

INTERPRETACION DEL ORNAMENTO DEL ANTECIO DE *ERIOCHLOA* (POACEAE)

Por MIRTA O. ARRIAGA¹

SUMMARY

Epidermal features of lemma and palea were studied by scanning electron microscopy (SEM) and energy dispersive X-ray analysis (EDAX) in four species of *Eriochloa* Kunth inhabiting Argentine Republic. The presence of papillae in the long cells was a conspicuous feature observed. These papillae have three prominences in the tangential wall, corresponding to inorganic microbodies placed into the wall. EDAX showed the siliceous nature of those microbodies. The term *warty papillae* is proposed to denominate this kind of ornamentation. The terminology: wart, papillae and compound papillae is discussed and illustrated.

INTRODUCCION

La Microscopía Electrónica de Barrido (MEB) y el análisis de dispersión energética de rayos-X (EDAX), se han utilizado en general para realizar estudios de distribución y morfología de cuerpos silíceos (Kaufman *et al.*, 1969 y 1972; Soni *et al.*, 1970; Baum, 1971; Baum y Hadland, 1973; Stant, 1973; Clark y Gould, 1975; Hayward y Parry, 1975; Thomasson, 1978 a y b; Terrel y Wergin, 1979 y 1981; Shaw y Smeins, 1981; Terrel *et al.*, 1983).

Como parte de una revisión del género *Eriochloa* Kunth, iniciada hace un tiempo, se realizaron observaciones con Microscopía Electrónica de Barrido en algunas piezas de la espiguilla.

Al estudiar las lemmas y páleas de *Eriochloa* el caracter más conspicuo que se observa es la presencia de papilas sobre las células largas. Dichas papilas presentan en vista topográfica, tres prominencias en la pared tangencial externa.

Papilas de características similares fueron descritas por Clark y Gould (1975), Terrel y Wergin (1981), Shaw y Smeins (1981)

¹ Miembro de la Carrera del Investigador Científico (CONICET). Museo Argentino de Ciencias Naturales "Bernardino Rivadavia", Div. Anatomía Vegetal, Angel Gallardo 470, 1405 Buenos Aires.

y Zuloaga y Soderstrom (1985). En estos trabajos se utiliza la presencia, posición y frecuencia de dichas papilas por su valor taxonómico, denominándose las papilas compuestas.

Lo conspicuo de estas estructuras y la sospecha de que no se trataría de papilas compuestas, motivó profundizar en el conocimiento de su naturaleza. Así, una observación más cuidadosa de las papilas existentes en las especies de *Eriochloa* de la flora argentina mostró que las prominencias de la pared tangencial externa se corresponden con pequeños cuerpos incluidos en la pared celular, cuya composición química se logra determinar.

MATERIAL Y METODO

Las observaciones se realizaron con el Microscopio Electrónico de Barrido², realizándose además el análisis de la dispersión energética de rayos-X y su graficación³.

Dichas observaciones se realizaron en la epidermis externa de lemma y pálea, en vista superficial y en cortes longitudinales y transversales de antecios. Los materiales fueron adheridos sobre cinta engomada; posteriormente tratados con carbono y metalizados con oro-paladio en un evaporador al vacío.

Se trabajó con un voltaje entre 10 y 14 kV y con aumentos que varían entre 35 y 5000 X.

El diagrama de dispersión energética de rayos-X no lleva detalle en las coordenadas ya que se trata de un análisis cualitativo.

Reacciones histoquímicas: La naturaleza silíceo de los cuerpos presentes en la pared de las papilas de la epidermis, se puso de manifiesto mediante el uso de ciertos reactivos y su posterior observación con microscopio óptico, a saber: a) con fenol líquido los cuerpos silíceos se presentan refringentes y se colorean con leve tonalidad rosada; b) con ácido fluorhídrico los cuerpos silíceos se disuelven.

En todos los casos se trabajó con antecios extraídos de ejemplares de herbario, pertenecientes a las siguientes instituciones: Museo Argentino de Ciencias Naturales "Bernardino Rivadavia" (BA); Herbario "Gaspar Xuarez", Facultad de Agronomía, Universidad de

² M.E.B. Jeol JSM-U3 y Jeol JSM 35F ambos pertenecientes al Servicio de Microscopía del CONICET; M.E.B. Phillips 505 del Servicio de Microscopía Analítica, Dpto. Mecánica, INTI.

