

# Efecto del Estrés Hídrico en el Estado Reproductivo en Pasto Llorón *Eragrostis curvula* (Schrad) Nees<sup>1</sup>

C.V. Echenique\*, P.A. Polci\*

## ABSTRACT

The effect of drought during the reproductive stage was studied in three weeping lovegrass cultivars: Don Pablo, Don Eduardo and Tanganyika. Water was partially withdrawn at the beginning of the reproductive period (Nov.-Dec.) and at the young panicle stage. Water stress effect was studied on: meiosis at the pollen mother cells, percentage of viable pollen grains, grain size and grain external surface and isozymic patterns of esterases, peroxidases and acid phosphatases. Seed phenotypes, isozymic patterns, germination power and seedling characteristics of the next generation were also studied. Water stress caused decreases in cell number and size and increased the percentage of meiotic irregularities: there were no oriented chromosomes, univalents, lagging chromosomes, dicentric bridges and micronucleus. A decrease in pollen viability was also observed. Pollen size and external surface were less affected. Panicle number and size were also affected and isozyme patterns were quantitatively and qualitatively altered, with a general increase in enzymatic activity. The increase in the activity of hydrolytic enzymes might be one of the causes of the alterations mentioned. Alterations in seed weight, color and isozyme patterns were also observed. No genotypic treatment differences were observed in seed germinating power, but seedling size was less than that of the control treatment. Isozymic patterns of these plants were also different, with qualitative and quantitative changes in all three investigating systems, with a general increase in acid phosphatase and peroxidase activity. A water stress period during the reproductive stage not only altered the normal development of plants, but also their offspring.

## INTRODUCCIÓN

La exposición al estrés hídrico severo durante un corto período tendría diversos efectos sobre el desarrollo de la planta, según su estado ontogénico. Si ocurriese durante el período repro-

## RESUMEN

Se estudió el efecto de un período de sequía durante el estado reproductivo en tres cultivares de pasto llorón: Don Pablo, Don Eduardo y Tanganyika. El riego diferencial se comenzó al inicio del período reproductivo (nov.-dic.) y en las etapas juveniles de las panojas. Se analizó su efecto sobre la meiosis en las células madres del polen, el porcentaje de granos de polen viables, el tamaño y características externas y los patrones isoenzimáticos de esterases, peroxidadas y fosfatasa ácida. También se estudiaron algunas características fenotípicas y patrones isoenzimáticos de las semillas y de las plántulas de la siguiente generación. El estrés hídrico provocó la disminución en el número y tamaño de las células y el incremento en el porcentaje de irregularidades meióticas: cromosomas no orientados, univalentes, cromosomas rezagados, puentes dicéntricos y micronúcleos. La viabilidad del polen disminuyó, pero el tamaño en menor medida, observándose ligeras alteraciones superficiales. El tamaño y número de las panojas fueron menores, con alteraciones cualitativas y cuantitativas de los patrones isoenzimáticos, incremento en la actividad de peroxidasa y fosfatasa ácida, que sería una de las causas de las alteraciones observadas. El color, peso y patrones isoenzimáticos de las semillas también fueron afectados, pero no su poder germinativo. El tamaño de las plántulas fue menor que el de aquellas provenientes de semillas de control, con cambios cualitativos y cuantitativos en los tres sistemas isoenzimáticos, incrementándose la actividad de fosfatasa ácida y peroxidasa. El estrés hídrico durante la etapa reproductiva no sólo altera el desarrollo normal de la planta afectada, sino que también sus efectos se manifiestan en su progenie.

Palabras clave: Irregularidades meióticas, viabilidad del polen, isoenzimas, estrés hídrico.

ductivo, podría ser crítico, debido a que abarca una serie de procesos irreversibles y no compensatorios que son diferencialmente sensibles al estrés (Namuco y O'Toole 1986). Si alguno de ellos resultara afectado, podría comprometerse la fertilidad de la planta y, por ende, su progenie. Un proceso potencialmente sensible es el desarrollo del polen (Bingham 1966; Morgan y King 1984; Namuco y O'Toole 1986). También se ha documentado la sensibilidad del gameto femenino en maíz (Moss y Downey 1971). Saini y Aspinall (1981) encontraron que en

<sup>1</sup> Recibido para publicar el 15 de marzo de 1994

\* Dpto. de Agronomía (Universidad Nacional del Sur). San Andrés 800, 8000 Bahía Blanca, Buenos Aires. Arg

trigo el desarrollo del polen es más sensible que la gametogénesis femenina al estrés hídrico.

