DARWINIANA ISSN 0011-6793

34(1-4): 199-211. 1996

BIOLOGIA REPRODUCTIVA DE *PANICUM SPATHELLOSUM* (POACEAE: PANICOIDEAE: PANICEAE)

ANDREA SUSANA VEGA[1]

Instituto de Botánica Darwinion, Labardén 200, Casilla de Correo 22, (1642) San Isidro, Argentina

ABSTRACT: Vega, A. S. 1996. Reproductive biology of *Panicum spathellosum* (Poaceae: Panicoideae: Paniceae). *Darwiniana* 34: 199-211.

Reproductive biology of *Panicum spathellosum* Döll was studied in two natural populations from Buenos Aires province, Argentina.

In this species the inflorescences are composed of biflowered spikelets. The opening of the flowers is basipetal both in the principal and primary axis. Each spikelet has a lower staminate flower and an upper pistillate, chasmogamous and protogynous flower. The latter has also 3 staminodia.

The stigmatic branches of the upper flower were exposed and 1 day later the staminodia arose. All the stigmas were exposed in approximately 8 days. Afterwards the stamens of each lower flower appeared and the entire exposition was completed in 3 days. It took nearly 13 days between the presentation of the stigmatic branches to the whole emergence of the androecium.

Pollen grains had an 85.5 % of viability and contained starch, proteins and lipids as reserve substances.

Some experiences were made to analyze the reproductive system of this species. It was proved that it is cross-pollinated and there was neither geitonogamy nor apomixis.

A 60-81 % of caryopsis formation was obtained by cross-pollination. Caryopsis showed a 75 % of germination after sowing.

A new type of "sexuality" within the spikelet of *Panicum* is here described. In *P. spathellosum* the lower flower is staminate and the upper one pistillate. The present study suggests that *P. spathellosum* has improved cross-pollination throughout diclinous monoecy and temporal separation of floral anthesis.

INTRODUCCIÓN

El género *Panicum* L. es uno de los más ricos de la familia Poaceae y comprende alrededor de 370 especies distribuidas en las regiones tropicales, subtropicales a templadas del mundo. Se encuentra en hábitats diversos, incluyendo especies mesófitas, xerófitas y halófitas, que crecen en lugares sombríos a abiertos (Watson & Dallwitz, 1992).

En Argentina se han realizado diversos trabajos sobre sistemática y anatomía de las especies del género *Panicum* (Zuloaga, 1979, 1981, 1987, 1989); variación en la estructura de las espiguillas de algunas especies (Palacios, 1968) y estudios aislados sobre biología reproductiva (Urbani, 1990).

El objetivo del presente trabajo ha sido analizar la fenología de la floración a nivel de la inflorescencia y de la espiguilla, mecanismo de polinización y sistema reproductivo de *Panicum spathellosum* Döll, especie perteneciente al subgénero *Steinchisma* (Raf.) Zuloaga, el que en Argentina está integrado además por *P. hians* Elliott y *P. decipiens* Nees ex Trin.

Panicum spathellosum (Fig. 1) reúne plantas perennes, de 0,60-1,20 m de alto, herbáceas, largamente rizomatosas, con cañas radicantes y ramificadas en los nudos inferiores y luego erguidas. Las inflorescencias son panojas laxas, de 10-28 cm de largo y 2-10 cm de ancho, terminales, exertas (Zuloaga, 1994). Es una especie sudamericana encontrada en el sur de Brasil, Paraguay y Argentina. Habita en los bordes de arroyos y ríos.

[1] Becaria de Perfeccionamiento del CONICET

MATERIALES Y MÉTODOS

Observaciones de campo y estudio de plantas en cultivo

Se estudiaron dos poblaciones naturales que habitan en los bajos de San Isidro (Balneario Anchorena) y en Punta Lara, provincia de Buenos Aires, entre mediados de 1993 y principios de 1996. Algunos ejemplares, de ambas poblaciones, fueron observados en su hábitat natural y otros mantenidos en cultivo (7 macetas) en el invernáculo del Instituto de Botánica Darwinion. Del material coleccionado, parte del mismo fue fijado en FAA y posteriormente conservado en alcohol 70 %, para estudiar desarrollo de tubos polínicos; el resto fue herborizado y depositado en el Herbario del Instituto de Botánica Darwinion (SI). En el estudio fenológico de la floración se observaron distintas fases, las cuales fueron descriptas y luego dibujadas con tubo de dibujo adosado a una lupa Wild M5.

Material de herbario estudiado

Panicum decipiens Nees ex Trin.

PARAGUAY. *Dpto. Amambay*: Parque Nac. Cerro Corá, próximo al Río Aquidabán Nigüi, 30-IV-1992, Morrone y Pensiero 444 (SI).

ARGENTINA. *Prov. Corrientes: Dpto. San Miguel.* 21 Km S de Loreto, 7-III-1974, Schinini et al. 8323 (SI). *Prov. Entre Ríos: Dpto. Uruguay.* Concepción del Uruguay al N, ruta 14, 9-XI-1978, Troncoso et al. 2396 (SI). *Prov. Misiones: Dpto. Apóstoles.* San José, Escuela Agrotécnica Pascual Gentilini, 16-X-1978, Renvoize et al. 3151 (SI).

BRASIL. *Estado Rio Grande do Sul*: Porto Alegre, 5-VII-1948, Rambo 37387 (SI); Tupanciretá, Pott y Valls 9106 (SI). *Distrito Federal*: Reserva Ecológica do IBGE, 22-XII-1987, Silva 436 (SI). *Estado Minas Gerais*: Municipio de Jaboticatubas, ao longo da rodovia Lagoa Santa Conceicçao do Mato Dentro Diamantina, 9-XII-1971, Sendulsky et al. 418 b (SI).

URUGUAY. *Dpto. Rocha.* Palmares de Castillos, hilly country 25 Km north of Castillos, 22-I-1944, Bartlett 21348 (SI).

Panicum hians Elliott

PARAGUAY. *Dpto. Alto Paraguay.* 9-II-1955, Woolston G.80 (SI).

