suelos diferentes.

Así, *Arrhenatherum elatius* ("Fromental") es poco resistente al pisoteo y pastoreo exce-

sivo y se la considera una buena forrajera adaptada a la región Patagónica (Nicora, 1978). *Festuca arundinacea* ("Festuca alta") y *Phalaris aquatica* ("Falaris bulbosa ó Mata dulce"), son importantes productoras de pasto de buena calidad que se adaptan a suelos bajos y arcillosos (Burkart, 1969). Tanto *Arrhenatherum elatius* como las dos últimas, forman parte de la sistematización del pastizal de la cuenca del Salado. Son relativamente escasas las publicaciones que brindan detalles sobre la estructura y anatomía de los cariósides de las Gramíneas, aunque estos han sido estudiados y descritos en forma general por diversos autores (Parodi, 1978 ; Esau, 1987). Son frutos secos indehiscentes, monotalámicos, derivados de ovario súpero, uniseminados, con el pericarpio adnato al tegumento y esta compuesto de afuera hacia adentro por: el pericarpio; restos del tegumento seminal y del nucelo; endosperma, donde se distingue una capa aleuronífera y una voluminosa reserva amilífera; y el embrión. El pericarpio presenta diferentes estados de desarrollo variando en el número de capas de acuerdo a la especie y madurez en que se encuentre. La mayoría de los trabajos realizados describen el pericarpio de sólo algunos cereales de importancia económica conocida para el hombre tales como: maíz (Wolf *et al.*, 1952), cebada, avena y sorgo (Roth, 1977). Otros autores estudian la morfología y anatomía del cariósido de algunos pastos naturales como: *Stipa brachychaeta* (Medan & de Eilberg, 1978; 1979), *Briza maxima* (Rost *et al.*, 1990) y *Paspalum dilatatum* (Izaguirre-Artucio & Ziliani, 1988). En cuanto a los estudios del endosperma se puede mencionar el trabajo de Laguardia (1975). Zee & O'Brien (1971) y Rost *et al.* (1970/1984) estudian la presencia de paredes plegadas, "transfer cells" según Gunning, Pate & Green (1970) en las células de la capa aleuronífera haciendo notar que este carácter es más marcado en la proximidad del embrión. Czaja (1978) clasifica los granos de almidón de algunas plantas vasculares y hace men-

ción, entre otras, al almidón compuesto en la subfamilia Festucoideae. El desarrollo y el origen de las partes del embrión de Gramíneas son hasta ahora temas de discusión entre los autores (Narayanaswami, 1961; Norstog, 1969; Guignard & Mestre, 1970; Swif & O'Brien, 1970; Guignard, 1974; Cocucci & Astegiano, 1978; Bourdu, 1983). Es importante destacar que Reeder (1957) ha usado caracteres del embrión que tienen relevancia taxonómica para caracterizar a las dos subfamilias Festucoideae y Panicoideae. Con estos caracteres ideó una fórmula que facilita el reconocimiento de los embriones de las dos subfamilias.

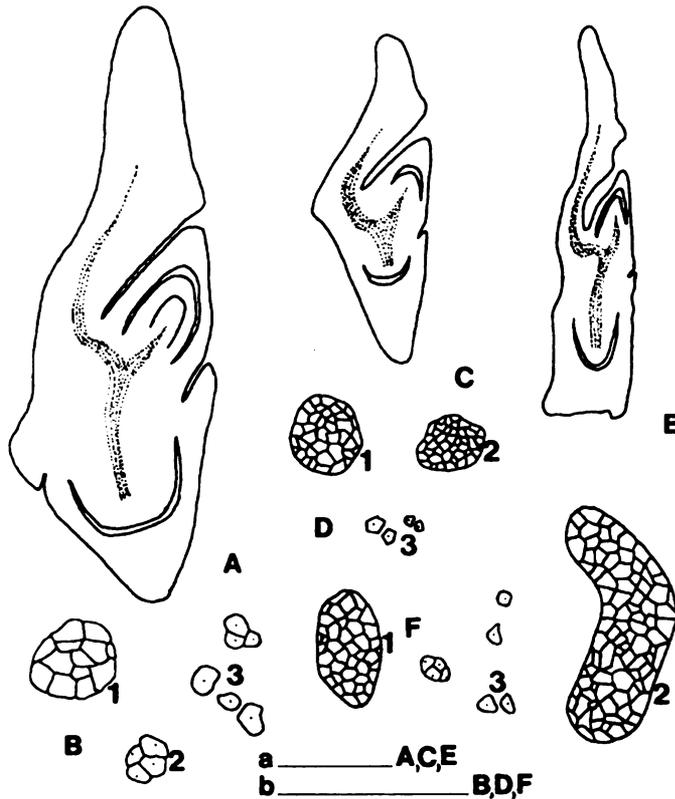
Resulta importante conocer las características externas e internas de los cariósides en estadio de madurez para cada una de las tres especies estudiadas, con el objeto de poseer material comparativo (tamaño y tipo de embrión, diferentes capas presentes en el fruto y tipo de endosperma) a fin de realizar ensayos de calidad de los frutos, análisis de pureza y poder germinativo. Esto permitirá, además, estandarizar en el Código Internacional de Semillas las reglas para su adecuado análisis.