³ Equipo EDAX Phillips 9100 del Servicio de Microscopía Analítica, Dpto. Mecánica, INTI.

Buenos Aires (BAA); Instituto de Botánica Agrícola, Castelar (BAB); Museo Botánico de Córdoba (CORD); Instituto de Botánica del Nordeste (CTES); Instituto Miguel Lillo (LIL).

La delimitación de las especies se realizó según el criterio de Parodi (1965).

Material examinado:

Eriochloa gracilis (Fourn.) Hitchc.: ARGENTINA. Prov. Córdoba, Dpto. Tulumba, Salinas Grandes, a 2,5 km de Totoralejos hacia el límite con Catamarca, A. T. Hunziker 10990, 19-IV-1955 (CORD-BAA). ESTADOS UNIDOS DE NORTEAMERICA: Arizona, Tucson, Hitchcock 1574, 11-IX-1915 (LIL). *Eriochloa montevidensis* Griseb.: ARGENTINA: Capital Federal, Palermo, Lovaglio 31, 15-VI-1964 (BA). Prov. Jujuy: Dpto. San Pedro, Ruta Nac. 34, El Quemado, Krapovickas et al. 26696, 9-XI-1974 (CTES). Prov. Santa Fe. Dpto. San Javier, al sur de Romang, Castellanos s/n, 14-I-1937 (BA 19438). Prov. Tucumán, Dpto. Leales, Los Gómez, Venturi 702, XI-1919 (BA). *Eriochloa pseudoacrotricha* (Stapf) Hubbard: ARGENTINA: Prov. La Rioja, Dpto. Independencia, Patquía, Establecimiento Santa Rosa, Lahitte y Castro 47614, 14-III-1933 (BAB). AUSTRALIA: New South Wales, Armatree District, Buckley 4860, 2-VII-1948 (LIL). *Eriochloa punctata* (L.) Desv.: ARGENTINA: Prov. Buenos Aires, Isla Martín García, Castellanos s/n, 6/7-IV-1928 (BA 28/490). Prov. Chaco, Dpto. Gral. San Martín, R 7 y A° Tuca, León 2968, 3-X-1980 (BA). Dpto. Indet., Puente del río Tragadero, Schulz 12216, 14-III-1963 (BA). Prov. Entre Ríos, Dpto. Colón, Colón a orillas del río Uruguay, Arriaga 312, 20-IV-1984 (BA). Dpto. Concordia, Arroyo Arrebatacapa, Castellanos s/n, 28-I-1931 (BA 31/880). Prov. Misiones, Puerto Paranay, Alto Paraná, Parodi 5532, 15-II-1924 (BAA). Prov. Tucumán, Dpto. Leales, Chañar Pozo, Venturi 716, XII-1919 (BA).

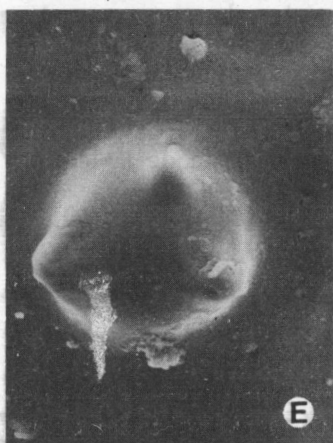
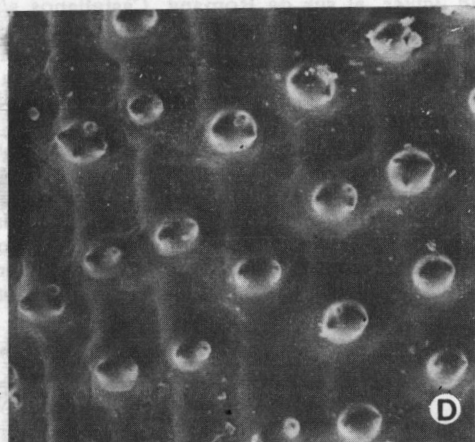
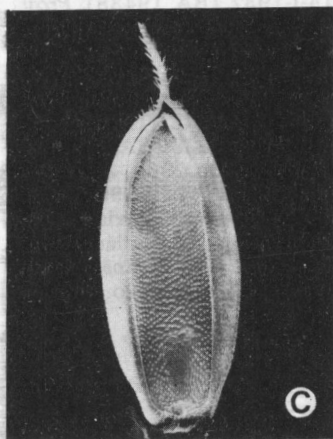
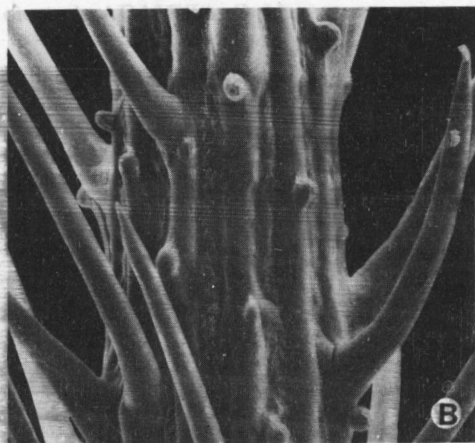
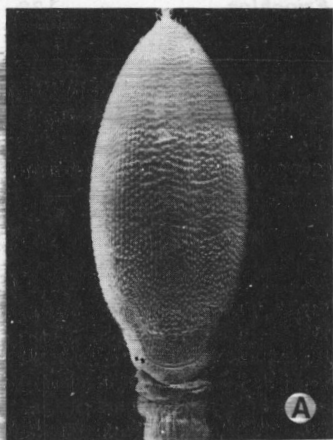
OBSERVACIONES