ARGENTINA. *Prov. Corrientes: Dpto. Mercedes.* Mercedes a Itá Corá, Arroyo Pay-Ubre, 2-II-1974, Quarín y González 2085 (SI). *Prov. Entre Ríos: Dpto. Concordia.* Salto Grande, Casa de Piedra, 6-X-1978, Renvoize et al. 2967 (SI); Ayuí, 14-XI-1979, Troncoso et al. 2728 (SI). *Prov. Formosa: Dpto. Matacos.* Ing. Juárez, 2-V-1975, Cabrera et al. 26560 (SI). *Prov. Jujuy: Dpto. Capital.* Lagunas de Yala, 16-II-1987, Nicora et al. 8716 (SI). *Prov. Misiones: Dpto. Oberá.* Entre Oberá y Campo Viera, Arroyo Yasá, 2-V-1984, Zuloaga et al. 1985 (SI).

BRASIL. *Estado Rio Grande do Sul*: São Jerónimo, Faz do Leao, III-1953, Rosengurtt 901 (SI); Pelotas, Inst. Agr. Sul., I-1965, Machado 4860 (SI).

Panicum spathellosum Döll

PARAGUAY. *Dpto. Paraguarí.* Parque Nac. Ibycuí, 22-VII-1984, Hahn 2611 (SI).

ARGENTINA. *Prov. Buenos Aires*: *Pdo. San Isidro*: Bajos de San Isidro, balneario Anchorena, 2-XI-1993, Zuloaga y Vega 4863, 4864 (SI); San Isidro-Martinez, 21-X-1981, Ulibarri 1298 (SI). *Capital Federal*: Palermo, 18-X-1897, Hicken s.n. (13493 SI). *Pdo. Ensenada*: Punta Lara, 12-IV-1987, Zuloaga et al. 3074 (SI); orillas del Río de La Plata, 6-II-1953, Gautier s.n. (SI). *Pdo. Escobar*: Paraná de las Palmas, 28-XI-1989, Zuloaga y Morrone 4542 (SI). *Prov. Entre Ríos*: *Dpto. Gualeguaychú.* Ñandubaysal, Troncoso et al. 2127 (SI). *Prov. Misiones: Dpto. Apóstoles.* Apóstoles a Concepción de la Sierra, Arroyo Las Tunas, 26-XI-1987, Zuloaga et al. 3244 (SI). *Dpto. Candelaria.* Profundidad, 19-IX-1974, Krapovickas et al. 25716 (SI); entre Bonpland y Santa Ana, Arroyo Maquinal, 24-VIII-1978, Cabrera et al. 29472 (SI); Arroyo San Juan y Ruta Nac. 12, XI-1987, Zuloaga et al. 3161 (SI); Villa Venecia, 200 m, 11-X-1978, Renvoize 3033 (SI). *Dpto. Iguazú.* Cataratas, X-1977, Cabrera et al. 28934 (SI). *Dpto. L. N. Alem.* Güemes entre San José y Co. Azul, X-1977, Cabrera et al. 28631 (SI).

BRASIL. *Estado Santa Catarina*: Fazenda Campo São Vicente, 7-XII-1964, Smith y Klein 13841 (SI).

Panicum stenophyllum Hack.

BRASIL. *Estado Minas Gerais*: Rodovia de Cardeal Mota a Conceiçao do Mato Dentro, BR-010, Serra do Cipó, 23-II-1993, Zuloaga y Morrone 4706 (SI); Cardeal Mota, Fazenda Monjolos, 20-II-1993, Zuloaga y Morrone 4660 (SI).

Análisis de laboratorio

Receptividad estigmática: La receptividad estigmática se determinó utilizando peróxido de hidrógeno (Osborn et al., 1988). Se colocó una gota sobre la superficie receptiva, considerando como resultado positivo la presencia de burbujeo. Con preferencia fueron seleccionados para tal fin aquellos estigmas libres de polen.

Análisis palinológico: Las observaciones palinológicas se realizaron a partir de muestras proce-

sadas siguiendo la técnica de Erdtman (1969).

Se estudió la morfología polínica cuantificando los rangos de variación en: a) diámetro ecuatorial, b) diámetro polar, c) espesor de la exina, d) diámetro del poro y e) diámetro del anillo. Los valores citados provienen del promedio de 20 mediciones. La descripción morfológica se basó en observaciones realizadas en microscopio óptico Wild M20.

Se fotografiaron estigmas con granos de polen germinados, pertenecientes a material vivo, utilizando para ello un microscopio óptico Nikon.

Se determinaron las sustancias de reserva presentes en los granos de polen, mediante el empleo de los siguientes reactivos: lugol para almidón, ácido pícrico para proteínas y Sudán IV para lípidos.

Es posible cuantificar la viabilidad polínica utilizando métodos directos e indirectos (Kearns & Inouye, 1993). El método directo, consiste en colocar polen sobre la superficie estigmática y evaluar la producción de frutos, pero resulta inadecuado dado que se necesitan numerosas espiguillas en la fase pistilada y al mismo tiempo abundante polen, de otra inflorescencia, extraído de anteras recién exertas. Este requisito es de suma importancia, dado que se produce una pérdida abrupta de la viabilidad polínica con el tiempo. Por esta razón, se decidió evaluar la viabilidad a través de dos métodos indirectos: a) fluorescencia de contraste óptico (Greissl, 1989), realizando las observaciones y los recuentos en microscopio de epifluorescencia (Nikon FXA) y b) tinciones diferenciales para reservas polínicas, con los reactivos específicos anteriormente mencionados. Se evaluó la viabilidad por reservas de almidón y proteínas, considerando viables a aquellos granos que presentan abundante sustancia de reserva, sub-viables los que la presentan escasa y no viables a los granos vacíos. En los distintos métodos para cuantificar la viabilidad polínica siempre se empleó polen de anteras dehiscentes (400 granos en cada caso), extraído de las plantas cultivadas, ya que se comprobó mediante ensayos previos que la vitalidad decrece abruptamente con el transcurso del tiempo.

Se calculó la cantidad promedio de polen presente por antera y por flor estaminada (n=20), utilizando para ello una cámara de Neubauer (Kearns & Inouye, 1993).

Se analizó con microscopio de fluorescencia el desarrollo de tubos polínicos en las flores pistiladas, expuestas a polinización libre. Los gineceos de las inflorescencia conservadas en alcohol 70 % se clarificaron en una solución de hidrato de cloral al 15 % y luego de sucesivos lavados en agua destilada se los colocó en una solución de NaOH al 5 %, a fin de ablandar los tejidos. Se repitieron los lavados y luego el material fue colocado en una solución de Azul de Anilina al 0,1 %, cuyo pH fue ajustado previamente a 8. Los preparados fueron observados inmediatamente en microscopio de fluorescencia Nikon, con filtro azul (B-2A Filtro barrera 520, Filtro excitación 450-490).