## MATERIALES Y MÉTODOS

Los materiales fueron proporcionados por la Cátedra de Forrajicultura de la Facultad de Ingeniería y Ciencias Agrarias de la Universidad Nacional de Lomas de Zamora (Pcia. de Bs. As.), donde se encuentran cultivadas a partir de semillas.

Las inflorescencias previamente fijadas en F.A.A. se depositaron en la cátedra de Anatomía Vegetal, Fac. de Ciencias Exactas y Naturales (U.B.A.) con los números: 622, 623 y 624, respectivamente.

Para facilitar los cortes de los cariósides se procedió a hidrolizar parcialmente el almidón con una solución de ácido clorhídrico al 30%, dejándolo actuar durante tres días. Se



**Figura 1.** A-F. Embriones y granos de almidón de tres Gramíneas forrajeras: A,C,E, embrión en corte longitudinal; B,D,F, granos de amilidón compuestos: 1,2, grano completo; 3, granos individuales; A,B, *A. elatius*; C,D, *F. arundinacea*; E,F, *P. aquatica*; reglilla a, 250  $\mu$ m; reglilla b, 50  $\mu$ m.

A-F. Embryos and starch grains of three forages Gramíneae: A,C,E, embryos in longitudinal section; B,D,F, compound starch grains: 1,2, complete grain; 3, individual grains; A,B, *A. elatius*; C,D, *F. arundinacea*; E,F, *P. aquatica*; scale a, 250  $\mu$ m; scale b, 50  $\mu$ m.

incluyeron todos los materiales en parafina por el método habitual (D'Ambrogio de Argüeso, 1986). Los cortes se realizaron con un micrótopo del tipo Minot. La coloración utilizada fue safranina-fast green (D'Ambrogio de Argüeso, 1986) y los tests microquímicos utilizados fueron el de Millón, para reconocimiento de proteínas; Sudán IV, para lípidos, y Lugol para el almidón. Todas estas reacciones fueron comparadas con un testigo (Tabla 1). El aspecto externo de los carióspsides fue observado y fotografiado con Microscopio electrónico de

barrido (MEB). Los cortes anatómicos fueron fotografiados con Microscopio óptico (MO). Los esquemas de carióspsides y embriones fueron realizados por el autor, con tubo de dibujo.

## OBSERVACIONES

### Caracteres generales

Los carióspsides presentan, de afuera hacia adentro, las siguientes partes: el pericar-

pio; el tegumento seminal; restos del nucelo; el endosperma, que ocupa el mayor volumen en estos frutos y está formado por la capa aleuronífera parcialmente biestratificada, y la reserva amilífera de células grandes (Fig. 1,A,C,E) y almidón compuesto (Fig. 1,B,D,F). En el embrión se observan: el escutelo, el coleoptilo, la plúmula, la radícula, la coleorriza y el epiblasto de desarrollo variable.

#### 1) *Arrhenatherum elatius*

**Morfología, observaciones con MEB.** La forma es elíptica-elongada. La epidermis del pericarpio presenta células largas y cortas aproximadamente paralelas entre sí. Hay pelos unicelulares intercalados entre estas células (Fig. 2,H,I). En el extremo opuesto al embrión los pelos son más largos y densos y forman una especie de mechón (Fig. 2,F,G).