En las especies de *Eriochloa* estudiadas, la epidermis externa del antecio está formada por células largas angostas, de gruesas paredes sinuosas (Fig. 1, B). Cada una de estas células presenta una papila de posición excéntrica, ubicada hacia el extremo distal del antecio. Las papilas se encuentran formando hileras perfectamente ordenadas sobre toda la superficie de la lemma y la pálea (Fig. 1, A y C), observándose también en las células largas de la arista de la lemma (Fig. 1, B).

Dichas papilas, en vista topográfica, presentan tres prominencias agudas u obtusas (Fig. 1, E y F; Fig. 2, B d) que se corresponden con cuerpos de sílice ubicados en la pared tangencial externa (Fig. 1, G; Fig. 2, B e).

Estos cuerpos, generalmente ovoides, se disuelven con ácido fluorhídrico y se tiñen de rosa brillante con fenol líquido.

Se utilizó análisis EDAX para confirmar la naturaleza silíceas de estos corpúsculos. El mismo se aplicó directamente sobre los cuer-



pos incluidos en la pared, que quedaron expuestos en cortes transversales y longitudinales del antecio (Fig. 1, G). El resultado obtenido muestra muy alta concentración de Si en las zonas correspondientes a los cuerpos de la pared celular. El diagrama graficado (Fig. 2, A) muestra dos picos de dispersión: uno corresponde al silicio (Si) del cuerpo incluido en la pared, el otro al oro (Au) utilizado en el proceso previo de metalizado.

Diagramas de dispersión obtenidos en otros puntos de la pared de la misma papila, en células epidérmicas de la cara interna del antecio y en algunas células del mesófilo de los órganos estudiados, no denotan presencia de sílice.

DISCUSION

Ya habían sido descritas papilas en la superficie de antecios de distintos géneros de Gramíneas. Las mismas fueron clasificadas en: papilas simples y papilas compuestas.

Se observaron papilas simples en: páleas de *Dichantherium* (Hitchcock & Chase) Gould y *Echinochloa* Beauv. (Clark y Gould, 1975); páleas fósiles de *Panicum elegans* Elias (Thomasson, 1978 b); lemmas de *Zizania* L. (Terrel y Wergin, 1981); lemmas y páleas en algunas especies de *Brachiaria* Griseb., *Acroceras* Stapf y *Streptostachys* Desv. (Zuloaga y Soderstrom, 1985). Estas papilas muestran alto contenido de sílice en el lumen de la célula, fueron denominadas "papilas silíceas" por Terrel y Wergin (1981).

Las descritas como papilas compuestas son similares a las presentes en *Eriochloa* y fueron observadas en lemmas y páleas de algunas especies de *Panicum* L. (Clark y Gould, l.c.; Zuloaga y Soderstrom, l.c.); páleas de *Brachiaria megastachya* (Nees ex Tr.) Zuloaga y Soderstrom, lemma y pálea de *B. tatarica* Zuloaga y Soderstrom y *Tatiana* (Tr.) Zuloaga y Soderstrom (Zuloaga y Soderstrom, l.c.). Los únicos autores que realizaron tests para determinar la naturaleza de las papilas compuestas fueron Clark y Gould (l.c.:

Fig. 1.— *Eriochloa montevidensis* (Venturi 702): A, vista general de lemma fértil (22 X). *E. pseudoacrotricha* (Buckley 4860): B, papilas sobre la arista del antecio (600 X). D, papilas en la superficie de la lemma fértil (500 X). *Ibid.* (Lahitte y Castro 47614): C, antecio visto desde la pálea (22 X). *E. gracilis* (Hunziker 10990): E, detalle de una papila sobre la cara externa de la lemma fértil (2600 X). *E. punctata* (BA 31/880): F, detalle de papilas sobre la cara externa de la pálea (2500 X). G, corte tangencial de una papila, de la cara externa de la pálea, donde se observa el cuerpo de sílice ubicado en la pared celular (2500 X); en el punto señalado por la flecha se aplicó análisis EDAX.

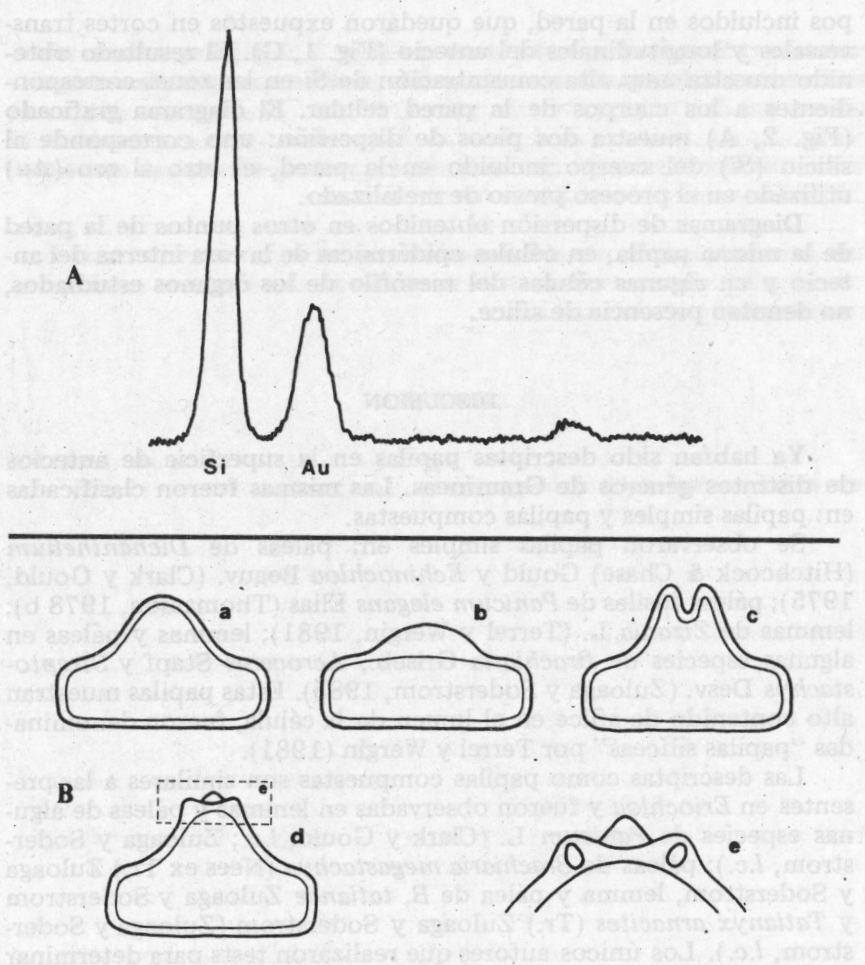


Fig. 2.— A, diagrama de la dispersión energética de rayos-X (EDAX) aplicado en el punto que muestra la Fig. 1, G. Si, pico de dispersión del silicio. Au, pico de dispersión del oro. B, esquematización de corte longitudinal de: a) papila; b) verruga; c) papila compuesta; d) papila verrugosa de *Eriochloa*; e) detalle del corte longitudinal del dibujo d, donde se observan los cuerpos de sílice localizados en la pared.

748). Comprobaron que al tratarlas con ácido fluorhídrico, las mismas se diluían totalmente. Por el contrario, en las especies de *Eriochloa* estudiadas en este trabajo, el tratamiento con ácido fluor-

hídrico disuelve sólo los corpúsculos de sílice localizados en la pared celular, dejando intacta la papila.