Sistema reproductivo: A fin de determinar el sistema reproductivo de esta especie se realizaron distintos ensayos:

1) *Embolsado de inflorescencias con el objeto de detectar posible geitonogamia*: Se embolsaron separadamente 6 inflorescencias.

2) *Polinización libre*: Para ello se analizaron varias inflorescencias maduras, antes de que sus cariopsis comenzaran a dispersarse. Se estudió la totalidad de las espiguillas (600 espiguillas en cada población) y posteriormente se estableció el porcentaje de frutos formados.

3) *Emasculación de flores estaminadas, previo a la antesis, y posterior embolsado a fin de detectar posible apomixis*: Se emplearon 4 inflorescencias y en cada una se emascularon todas las flores estaminadas de una ramificación primaria elegida al azar. Las ramificaciones restantes fueron tomadas como control. La emasculación se llevó a cabo, bajo lupa, seccionando los estambres de las flores estaminadas cerradas. Luego se aislaron dichas ramificaciones en pequeñas bolsitas de papel.

En los ensayos 1) y 3) se emplearon plantas obtenidas de las poblaciones de San Isidro y Punta Lara, cultivadas posteriormente en invernáculo. En particular, se seleccionaron aquellas con inflorescencias subexertas y en un estadío previo a la antesis. Se utilizaron bolsas de papel translúcido, manteniendo las inflorescencias en éstas hasta la madurez, a fin de estimar el porcentaje de frutos formados. En el ensayo 2) se analizaron inflorescencias maduras extraídas de dos poblaciones naturales de San Isidro y de una población de Punta Lara.

Cariopsis: Se estudió la morfología del fruto bajo lupa. El aspecto general de la cariopsis, en vista hilar y escutelar, se dibujó con tubo de dibujo adosado a una lupa Wild M5.

Fig. 1.- *Panicum spathellosum* Döll: A, hábito; B, espiguilla vista del lado de la gluma inferior; C, espiguilla vista del lado de la gluma superior; D, espiguilla, vista lateral; E, antecio superior visto del lado de la lema; F, antecio superior visto del lado de la pálea.

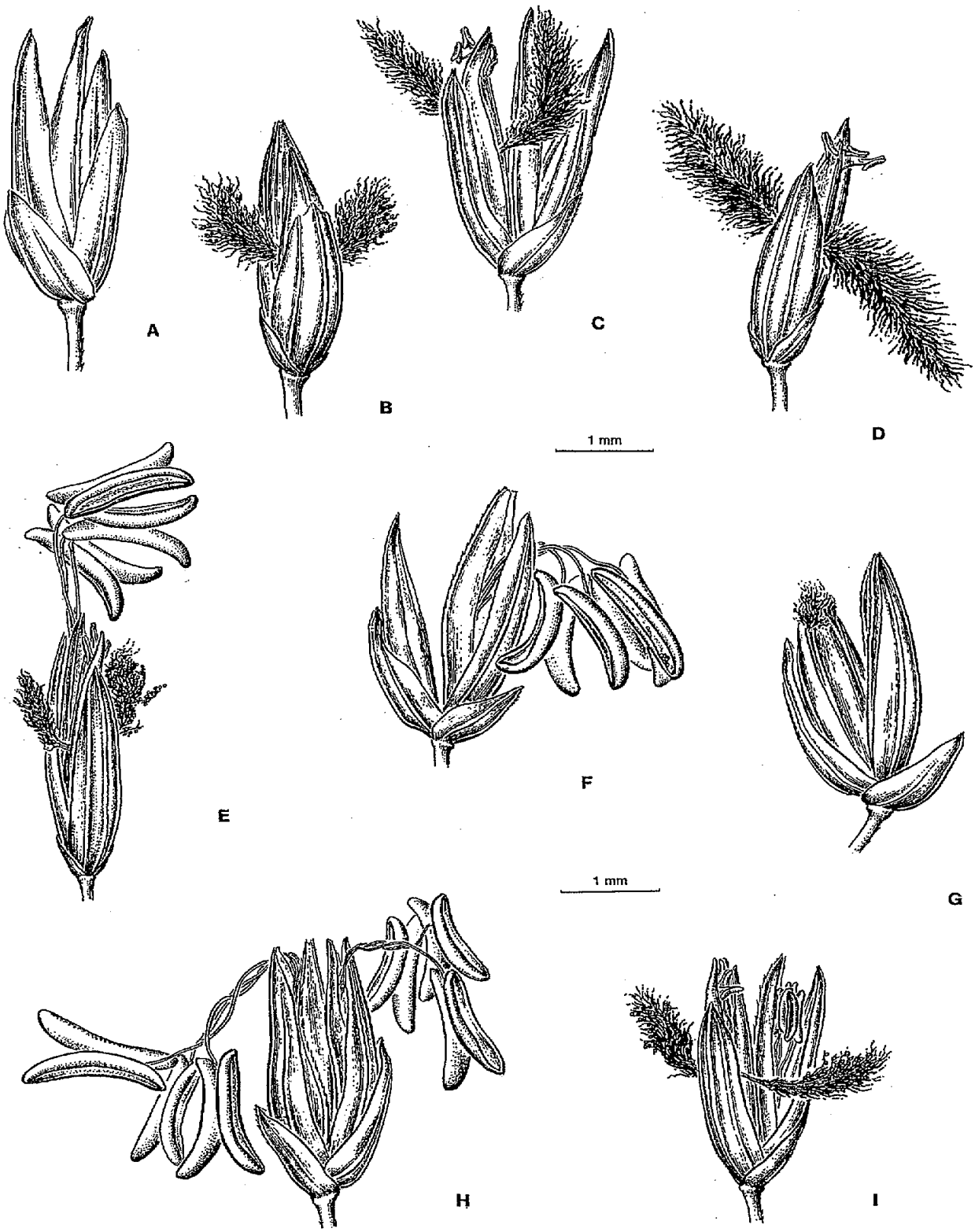

Fig. 2.- Fenología de la floración - Nivel espiguilla: A, espiguilla biflora, flor superior e inferior cerradas; B-D, Fase pistilada en la flor superior: B, exposición de ramas estigmáticas; C, exposición de estaminodios; D, ramas estigmáticas perpendiculares al eje longitudinal de la espiguilla; E-G, Fase estaminada en la flor inferior: exposición del androceo; F, anteras péndulas; G, caída de las anteras; H, espiguilla con flor superior perfecta e inferior estaminada; I, espiguilla con flor superior pistilada e inferior formada por 3 estaminodios.