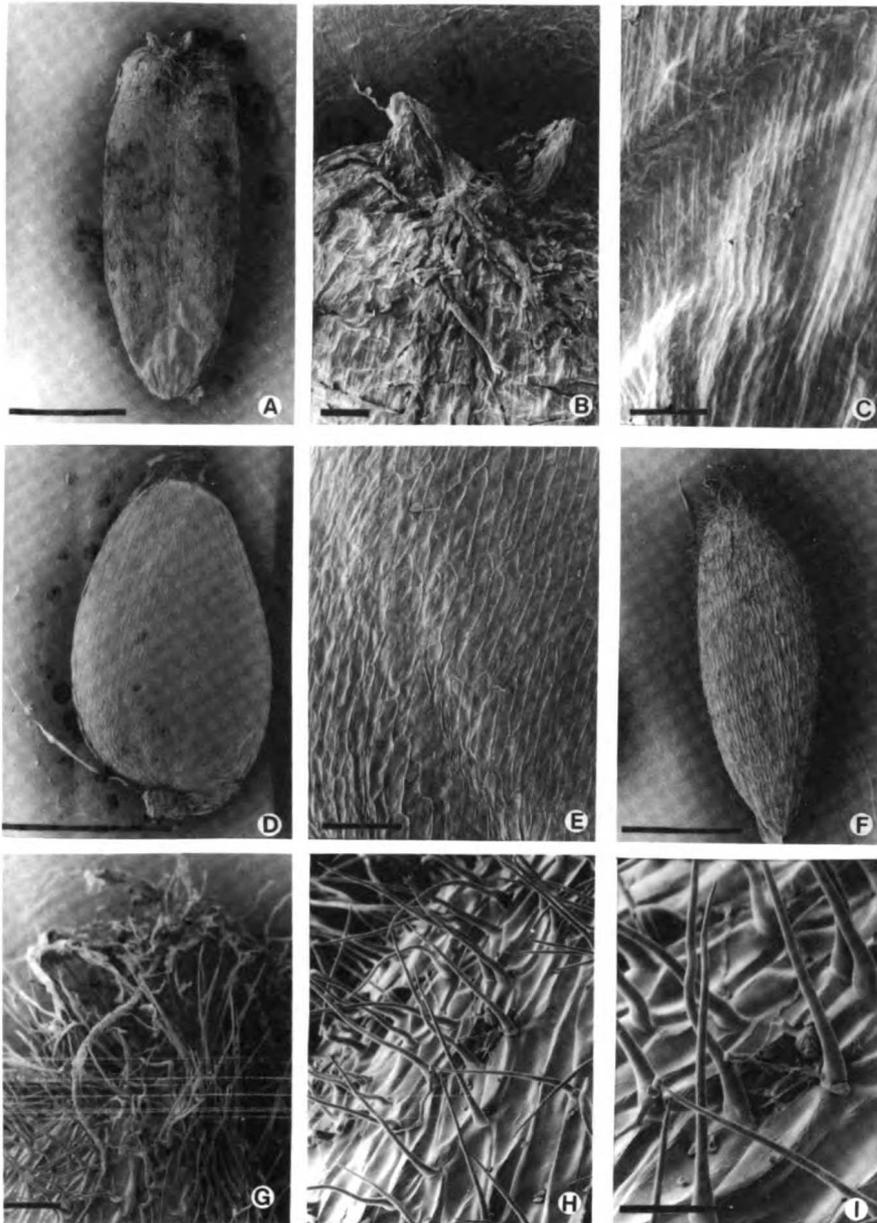
**Anatomía.** El cariósipide maduro presenta pericarpio de pocas capas de células aplanadas. La epidermis externa, en corte longitudinal (CL), está compuesta por células de paredes delgadas y presenta pelos unicelulares conspicuos, solitarios o agrupados de a dos (Fig. 3,F). Los restos del tegumento seminal están muy comprimidos, quedando reducidos a las cutículas. Inmediatamente por debajo de éstas se encuentran restos del nucelo. En el endosperma se puede ver una capa aleuronífera, formada por células rectangulares de paredes levemente engrosadas con divisiones periclinales aisladas que le dan el carácter de biestratificación local. En el interior de estas células se observan granos de aleurona esféricos y ocasionalmente también se puede ver el núcleo (Fig. 3,E). La reserva amilífera ocupa todo el centro del fruto y está constituida por células alargadas, con granos de almidón subsféricos del tipo compuesto (Fig. 1,B;3,D,E). El embrión se ubica en posición basal ocupando aproximadamente una quinta parte del volumen total del fruto. En él