"Papilas compuestas" ya habían sido observadas para algunas especies norteamericanas de *Eriochloa* (Shaw y Smeins, 1981), coexistiendo en la mayoría de los casos con papilas simples. Esto difiere de lo descrito para las especies que habitan la Argentina, donde nunca hay dos tipos de papilas sino que tanto en lemma como en pálea, se aprecia una gran homogeneidad en el aspecto topográfico.

Además en las especies estudiadas en el presente trabajo, las papilas muestran siempre tres prominencias en la pared, en las especies norteamericanas el número de prominencias varía de 2-5 (Shaw y Smeins, l.c.).

Al analizar el tipo de estructura que poseen las papilas estudiadas debemos considerar lo siguiente:

a) El término *papila* indica una prominencia epidérmica roma que incluye la pared, la cutícula y el lumen celular (Prat, 1935: 96, en el presente trabajo Fig. 2 B, a).

b) El término *verruga* indica una prominencia epidérmica formada solamente por la pared celular y/o la cutícula (Prat, 1935: 96-97; en el presente trabajo Fig. 2 B, b).

c) El término *papila compuesta* implica una expansión de la pared celular, acompañada por el lumen de la célula, que en su parte superior presenta 2 a más crestas cada una de las cuales es acompañada, aunque sea en forma incipiente, por el lumen celular. De ellas las más comunes son las papilas bifurcadas (Fig. 2 B, c).

Las papilas presentes en la cara externa del antecio, en las especies de *Eriochloa* de la flora argentina, deben interpretarse como papilas que poseen tres verrugas sobre su superficie (Fig. 2 B, d y e). Para denominarlas propongo el término *papilas verrugosas*.

Solamente se determinó silicio (*Si*) y no oxígeno (*O*) debido a la dificultad que presenta la determinación de este último elemento directamente con EDAX, especialmente en materiales biológicos. Hay clara evidencia que el *Si* está asociado al *O* formando SiO_2 en este tipo de materiales (Lewin y Reimann, 1969) y es así como se ha interpretado en el presente trabajo.

La mayoría de los depósitos de SiO_2 ocurren en el lumen de las células; se ha detectado también *Si* en la pared de células largas, papilas y otras formaciones epidérmicas como ganchos y agujones. En este último caso la sílice se encuentra como gel entre las microfibrillas que conforman la pared celular (Soni *et al.*, 1970).

En el caso de las especies de *Eriochloa* estudiadas en el presente trabajo, el SiO_2 se encuentra formando cuerpos generalmente ovoides, localizados dentro de la pared celular. La ubicación de estos

cuerpos en la pared de la papila origina verrugas sobre la superficie de la misma.

Martin y Juniper (1970), para algunas familias de dicotiledóneas citan la presencia de lentes en cutícula o pared de la epidermis foliar. Estas lentes están constituidas solamente por el engrosamiento local de la pared celular o de la cutícula, sin que exista depósito de sílice. Es necesario destacar que al observar la ilustración de las mismas podrían confundirse con cuerpos minerales.

Borissow (1928) en la familia *Poaceae* describe e ilustra cuerpos de sílice depositados sobre la pared secundaria, en endodermis de raíz de *Andropogon*. Sobre los mismos se depositó luego una pared terciaria, de esta forma queda incluido el cuerpo en la pared celular. Frey-Wyssling (1959, 1976) cita el trabajo anterior.

La diferencia que existe entre la estructura ilustrada por Borissow y la observada en los antecios de *Eriochloa* es la siguiente: en *Eriochloa* los cuerpos de sílice están ubicados en la pared tangencial externa de la epidermis, y son prominentes hacia el exterior de la célula. En la endodermis de *Andropogon*, los cuerpos silíceos se ubican en la pared tangencial interna y son prominentes hacia el lumen celular.

Parry y Kelso (1975); Sangster y Parry (1976) describen depósitos granulares de sílice en la pared celular de endodermis de raíz de *Molinia* Schrank y *Sorghum* Moench, respectivamente. Estos depósitos difieren de lo observado en *Eriochloa* por no conformar un solo corpúsculo silíceo sino un agregado de sílice. Además están ubicados en la pared tangencial interna de la endodermis y son prominentes hacia el lumen celular, como en el caso descripto para *Andropogon*.

En la familia *Cyperaceae*, Ragonese *et al.* (1984) observaron en epidermis de aquenios de *Rhynchospora* Vahl cuerpos de sílice depositados sobre la pared tangencial interna; luego sobre ellos se forma un septo de celulosa, que incluiría al cuerpo de SiO_2 dentro de la pared celular.