Diversos autores se refieren a la influencia de los factores climáticos en la incidencia de anomalías meióticas, entre las que se citan la temperatura, luz y sequía (Bayliss y Riley 1972; Bennett *et al.* 1972; Del Luca y Moraes-Fernandes 1980; Maan y McCracken 1968; Moraes-Fernandes 1982; Utkhede y Jain 1974), y señalan el incremento de numerosas aberraciones cromosómicas al aumentar la severidad del estrés (Chang 1964; Namuco y O'otoole 1986). En algunas gramíneas, la ocurrencia de la sequía durante la meiosis provoca la disminución en la producción de semilla por inducción de androsterilidad (Bingham 1966), respuesta atribuida al incremento en la concentración de ácido abscísico (AbA) endógeno que se acumula en las espigas o panojas por el estrés (Morgan 1980).

El objetivo de este trabajo fue estudiar la incidencia de un período de sequía durante el estado reproductivo en tres cultivares de pasto llorón con diferente comportamiento ante el estrés. Se registraron alteraciones en las distintas etapas del proceso meiótico en las células-madres del polen, las características externas y el tamaño de los granos, y se determinó la viabilidad de éstos. Asimismo se estudiaron las alteraciones isoenzimáticas en las panojas provenientes de plantas sometidas a sequía y el efecto de dicho factor ambiental sobre las características fenotípicas, patrones isoenzimáticos y poder germinativo de la semilla, y sobre las características de las plántulas provenientes de las mismas.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### Material vegetal

Plantas de un año de pasto llorón, *E. curvula* (Schrad.) Nees, cvs. Tanganyika, Don Pablo y Don Eduardo, se dejaron crecer a la intemperie en recipientes que contenían 15 000 cc de suelo.

### Tratamientos de sequía

Los controles (C) corresponden a plantas regadas a capacidad de campo, mientras que en las tratadas el riego diferencial comenzó a partir del inicio del período reproductivo (noviembre -diciembre) y en eta-

pas juveniles de las panojas (E2 y E1, respectivamente). Este riego consistió en 200 ml - 300 ml de agua cada dos a tres días.

### Estudio meiótico

Panojas inmaduras se fijaron en líquido de Farmer (etanol:ácido acético glacial, 3:1) durante 24 h a temperatura ambiente y se conservaron en etanol al 70% (v/v) a 4°C hasta el momento de su utilización. La tinción se realizó con carmín acético (2% p/v) y hematoxilina acética (2% p/v) (Núñez 1968). En cada caso se contaron entre 300 y 500 células.

### Viabilidad del polen

Panojas próximas a la antesis se fijaron y se conservaron —como se indicó en el punto anterior. El porcentaje de granos viables se determinó por tinción diferencial con el colorante de Alexander (1969), por el cual se consideró viables los granos uniformemente teñidos y con más del 70% de contenido celular. Se contaron 500 granos de cada muestra.

### Microscopía electrónica de barrido

Panojas próximas a la antesis se fijaron en alcohol al 50% (v/v): ácido acético glacial: formaldehído 40% (p/v) (90:5:5) y se conservaron en etanol al 70% (v/v) a 4° centígrados. Las anteras se abrieron en una gota de etanol al 70% sobre el portamuestras y los granos de polen se dejaron secar al aire y se recubrieron con una fina capa de oro y carbón con rotación en alto vacío. Las observaciones se realizaron con un microscopio electrónico de barrido Jeol 35F operado con cinco kilovatios.

### Contenido relativo de agua (CRA)

El contenido relativo de agua se determinó en hojas de acuerdo a Turner (1981). Se realizaron tres determinaciones por tratamiento.

### Semillas

Se utilizaron semillas provenientes de plantas de los tratamientos C, E1 y E2, y se registró el peso cada 100 semillas con tres repeticiones por tratamiento.