En el tratamiento de polinización libre se determinaron: a) los porcentajes de cariopsis formadas y b) de germinación en los frutos obtenidos. En el primer caso, se examinaron 600 flores pistiladas en cada población estudiada en condiciones naturales; y en el segundo se sembraron 100 cariopsis extraídas de las mismas poblaciones, en una caja mantenida en el invernáculo.

RESULTADOS

Floración y crecimiento vegetativo

La floración se extiende aproximadamente desde Agosto hasta fines de Diciembre. En esta época son frecuentes las lluvias, con el posterior anegamiento de los terrenos bajos donde habitan. El suelo es de tipo aluvial.

Antes y durante la floración tiene lugar el crecimiento vegetativo. En algunos nudos de la caña se desarrollan raíces adventicias, que permiten la propagación vegetativa. Cuando finaliza la floración, en la axila de la bráctea de la inflorescencia terminal, se desarrolla un eje de crecimiento vegetativo.

Fenología de la floración - Nivel inflorescencia

El análisis de la inflorescencia revela 3 estadíos: a) inflorescencia subexerta: no hay exposición de estigmas, o bien, la exposición de éstos es menor del 50 %; b) inflorescencia casi exerta: existe alrededor de un 50 % de espiguillas que exponen sus estigmas y c) inflorescencia exerta: están expuestos más del 50 % de los estigmas, la inflorescencia se ha separado de la bráctea por elongación del tallo florífero, y se completa la exposición de los estigmas. Posteriormente, se expone el androceo en las flores inferiores.

La elongación del tallo florífero y de las ramificaciones primarias permiten sobreelevar la inflorescencia, con lo cual lograría una mayor movilidad frente a las corrientes de aire.

Fenología de la floración - Nivel espiguilla

En cada espiguilla es posible reconocer las siguientes fases:

1) Fase pistilada: en las flores superiores
   a) exposición de estigmas
   b) exposición de estaminodios
2) Fase estaminada: exposición del androceo en las flores inferiores

En cada espiguilla biflora, la flor superior es pistilada, casmógama y protógina, presentando además 3 estaminodios. Mientras se encuentra cerrada, las ramas estigmáticas están juntas, son de color verdoso, tornándose purpúreas a medida que se aproxima la antesis (Fig. 2 A).

La flor estaminada es inferior y posee tres estambres. Durante los estadíos tempranos, éstos se encuentran encerrados por las glumelas, los filamentos son hialinos y cortos, y las anteras verdosas (Fig. 2 A). Hacia la madurez los filamentos se elongan, las anteras incrementan su tamaño (1,5-2 mm long.) y viran al color amarillo.

La exposición de los estigmas comienza por las espiguillas próximas al ápice del eje principal y luego continúa en los ápices de ramificaciones primarias, progresando siempre en sentido basípeto.

Debido al aumento de turgencia registrado en las lodículas de la flor pistilada, se produce la separación de las glumelas y la exposición lateral de las ramas estigmáticas (Fig. 2 B). Durante este estadío, es posible observar polen de otras inflorescencias, capturado en los estigmas. En ese momento los estigmas se encuentran receptivos (burbujeo muy intenso) y las células que los forman presentan un alto contenido de antocianas. La medición de la receptividad estigmática se complica a medida que transcurre el tiempo debido a la captura de polen por parte del estigma, lo cual puede inducirnos a interpretar un falso resultado positivo del ensayo.

Un día después son expuestos los 3 estaminodios hialinos (Fig. 2 C). Pese a que éstos no presentan polen, se observa crecimiento en longitud de los filamentos llegando a superar la altura de la flor superior. Las anteras de los estaminodios miden ca. 0,5 mm long.

Las ramas estigmáticas continúan desplegándose hasta ubicarse perpendiculares al eje longitudinal de la espiguilla (Fig. 2 D). Transcurren aproximadamente 8 días hasta completar la total exposición de los estigmas en la inflorescencia, produciéndose un cambio gradual en la coloración del estigma por la degradación de los pigmentos, tornándose luego contraído y castaño una vez producida la polinización (Fig. 2 E). En ocasiones cae (Fig. 2 F) o permanece preso por las glumelas en el ápice de la flor pistilada (Fig. 2 G).

Una vez finalizada la exposición de estigmas comienza la del androceo, en las flores inferiores