se observa el escutelo que está vascularizado por haces en estado procambial y presenta un epitelio secretor muy marcado en contacto directo con el endosperma (Fig. 3,D). En posición opuesta al escutelo se ve un apéndice relativamente largo que corresponde al epiblasto no vascularizado. El eje del embrión presenta en su extremo distal el coleoptilo que rodea al ápice caulinar o plúmula. La coleorriza a manera de cartucho protege una corta radícula (Fig. 1,A)

#### 2) *Festuca arundinacea*

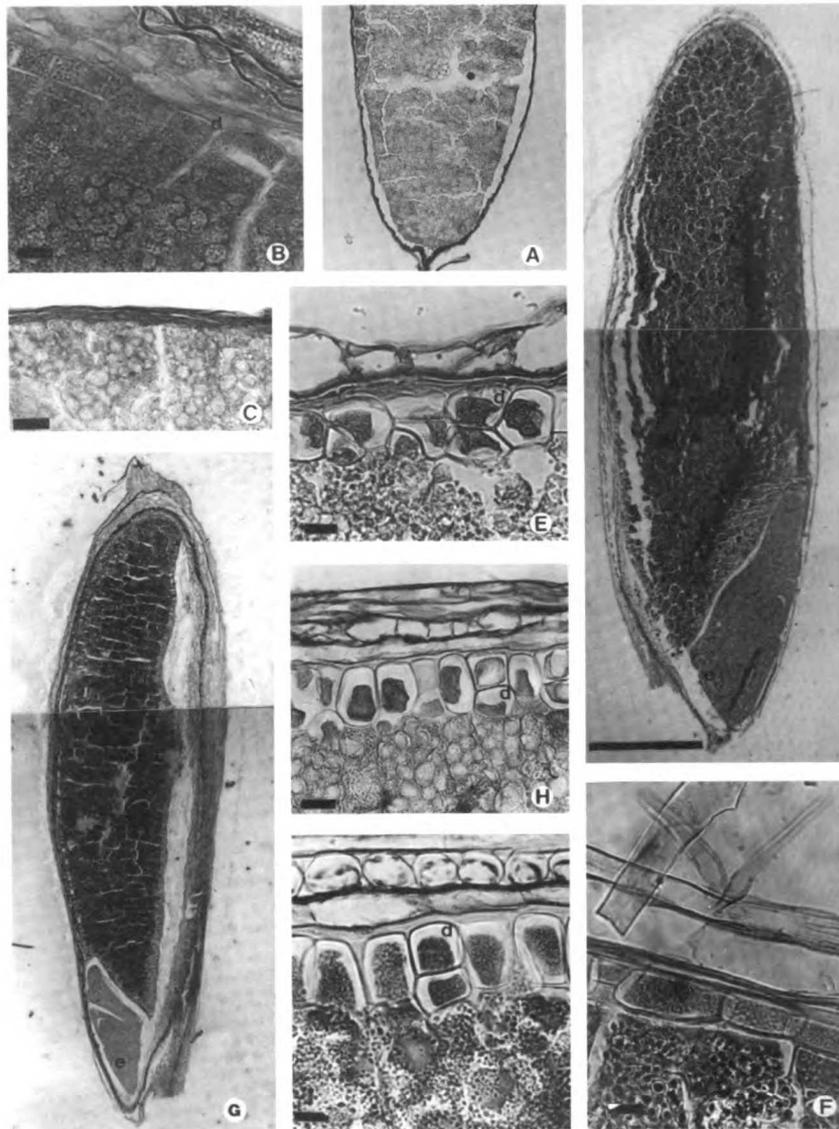
**Morfología, observaciones con MEB.** Es angostamente oblongo, glabro y presenta un marcado surco ventral. En el extremo opuesto al embrión el pericarpio tiene dos protuberancias conspicuas. La epidermis está compuesta por células largas de paredes rectas paralelas entre sí (Fig. 2,A,B,C).