A pesar de haberse realizado observaciones con ese objeto, no pudo establecerse si los cuerpos de sílice presentes en la pared de las papilas de las células largas, son cuerpos que quedan incluidos dentro de la pared celular por depósito de una pared terciaria, como los citados por Borissow y Frey-Wyssling.

Tampoco pudo establecerse en qué momento se deposita la sílice en la pared celular. Pero dado que estos cuerpos se localizan siempre en la pared tangencial externa, en número de tres por célula, y en todas las células largas del antecio, debemos considerar que no se trata de un proceso de depósito fortuito, sino que se encontraría regido genéticamente. Esto nos llevaría a pensar que estos cuerpos observados dentro de la pared tangencial externa responden a

una función determinada, el establecimiento de la cual requeriría experimentación y estudios más profundos.

RESUMEN Y CONCLUSIONES

Se realizaron observaciones con MEB en la superficie del antecio de las especies argentinas de *Eriochloa*, observándose papilas sobre la epidermis externa de la lemma y la pálea. Las papilas han sido observadas también sobre la arista de la lemma.

Dichas papilas presentan tres verrugas, originadas por la inclusión de cuerpos ovoides en la pared tangencial externa de la célula. Se propone denominarlas *papilas verrugosas*.

Se realizaron tests histoquímicos con fenol líquido y con ácido fluorhídrico, también se aplicó análisis EDAX para determinar la naturaleza química de estos cuerpos de la pared de la papila, dando por resultado gran concentración de Si. De acuerdo con la bibliografía ya existente, se interpreta que dicha sílice se encuentra combinada como SiO_2 , siendo la primera vez que se describe tal compuesto formando cuerpos sólidos (en este caso cuerpos de forma ovoide) incluidos en la pared tangencial externa de epidermis de gramíneas.

AGRADECIMIENTOS

Deseo expresar mi agradecimiento a las siguientes personas: Dra. Evangelina Sánchez y Prof. E. Rosa Guaglianone por la lectura crítica del manuscrito y valiosas sugerencias. Lic. Arnaldo Aliscioni por el montaje y confección de las ilustraciones. Srta. Rosa Cristina Maetakeda por la preparación de los materiales utilizados en el presente trabajo. Sra. María Dolores Montero por el mecanografiado del texto. Sra. Dora T. de Lotito por la generosa ayuda brindada. A los Servicios de Microscopía Electrónica de CONICET e INTI. A los técnicos y curadores de los herbarios consultados.

BIBLIOGRAFIA

- BAUM, B. R. 1971. Additional Taxonomic Studies on *Avena* Fatuoids: some morphological Attributes seen using the Scanning Electron Microscope. *Canad. J. Bot.* 49: 647-649.
- y V. E. HADLAND. 1973. A Scanning Electron Microscope study of epicuticular waxes in *Avena magna*, *A. murphyi* and *A. pterilis*. *Canad. J. Bot.* 51: 2381-2383.
- BORISSOW, G. 1925. Rasdorskys Körperchen bein Ravenna-Gras. *Ber. Dtsch. Bot. Ges.* 43: 178.