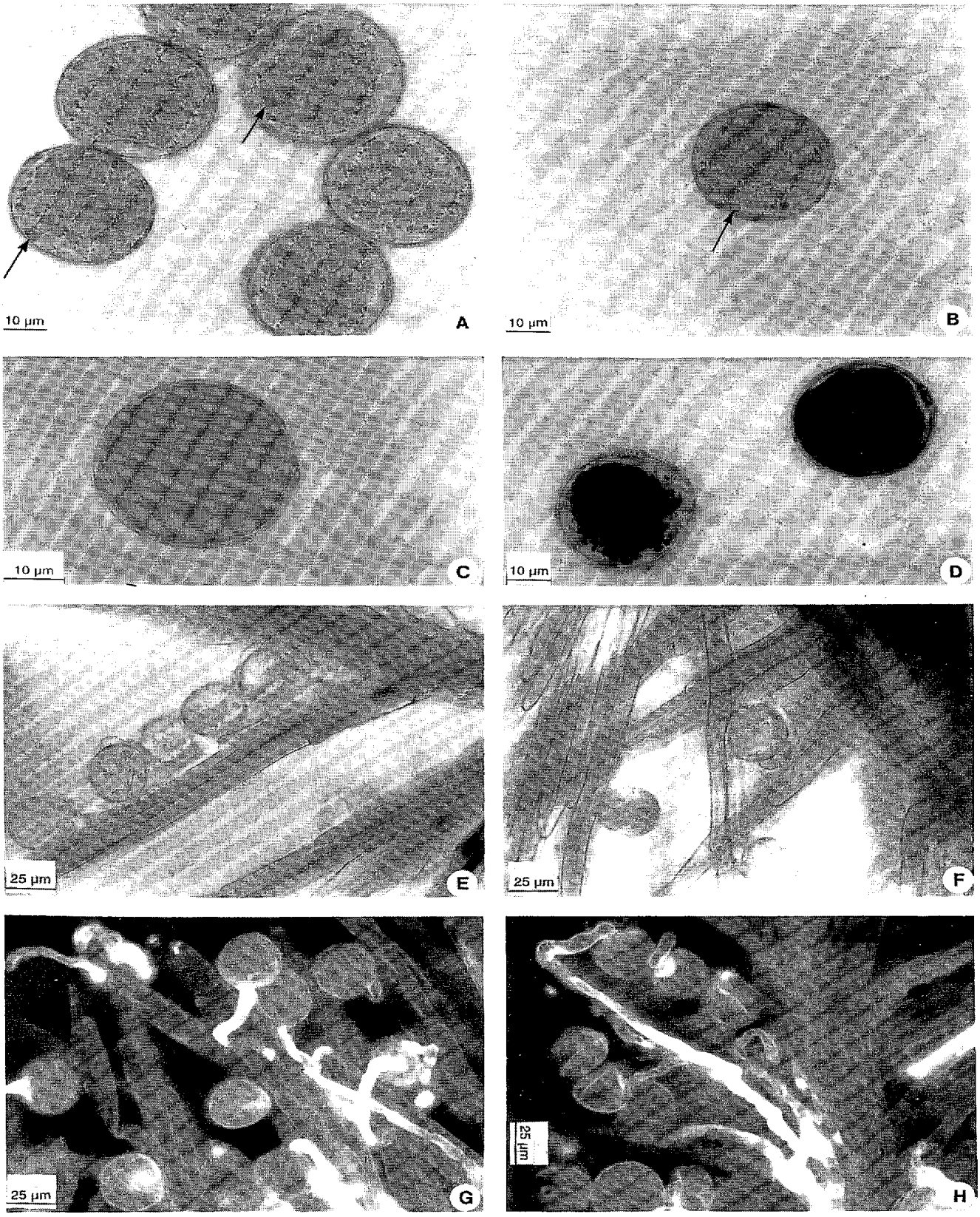

Fig. 3.- Polen de *Panicum spathellosum*: A-D, Sustancias de reserva: A,B, lípidos; C, proteínas; D, almidón; E-H, Granos de polen germinados: E,F, observación con microscopio óptico, G,H, presencia de calosa, observación con microscopio de fluorescencia.

de cada espiguilla, siendo matutina y completada en 3 días. El aumento de turgencia de las lodículas es el responsable de la separación de las glumelas con lo cual los estambres pueden emerger debido a una rápida elongación de sus filamentos (Fig. 2 E). Las anteras adoptan finalmente una posición péndula, con lo cual facilitan su movilidad y la dispersión del polen por acción del viento. La dehiscencia es longitudinal y el polen es de color amarillo. Una vez liberado, las anteras se curvan (en forma de equis) y persisten en la inflorescencia (Fig. 2 F) o caen (Fig. 2 G). Transcurre 1 semana entre el comienzo de la exposición del androceo y la caída de las anteras.

En algunas inflorescencias se encontraron unas pocas espiguillas con características distintas (Fig. 2 H, I). La Fig. 2 H representa una espiguilla formada por una flor superior perfecta y una inferior estaminada y en la Fig. 2 I ambas flores poseen estaminodios (mayor grado de reducción).

Variación en la "sexualidad" de las espiguillas

Con este fin se estudiaron ejemplares de herbario de las siguientes especies: *P. decipiens*, *P. hians*, *P. spathellosum* y *P. stenophyllum*, pertenecientes al subgénero *Steinchisma*, la última especie encontrada sólo en Brasil y norte de América del Sur. Los resultados obtenidos se presentan en la tabla I.

P. decipiens, *P. hians* y *P. stenophyllum* (andromonoicas) poseen espiguillas cuya flor superior es perfecta y la inferior estaminada, mientras que *P. spathellosum* (diclino-monoica) presenta la flor superior pistilada o rara vez perfecta (Cabrera et al 28934) y la inferior estaminada.

Análisis palinológico

Los granos de polen contienen lípidos, proteínas y almidón como sustancias de reserva (Fig. 3 A-D). En menor proporción se encuentran los lípidos, en forma de pequeñas gotas (Fig. 3 A-B), luego las proteínas (Fig. 3 C), y en mayor proporción el almidón, el cual es más rápidamente degradado (Fig. 3 D).

Los resultados de la cuantificación de la viabilidad polínica se exponen en la tabla III.

Se analizó el desarrollo de tubos polínicos con microscopio óptico (Fig. 3 E, F) y con microscopio de fluorescencia revelando en este último caso, presencia de calosa en la pared del tubo y en pequeños tapones cuya función es la de separar el citoplasma del resto del tubo polínico (Fig. 3 G, H). La pared del grano se observa de color anaranjado opaco, mientras que la calosa fluoresce y tiene color amarillo verdoso.

Sistema reproductivo

Se realizaron recuentos a fin de establecer la cantidad promedio de granos de polen presente por flor estaminada obteniéndose un valor de 7750 ± 710 granos. A partir de este dato, se puede hacer un cálculo estimativo de la cantidad de polen producida en una inflorescencia. Teniendo en cuenta que cada una de ellas presenta entre 130 y 250 flores estaminadas, la cantidad de polen producida oscila aproximadamente entre 1 y 2 millones de granos.
En esta especie no fue posible aplicar el índice P/O (número de granos de polen por flor/número de óvulos por flor, Cruden, 1977), como indicador del sistema reproductivo, puesto que no presenta flores perfectas.

1) *Embolsado de inflorescencias*

En las 6 inflorescencias se obtuvo un 0% de formación de frutos.

2) *Polinización libre*

Los porcentajes de frutos formados oscilan entre 60 y 81 % (Tabla IV).

En aquellas espiguillas donde no se formó fruto, el ovario se observa reducido, castaño y generalmente con sus ramas estigmáticas inclusas.

3) *Castración de las espiguillas estaminadas*

En las ramificaciones embolsadas se obtuvo 0% de formación de frutos. Las flores pistiladas expusieron sus ramas estigmáticas. Las espiguillas, raquis y pedicelos se tornaron amarillentos. El resto de las ramificaciones de la inflorescencia produjo frutos normalmente.

Cariopsis

Tamaño de las cariopsis: 1,3-2 mm long. y 0,6-1 mm lat.; hilo de 0,4-0,7 mm long.; embrión de 0,7-1 mm long (Fig. 4 A, B).

Se evaluó el porcentaje de germinación de cariopsis obtenidas de una población de San Isidro, alcanzando un 75 % de formación de plántulas sobre un total de 100 cariopsis sembradas.