**Anatomía.** El pericarpio del cariósipide joven, en CL, (Fig. 3,I) muestra tres capas: una epidermis bien desarrollada y dos capas de células rectangulares, alargadas, de paredes delgadas. La capa más interna tiene células redondeadas con numerosos cloroplastos. Por debajo del pericarpio se ubica el tegumento seminal que está formado por células alargadas con contenidos densos en su interior. Inmediatamente por debajo del tegumento se hallan los restos de la epidermis del nucelo. En el cariósipide maduro (Fig. 3,H) se observa la obliteración parcial de las capas del pericarpio. La capa aleuronífera del endosperma está formada por células cuadrangulares que sufren también divisiones periclinales aisladas dándole el característico biestratificado local. La reserva amilífera está formada por células rectangulares alargadas y conspicuas. En su interior tienen granos de almidón voluminosos, esféricos y de tipo compuesto (Fig. 3,H;1,D) y están formados por mayor cantidad



**Figura 2.** A-I. Morfología externa de los cariopsides, observaciones con MEB: A-C, *F. arundinacea*: A, aspecto general del cariopside; B, detalle del extremo calasal con repliegues del pericarpio; C, epidermis; D-E, *P. aquatica*: D, aspecto general del cariopside; E, epidermis; F-I, *A. elatius*: F, aspecto general del cariopside; G, extremo calasal con mechón de pelos; H,I, epidermis, detalles de los pelos con distintos aumentos. Reglillas: B,C,E,G y H = 0.1 mm; A,D y F = 1 mm; I = 0.05 mm.

A-I. External morphology of caryopsis, observed with SEM: A-C, *F. arundinacea*: A, general aspect; B, chalasal end with pericarpial fold; C, epidermis; D-E, *P. aquatica*: D, general aspect; E, epidermis; F-I, *A. elatius*: F, general aspect; G, chalasal end with hairs; H,I, epidermis, hairs details. Scales: B,C,E,G y H = 0.1 mm; A,D y F = 1 mm; I = 0.05 mm.



**Figura 3.** A-I. Estructura anatomica al MO de los cariopsides: A-C. *P. aquatica*: A, endosperma amilifero aspecto general; B-C, capa aleuronifera: B, en cariopside joven; C, en cariopside maduro. D-F, *A. elatius*: D, cariopside en CL; E, pericarpio y endosperma: detalle; F, pelos dobles en epidermis del pericarpio. G-I, *F. arundinacea*: G, cariopside en CL; H-I, pericarpio y endosperma detalle: H, cariopside maduro; I, cariopside joven; e, embrión; d, division periclinal en la capa aleuronifera. Reglillas: A, G y D equivalen a 200  $\mu$ m; B, C, E, F, H e I equivalen a 50  $\mu$ m.

A-I, Anatomical structure of caryopsis with OM: A-C, *P. aquatica*: A, amiliferous endosperm: general aspect; B-C, aleurone layer: B, in young caryopsis; C, in mature caryopsis. D-F, *A. elatius*: D, caryopsis in longitudinal section; E, pericarp and endosperm: detail; F, double hairs in epidermis of pericarp. G-I, *F. arundinacea*: G, caryopsis in longitudinal section; H-I, pericarp and endosperm: detail; H, mature caryopsis; I, young caryopsis; e, embryo; d, periclinal division in aleuron layer. Scales: A, G y D represents 200  $\mu$ m; B, C, E, F, H e I represents 50  $\mu$ m.

de amilopectina, lo que hace variar el color con lugol (Tabla 2). El embrión sólo ocupa una sexta parte del volumen total (Fig. 3,G) y presenta el escutelo desarrollado. Se visualiza muy bien el coleoptile y la plúmula en su interior. El epiblasto es reducido. La coleorriza es alargada y en su interior se distingue la radícula (Fig. 1,C).

### 3) *Phalaris aquatica*

**Morfología, observaciones con MEB.** El fruto es lanceolado-aovado, algo comprimido y de superficie completamente glabra. La epidermis del pericarpio presenta células grandes de paredes finas. El embrión está ubicado en posición lateral inferior (Fig. 2,D,E).