- 1928. Weitere Untersuchungen über die Kieselkörperchen in der Wurzel endodermis bei den *Andropogoneen*. *Ber. Dtsch. Bot. Ges.* 46: 463; lám. 15 y 16.
- CLARK, C. A. y F. W. GOULD. 1975. Some epidermal characteristics of paleas of *Dichanthelium*, *Panicum* and *Echinochloa*. *Amer. J. Bot.* 62 (7): 743-748.
- ELLIS, R. P. 1979. A procedure for standarizing comparative leaf anatomy in the *Poaceae* II. The epidermis as seen in surface view. *Bothalia* 12(4): 641-671.
- FREY-WYSSLING, A. 1959. *Die Pflanzliche Zellwand*: 64; fig. 47 e.
- 1976. The plant cells en Linsbauer, K., *Handbuch der Pflanzenanatomie* 1, 3 (4) Cytologie.
- HAYWARD, D. M. y D. W. PARRY. 1975. Scanning electron microscopy of silica deposition in the leaves of barley (*Hordeum sativum* Jess). *Ann. Bot.* 39: 1003-1009.
- KAUFMAN, P. B.; BIGELOW, W. C.; PETERING, L. B. y L. B. DROGOSZ. 1969. Silica in developing epidermal cells of *Avena* internodes: Electron microprobe analysis. *Science* 166: 1015-1017.
- ; LA CROIX, J. D.; ROSEN, J. J.; ALLARD, L. F. y W. C. BIGELOW. 1972. Scanning electron microscope and electron microprobe analysis of silicification patterns in inflorescens bracts of *Avena sativa*. *Amer. J. Bot.* 59(10): 1018-1025.
- LANNING, F. C.; B. W. X. POUNAIYA y C. F. CRUMPTON. 1958. The chemical nature of silica in plants. *Pl. Physiol.*, Lancaster 33: 339-343.
- LEWIN, J. C. y B. E. F. REIMANN. 1969. Silicon and plant growth. *A. Rev. Pl. Physiol.* 20: 289-304.
- MARTIN, J. T. y B. E. JUNIPER. 1970. *The cuticles of plants*: 218.
- NETOLITZKI, F. 1929. Die Kieselkörper en Linsbauer, *Handb. Pflanzenanat.* 3 (1^a): 1-19.
- PARODI, L. R. 1965. Las especies argentinas de *Eriochloa* (Gramineae). *Kurtziana* 2: 95-106.
- PARRY, D. W. y M. KELSO. 1975. The distribution of silicon deposits in the roots of *Molinia caerulea* (L.) Moench. and *Sorghum bicolor* (L.) Moench. *Ann. Bot.* 39: 995-1001.
- PARRY, D. W. y F. SMITHSON. 1958. Techniques for studying opaline silica in Grass Leaves. *Ann. Bot.*, N.S., 22(88): 543-549.
- 1964. Types of opaline silica depositions in the leaves of British Grasses. *Ann. Bot.*, N.S., 28(109): 169-185.
- PRAT, H. 1935. Sur l'étude microscopique des épidermes végétaux. *Bull. Soc. Fr. Microscopie* 4(3): 86-104.
- RAGONESE, A. M.; E. R. GUAGLIANONE y C. DIZEO de STRITTMATTER. 1984. Desarrollo del pericarpio con cuerpos de sílice de dos especies de *Rhynchospora* Vahl (Cyperaceae). *Darwiniana* 25(1-4): 27-41.
- SANGSTER, A. G. y D. W. PARRY. 1976a. Endodermal silicon deposits and their linear distribution in developing roots of *Sorghum bicolor* (L.) Moench. *Ann. Bot.* 40: 361-371: 4 láms.
- 1976b. Endodermal silicification in nature, nodal roots of *Sorghum bicolor* (L.) Moench. *Ann. Bot.* 40: 373-379, 1 lám.
- SHAW, R. B. y F. E. SMEINS. 1981. Some anatomical and morphological characteristics of the North American species of *Eriochloa* (Poaceae: Paniceae). *Bot. Gaz.* 142(4): 534-544.
- SONI, S. L.; KAUFMAN, P. B. y W. C. BIGELOW. 1970. Electron Microprobe Analysis of the distribution of silicon in leaf epidermal cells of the oat plant. *Phytomorphology* 20(4): 350-362.

- STANT, M. Y. 1973. Scanning electron microscopy of silica bodies and other epidermal features in *Gibasis (Tradescantia)* leaf. *J. Linn. Soc. Bot.* 66(3): 233-244.
- TERREL, E. E. y W. P. WERGIN. 1979. Scanning Electron Microscopy and energy dispersive X-ray analysis of leaf epidermis in *Zizania (Gramineae)*. *Scanning Electron Microsc.* 3: 81-88.
- 1981. Epidermal features and silica deposition in lemmas and awns of *Zizania (Gramineae)*. *Amer. J. Bot.* 68(5): 697-707.
- TERREL, E. E.; WERGIN, W. P. y S. A. RENVOIZE. 1983. Epidermal features of spikelets in *Leersia (Poaceae)*. *Bull. Torrey Bot. Club* 110(4): 423-434.
- THOMASSON, J. R. 1978 a. Epidermal patterns of the lemma in some fossil and living grasses and their phylogenetic significance. *Science* 199: 975-977.
- 1978 b. Observations on the characteristics of the lemma and palea of the late Cenozoic grass *Panicum elegans*. *Amer. J. Bot.* 65(1): 34-39.
- ZULOAGA, F. O. y T. R. SODERSTROM. 1985. Classification of the outlying species of New World *Panicum (Poaceae: Paniceae)*. *Smithsonian Contr. Bot.* 59: 1-63.