DISCUSIÓN Y CONCLUSIONES

En el género *Panicum* la espiguilla tipo es biflora, existiendo variación en la "sexualidad" de las mismas. Algunas espiguillas presentan la flor

TABLA I. Cuadro comparativo de las especies analizadas en el subgénero *Steinchisma*

Especie	Procedencia del material	Longitud de las espiguillas (mm)	"Sexualidad" de la flor superior	Longitud de las anteras (mm)
P. decipiens	Argentina			
	- Corrientes	2--2,5	perfecta	0,5
	- Entre Ríos	2,5--3	"	0,7
	- Misiones	2,5	"	0,5
	Brasil	1,5--3	"	0,5--1
	Paraguay	2--2,5	"	0,5
	Uruguay	2,5--3	"	0,5
P. hians	Argentina			
	- Corrientes	2--2,5	perfecta	0,5
	- Entre Ríos	2,5	"	0,7
	- Formosa	1,5--1,7	"	0,5
	- Misiones	2,5	"	0,5--0,7
	Brasil	2,5	"	0,7
	Paraguay	1,7--2,5	"	0,5--0,7
P. spathellosum	Argentina			
	- Buenos Aires	2,5--3,5	pistilada	estaminodios
	- Entre Ríos	2,5--2,8	"	"
	- Misiones	2,7--3,5	"	"
		3--3,2 (*)	perfecta	1,2--1,7
	Brasil	3--3,5	pistilada	estaminodios
	Paraguay	2,5--3	"	"
P. stenophyllum	Brasil	2,5--3	perfecta	1--1,5

La flor inferior, en todas las especies mencionadas, es estaminada.
(*) Cabrera et al. 28934 (SI), espiguillas con flor superior perfecta e inferior estaminada.

TABLA II. Morfología polínica de *P. spathellosum*

Diámetro Ecuatorial	Diámetro Polar	Espesor de la Exina	Diámetro del poro	Diámetro del anillo
36,2 ± 0,42 µ	33,9 ± 0,30 µ	1,34 ± 0,11 µ	2,68 ± 0,13 µ	8,58 ± 0,38 µ

TABLA III. Viabilidad polínica en *P. spathellosum*

Técnica	Viables (%)	Sub-Viables (%)	No Viables (%)
Fluorescencia. Filtro Azul, 495 nm	85,5	8	6,5
Reservas polínicas (almidón)	92,5	6,75	0,75
Reservas polínicas (proteínas)	93,5	5,25	1,25

TABLA IV. Porcentaje de cariopsis formadas por polinización libre en *P. spathellosum*

Procedencia de las poblaciones	Cariopsis formados (%)
Punta Lara	72,5
San Isidro	
Población 1	60
Población 2	81

superior perfecta y la inferior estaminada (Fig. 5 A) (Zuloaga, 1979). Otra variante a la citada son aquellas espiguillas cuyas flores superior e inferior son perfectas (Fig. 5 B), como en *Panicum irregulare* Swallen (Zuloaga & Sendulsky, 1988) o excepcionalmente en *Panicum sabulorum* Lam. (Palacios, 1968). Existe un tercer tipo de espiguilla donde la flor superior es perfecta y la inferior neutra (Fig. 5 C), como en *Panicum elephantipes* Nees ex Trin. En este trabajo se incluye una nueva variante de espiguilla biflora, encontrada en *Panicum spathellosum* Döll, formada por una flor superior pistilada y otra inferior estaminada (Fig. 5 D). A diferencia de las otras especies del subgénero *Steinchisma* (Raf.) Zuloaga que son andromonoicas (Tabla I), *P. spathellosum* es diclino monoica, aunque excepcionalmente pueda presentar algunas espiguillas con flor superior perfecta e inferior estaminada (Fig. 2 H; Tabla I) o con la flor superior pistilada y la inferior formada por 3 estaminodios (Fig. 2 I). Comparando con aquellas especies que poseen flor superior perfecta, *P. spathellosum* presentó reducción de la fertilidad "masculina" en las flores superiores de cada espiguilla, conservándose tres estaminodios en forma vestigial.

También existen espiguillas trifloras en *Panicum*, en *P. quadriglume* (Döll) Hitchc. (Doell, 1877; Palacios, 1968; Zuloaga & Morrone, 1996), donde la flor superior es perfecta y las dos inferiores neutras. Excepcionalmente se presenta este carácter en *Panicum crateriferum* Sohns y *P. grumosum* Nees, donde la flor superior es perfecta y las inferiores son una estaminada y la otra neutra (especies andromonoicas).

La monoecia ha sido citada en 62 géneros de Poaceae (Connor, 1987). En la tribu Paniceae ha sido mencionada en ocho géneros, de los cuales *Chamaeraphis* R. Br., *Ixophorus* Schlechtd., *Oryzidium* C.E. Hubb. & Schweick., *Xerochloa* R. Br. y *Pseudoraphis* Griff. (Connor, 1981; 1987), poseen espiguillas formadas por una flor superior pistilada y una inferior estaminada, tal como sucede en *P. spathellosum*.

Los estudios efectuados sobre el sistema reproductivo de *P. spathellosum* indican que no existe geitonogamia ni apomixis. La especie se reproduce sexualmente a través de la polinización cruzada (Tabla IV).

Comparando los resultados obtenidos en este trabajo con los observados por Urbani (1990) en *P. elephantipes* Nees ex Trin., se concluye que no existen semejanzas en el sistema reproductivo de ambas especies. En *P. elephantipes* las espiguillas son funcionalmente unifloras y la emergencia de ramas estigmáticas y de estambres es simultánea. Al parecer no existen barreras genéticas que impidan la autofecundación en la flor superior, que en esta especie es perfecta. Si bien en ambas especies el orden de apertura de las flores en la inflorescencia es basípeto, en *P. spathellosum* existe una separación temporal y espacial en la exposición de los estigmas y los estambres en una misma inflorescencia (Fig. 2 A-G).

La polinización anemófila, por su carácter no direccional, involucra una gran pérdida de polen. La presencia de estigmas plumosos incrementa la superficie de captación, funcionando como trampas electrostáticas en miniatura (Erickson & Buchmann, 1983). En estudios realizados en *Pennisetum* Rich. ex Pers., especie andromonoica en la cual se producen dos eventos de polinación, se consideró que este carácter incrementaba su "fitness" (Connor, 1987). Posiblemente en *P. spathellosum* podría pensarse que la reducción en la fertilidad "masculina" de las flores perfectas conduce a una disminución de la capacidad reproductiva. Sin embargo, se observó una alta viabilidad polínica (85,5-93,5 %), elevada producción de frutos por polinización libre (60-81 %), alto porcentaje de germinación (75 %), así como una exitosa propagación vegetativa. Por lo tanto, si bien la anemofilia requiere una elevada producción de polen, el éxito de una especie no sólo dependería de este carácter, sino de un conjunto de características ligadas a su biología.