**Anatomía.** El cariósido joven, en CL, (Fig. 3,B) presenta el pericarpio con varias capas de células parcialmente consumidas. Por debajo están los restos del tegumento quedando solamente las cutículas que presentan una marcada refringencia y se pueden distinguir los restos del nucelo. En el cariósido madu-

ro (Fig. 3,C) el pericarpio y el tegumento seminal se hallan muy comprimidos y poco reconocibles. El nucelo desaparece. La capa aleuronífera del endosperma primero presenta, las siguientes características: en el cariósido joven (Fig. 3,B) las células son rectangulares con divisiones periclinales aisladas que le dan el aspecto biestratificado local. En el cariósido maduro (Fig. 3,C) no conservan su forma original como ocurre en las otras dos especies, tornándose fusiformes, algo comprimidas y se notan parcialmente consumidas. La reserva amilífera está compuesta por células de forma irregular con amiloplastos voluminosos de tipo compuesto en su interior (Fig. 3,A,B,C;1,F). El embrión es muy pequeño y se ubica en posición inferior algo lateral; el escutelo es delgado, muy alargado y se distingue bien su vascularización. El epiblasto está reducido y se distinguen claramente el coleoptile con la plúmula y la radícula muy corta rodeada por la coleorriza (Fig. 1,E).

El estudio realizado permite distinguir las tres especies por los caracteres observados en sus cariósidos, tal como lo muestran las siguientes tablas:

**Tabla 1.** Cuadro comparativo de los caracteres anatómicos de los cariósidos estudiados.

*Comparative anatomical characters of the caryopsis studied.*

	<i>A. elatius</i>	<i>F. arundinacea</i>	<i>P. aquatica</i>
<i>Morfología externa</i>			
Forma del cariósido	elíptico elongado, con surco	angostamente oblongo, con surco	lanceolado aovado, sin surco
Epidermis del pericarpio	células largas y cortas con pelos unicelulares	células largas de paredes delgadas glabra	células grandes, de paredes finas, glabra
Posición del embrión	dorsiventral	dorsiventral	lateral

(Continuación Tabla 1)

	<i>A. elatius</i>	<i>F. arundinacea</i>	<i>P. aquatica</i>
<i>Morfología interna</i>			
Número de capas del pericarpio	1 a la madurez	1-3 a la madurez	1-3 a la madurez
Capa aleuronifera	1, con células rectangulares a la madurez	1, con células rectangulares a la madurez	1, con células rectangulares en carióspsides jóvenes y células fusiformes a la madurez
Tejido amilífero	células rectangulares, amiloplastos esféricos, pequeños, compuestos	células rectangulares conspicuas, amiloplastos pequeños, compuestos	células irregulares con amiloplastos voluminosos, compuestos
Fórmula de Reeder (Fórmula embrional)	F + P F	F + F F	F + F F

**Tabla 2. Tests microquímicos de lípidos, proteínas y almidón: +++++, muy abundante; +++, abundante; ++, poco abundante; +, escaso; +/-, muy escaso; \*, abundante amilopectina; \*\*, abundante amilosa.**

*Microchemical tests of lipids, proteins and starch: +++++, very abundant; +++, abundant; ++, little abundant; +, scarce; +/-, practically null; \*, abundant amilopectin; \*\*, abundant amilose.*

Especie/React.	Sudán IV	Color	Millón	Color	Lugol	Color
<i>A. elatius</i>	+++	naranja	++	rojo	++++*	azul violeta
<i>P. aquatica</i>	+++	naranja	+	rosa	++++	azul violeta
<i>F. arundinacea</i>	++++	naranja rojizo	+/-	rosa pálido	++++**	violeta

## AGRADECIMIENTOS

Este Trabajo fue realizado en la Cátedra de Anatomía Vegetal, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales (U.B.A.), bajo un régimen de pasantía.

Se agradece a la Dra. Elena Ancibor por su dirección, su permanente apoyo durante el desarrollo del trabajo y la lectura crítica del manuscrito. A la Dra. Mirta O. Arriaga por las sugerencias en la corrección del texto. También al servicio de microscopía electrónica de

barrido proporcionado por C.I.T.E.F.A. y al permanente apoyo de mi madre Luisa M. Landi (1932 - 1996).