El polen en las gramíneas es 3-celular (Anton de Triquell, 1987) y algunos autores relacionan este carácter con la pérdida rápida de la viabilidad (Bassani et al., 1994). Shivanna & Johri (1985) sostienen que el polen 3-celular posee una respiración 2 ó 3 veces mayor que en el 2-celular. Otros autores relacionan, en forma directa, la pérdida de viabilidad con la falta de humedad (Sartoris, 1942) estando a su vez ligado a la estructura de la pared del grano (Heslop-Harrison & Heslop-Harrison, 1987). Los granos de polen de *P. spathellosum* son muy pequeños, de pared delgada (Tabla II) y los valores más altos de viabilidad se registraron durante la exposición de las anteras (Tabla III), poste-

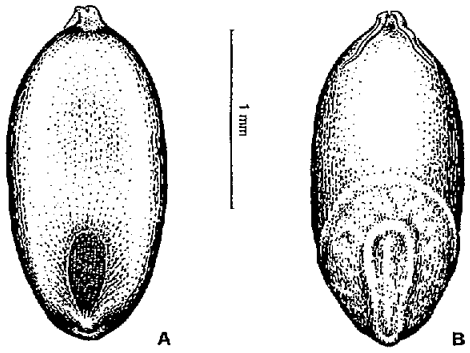

Fig. 4.- Cariopsis: A, vista hilar; B, vista escutelar.

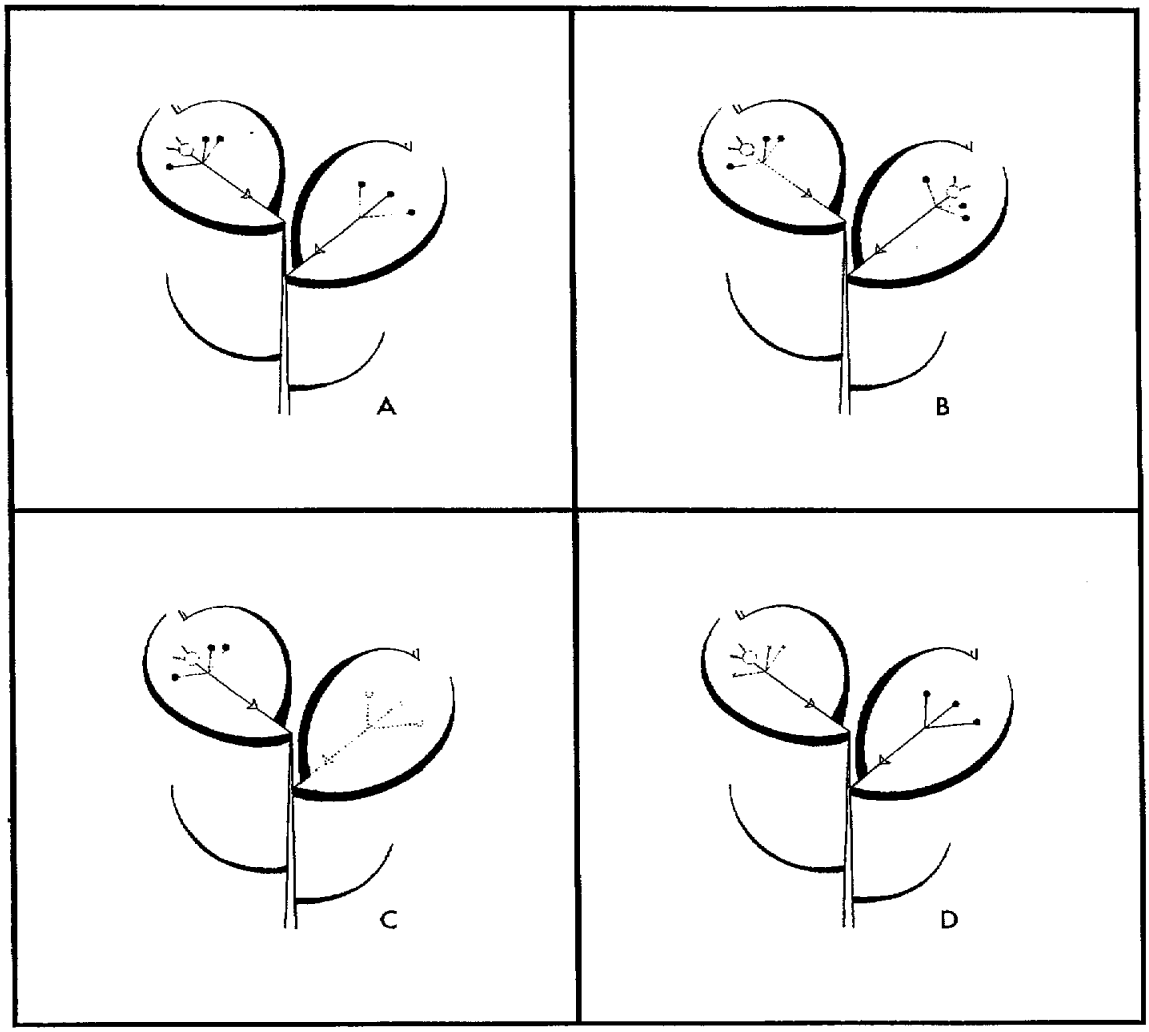

Fig. 5: Representaciones esquemáticas de la variación en la "sexualidad" de las espiguillas bifloras del género *Panicum*. A, espiguilla con flor superior perfecta e inferior estaminada; B, espiguilla con flor superior e inferior perfectas; C, espiguilla con flor superior perfecta e inferior neutra; D, *Panicum spathellosum*, espiguilla con flor superior pistilada (con 3 estaminodios) e inferior estaminada.

riormente decrece con rapidez. Por esta razón la mayor transferencia de polen se produce durante los primeros momentos de la polinación.

El polen de *P. spathellosum* presenta almidón como principal sustancia de reserva lo cual constituye, según Baker & Baker (1979), una fuente de alimento de escaso valor en el caso de que fuese ingerido por insectos (Simpson & Neff, 1983).

La cariopsis es dispersada junto con las glumelas, habiéndose observado su germinación sobre la superficie del agua; una vez que baja el nivel, se fija con rapidez favorecida por la composición del sustrato. Los caracteres de esta diáspora permiten clasificarla como no especializada, según la terminología propuesta por Davidse (1987).

Este trabajo aportó datos que posibilitaron una mejor diferenciación de *P. spathellosum* del resto de las especies del subgénero *Steinchisma*. Se redefinió la distribución geográfica de la especie, extendiéndose en Argentina desde Misiones hasta el norte de la provincia de Buenos Aires. El material de Buenos Aires, determinado previamente como *P. decipiens* (Zuloaga, 1989), corresponde a *P. spathellosum*.

En *Panicum spathellosum* se desarrolla una estrategia distinta al resto del género *Panicum*, aumentando la eficacia de la polinización cruzada por medio de la diclino monoecia y el desfasaje temporal entre la exposición de los estigmas y del androceo.

AGRADECIMIENTOS

Deseo expresar mi más sincero agradecimiento al Dr. Fernando O. Zuloaga por su constante apoyo y por sus valiosas sugerencias, así como a la Dra. Patricia S. Hoc por la lectura crítica del manuscrito. Agradezco también al Sr. Vladimiro Dudás por su colaboración en la realización de las láminas y al D. G. Tomás E. Aversa por la preparación de los esquemas.

BIBLIOGRAFÍA

Anton de Triquell, A. 1987. Grass gametophytes: their origin, structure, and relation with the sporophyte. En: Soderstrom, T. R. & al. (Eds.), *Grass Systematics and Evolution*, pp. 11-20, Smithsonian Institution Press, Washington D.C.

Baker, H. G. & Baker, I. 1979. Starch in angiosperm pollen grains and its evolutionary significance. *Amer. J. Bot.* 66: 591-600.

Bassani, M., Pacini, E & Franchi, G. G. 1994. Humidity stress responses in pollen of anemophilous and entomophilous species. *Grana* 33: 146-150.

Connor, H. E. 1981. Evolution of reproductive systems in the Gramineae. *Ann. Missouri Bot. Gard.* 68: 48-74.

____1987. Reproductive biology in the grasses. En: Soderstrom, T. R. & al. (Eds.), *Grass Systematics and Evolution*, pp. 117-132, Smithsonian Institution Press, Washington D.C.

Cruden, R. W. 1977. Pollen-ovule ratios: a conservative indicator of breeding systems in flowering plants. *Evolution* 31: 32-46.

Davidse, G. 1987. Fruit dispersal in the Poaceae. En: Soderstrom, T. R. & al. (Eds.), *Grass Systematics and Evolution*, pp. 143-155, Smithsonian Institution Press, Washington D.C.

Doell, J. C. 1877. Gramineae. En *Flora Brasiliensis* 2 (2): 220.

Erdtman, G. 1969. *Handbook of Palinology: Morphology-Taxonomy-Ecology: An Introduction to the Study of Pollen Grains and Spores.* New York: Hafner.

Erickson, E. H. & Buchmann, S. L. 1983. Electrostatics and pollination. En: Jones, E. C. & Little, J. R. (Eds.), *Handbook of Experimental Pollination Biology*, pp. 173-184, Scientific and Academic editions.

Greissl, R. 1989. Vitality analysis of monadic and polyadic pollen grains using optical contrast fluorescence microscopy. *Scientific and Technical Information* 9 (5): 180-184.

Heslop-Harrison, J. & Heslop-Harrison, Y. 1987. Pollen-Stigma interaction in the grasses. En: Soderstrom, T. R. & al. (Eds.), *Grass Systematics and Evolution*, pp. 133-142, Smithsonian Institution Press, Washington D.C.

Kearns, C. A. & Inouye, D. W. 1993. *Techniques for Pollination Biologists.* University Press of Colorado. 563 pp.

Osborn, M. M., Kevan, P. G. & Lane, M. A. 1988. Pollination biology of *Opuntia polyacantha* and *Opuntia phaecantha* (Cactaceae) in Southern Colorado. *Pl. Syst. Evol.* 159: 85-94.

Palacios, R. A. 1968. Variaciones en la estructura de las espiguillas en algunas especies argentinas de *Panicum*. *Bol. Soc. Argent. Bot.* 12: 38-43.

Sartoris, G. B. 1942. Longevity of sugarcane and corn pollen - a method for long-distance shipment of sugarcane pollen by airplane. *Amer. J. Bot.* 29: 395-400.

Shivanna, K. R. & Johri, B. M. 1985. *The Angiosperm Pollen. Structure and Function.* Wiley Eastern Limited. 374 pp.

Simpson, B. B. & Neff, J. L. 1983. Evolution and diversity of floral rewards. En: Jones, E. C. & Little, J. R. (Eds.), *Handbook of Experimental Pollination Biology*, pp. 142-159, Scientific and Academic editions.

Urbani, M. H. 1990. Citología y método de reproducción de *Panicum elephantipes* (Gramineae). *Bol. Soc. Argent. Bot.* 26 (3-4): 205-208.

Watson, L. & Dallwitz, M. J. 1992. *The Grass Genera of the World*. C.A.B. International 1038 pp.

Zuloaga, F. O. 1979. El género *Panicum* (Gramineae) en la República Argentina I. *Darwiniana* 22 (1-3): 3-44.

_____ 1981. El género *Panicum* (Gramineae) en la República Argentina II. *Darwiniana* 23: 233-256.

_____1987. Systematics of New World species of *Panicum* (Poaceae: Paniceae). En: Soderstrom, T. R. & al. (Eds.), *Grass Systematics and Evolution*, pp. 287-306, Smithsonian Institution Press, Washington D.C.

_____1989. El género *Panicum* (Poaceae: Paniceae) en la República Argentina III. *Darwiniana* 29 (1-4): 289-370.

_____1994. *Paniçum*. En: Spichiger, R. & Ramella, L. (Eds.), Gramineae V, Panicoideae Paniceae, *Flora del Paraguay* 23: 225-227, Missouri Botanical Garden.

Zuloaga, F. O.& Morrone, O. 1996. Revisión de las especies americanas de *Panicum* subgénero *Panicum* sección *Panicum* (Poaceae: Panicoideae: Paniceae). *Ann. Missouri Bot. Gard.* 83: 198-278.

Zuloaga, F. O. & Sendulsky, T. 1988. A revision of *Panicum* subgenus *Phanopyrum* section *Stolonifera* (Poaceae: Paniceae). *Ann. Missouri Bot. Gard.* 75: 420-455.

Original recibido el 19 de abril 1996; aceptado el 2 de agosto de 1996 .