## BIBLIOGRAFÍA

- Bourdu R.** 1983. Les diverses fonctions du escutellum des Graminées. Bulletin Société Botanique du France, 130(3/4): 33-48.
- Burkart A.** 1969. Flora ilustrada de Entre Ríos (Argentina)-Parte II Gramineas - La familia botánica de los pastos. Colección científica INTA. VI(II): 1-551.
- Cocucci E., & M.E. Astegiano.** 1978. Interpretación del embrión de las Poáceas. Kurtziana 11: 41-54.
- Czaja A. Tb.** 1978. Structure of starch grains and the classification of vascular plant families. Taxon 27(5/6): 463-470.
- D'Ambrogio de Argüeso A.** 1986. Manual de técnicas en histología vegetal. Ed. Hemisferio Sur S.A., 1-83.
- Esau K.** 1978. Anatomía de las plantas con semillas. Ed. Hemisferio Sur S.A., 1-512.
- Guignard J.L.** 1974. Du cotylédón des Monocotyledones. Phytomorphology 25: 193-200.
- Guignard J.L. & J.Ch. Mestre.** 1970. L'embryon des Graminées. Phytomorphology 20: 190-197
- Gunning B.E.S., J.S. Pate, & L.W. Green.** 1970. Transfer cells in the vascular system of stems: taxonomy, association with nodes, and structure. Protoplasma 71: 147-171.
- Izaguirre-Artucio P. & G. Zilliani.** 1988. Desarrollo de las cubiertas del cariopse de *Paspalum dilatatum*. Poir. (Poaceae) Uruguay, Facultad de Agronomía, Boletín de Investigaciones N°:14, 1-16.
- Laguardia A.M.** 1975. Observaciones sobre el endosperma líquido de algunas Gramineas. Revista de Biología del Uruguay. 3(2): 169-174
- Medan D. & B.A. de Eilberg.** 1978/79. Aspectos de la morfología interna de los cariopses del "Pasto Puna" (*Stipa brachychaeta*. Godr.). (Gramineae). Revista de investigaciones agropecuarias INTA, Bs. As., Rep. Argentina, serie 2, Biología y Producción Vegetal. 14(2): 115-120.
- Narayanaswami S.** 1961. Morphology of the embryo in the Monocotylédons. Memoirs. Indian Botany Society 3: 179-187.
- Nicora E.G.** 1978. Flora Patagónica. Parte III. Gramineae. Dirigida por Maevia AN Correa. Colección científica INTA. VIII(III): 1-563.
- Norstog K.** 1969. Morphology of coleoptile and scutellum in relation to tissue culture reponses. Phytomorphology 19: 235-241.
- Parodi L.R.** 1987. Enciclopedia Argentina de Agricultura y Jardinería. Tomo I. Descripción de las plantas cultivadas. Primer volumen. Editorial ACME SACI. Bs. As., 1-651.
- Reeder J.R.** 1957. The embryo in grass systematics. American Journal of Botany 44: 756-768
- Rost T.L., P. Izaguirre de Artucio & E.B. Risley.** 1984. Transfer cells in the placental pad and caryopsis coat of *Pappophorum subbulbosum*. Arech. (Poaceae). American Journal of Botany 71: 948-957.
- Rost T.L., P. Izaguirre de Artucio & E.B. Risley.** 1990. Anatomy of the caryopsis of *Briza maxima* (Poaceae). American Journal of Botany 77(1): 69-76.
- Rost T.L. & N.R. Lersten.** 1970. Transfer aleurona cells in *Setaria lutescens* (Gramineae). Protoplasma 71: 403-408.
- Roth I.** 1977. Fruits of Angiosperms. Gebruder Borntraeger. Berlin-Stuttgart.
- Swift J.G. & T.P. O'Brien.** 1970. Vascularization of the scutellum of wheat. Australian Journal of Botany 18: 45-53.
- Wolf M.J., C.L. Buzman, M.M. Mac Masters & C.F. Rist.** 1952. Structure of the mature corn kernel I, II, III, IV. Cereal Chemistry 29: 321-382.
- Zee S. & T.P. O'Brien.** 1971. Aleurone transfer cells and other structural features of the spikelet of millet. Australian Journal of Biology Science 24: 391-395.