### Poder germinativo

Se tomaron 100 semillas por tratamiento y se hicieron germinar en cajas de Petri sobre un soporte de algodón y papel de filtro embebido en agua destilada. Las mismas se colocaron en cámara de cultivo a 25°C y con un fotoperíodo de nueve horas. Cuando las plántulas contaban con nueve días se determinó el largo de hoja y raíz. Se realizaron cuatro réplicas.

### Análisis estadístico

El análisis de los datos sobre longitud y anchura de la semilla y longitud de la hoja y la raíz se realizó mediante test de ANOVA, contrastes de Scheffé y comparaciones de medias por el test SNK.

### Estudio electroforético

Con el propósito de obtener una indicación de las alteraciones producidas por el estrés en las estructuras reproductivas, se procedió a realizar estudios de patrones isoenzimáticos de enzimas que serían afectadas en situaciones de estrés, tanto en panojas como en semillas obtenidas de las mismas y plántulas crecidas de estas semillas.

- Obtención de las muestras: Se recolectaron panojas inmaduras y próximas a la antesis y se conservaron a -20°C hasta el momento de la extracción.
- Extracción: Se realizaron extractos de espiguillas, de 250 mg de semilla y de 100 mg de parte aérea de plántulas en el mismo buffer utilizado para preparar el gel.
- Sistema electroforético: Se prepararon geles de almidón (SIGMA) 13% (p/v) de 12 x 18 x 0.6 cm mediante dos sistemas de buffer gel-electródos: 6 y 9 (Soltis *et al.* 1983). Con el primer sistema se revelaron esterasas y con el segundo, peroxidasas y fosfatasas.

#### Buffer gel:

- Tris-cítrico 0.019 M, pH 7.8 (núm. 6).
- L-histidina 0.009 M/ácido cítrico 0.002 M, pH 5.7 (núm. 9).

#### Buffer de electrodos:

- Acido bórico/NaOH 0.4 M, pH 8.7.
- L-histidina 0.065 M/ácido cítrico 0.016 M, pH 5.7.

En el primer caso, las muestras se sembraron a 5 cm del borde catódico del gel. En el segundo sistema, a 7 centímetros. La electroforesis se condujo a 25 mA durante 3 h usando el sistema 1, y 5 h con el sistema 2, a 4° centígrados.

- Revelado de isoenzimas: Se utilizaron las siguientes mezclas de reacción:
  - Esterasas: 5 mg de Fast Garnett GBC en 100 ml de buffer Tris-ClH 0.1 M, pH 6.0 y 2 ml de solución de alfa-naftil acetato al 1% en acetona/agua (1:1). El gel se incubó a 37°C durante 5 horas.
  - Fosfatasas ácidas: 10 mg de Fast Garnett GBC y 60 mg de alfa-naftil fosfato ácido en 100 ml de buffer acetato de sodio 0.1 M, pH 5.0 con 4 ml de cloruro de magnesio a 0.1 M.
  - Peroxidasas: 50 mg de 3-amino-9-etil carbazol en 3 ml de dimetilformamida en 100 ml de buffer acetato de sodio a 0.1 M, pH 5.0 con 2 ml de cloruro de calcio a 0.1 M y 0.5 ml de peróxido de hidrógeno al cinco por ciento.

## RESULTADOS

Como consecuencia de los tratamientos contra la sequía el tamaño de las plantas disminuyó, especialmente en el cv. Tanganyika (Fig. 1a), presentando además menor número de panojas y más pequeñas (Fig. 1b). Estas panojas, fundamentalmente aquellas pertenecientes al cv. Tanganyika, mostraron grandes diferencias de maduración, con el ápice en antesis mientras que la base, completamente inmadura aún, no había emergido de la vaina. Aunque es común en pasto llorón, el efecto se vio magnificado por el estrés. En las panojas inmaduras aparecieron isoenzimas de peroxidasas correspondientes a las panojas en antesis. Los cambios isoenzimáticos en las panojas fueron cualitativos y cuantitativos, siendo más afectadas las bandas de movilidad electroforética media y alta, fundamentalmente en antesis en el cv. Don Eduardo (Fig. 2).

También incrementó la actividad de fosfatasas ácidas y se observaron alteraciones en los patrones de esterasas (Fig. 3). En las esterasas, los cambios fueron principalmente cualitativos, con tendencia a la desaparición de bandas, excepto en el cv. Don Eduardo donde aparece una nueva banda en meiosis

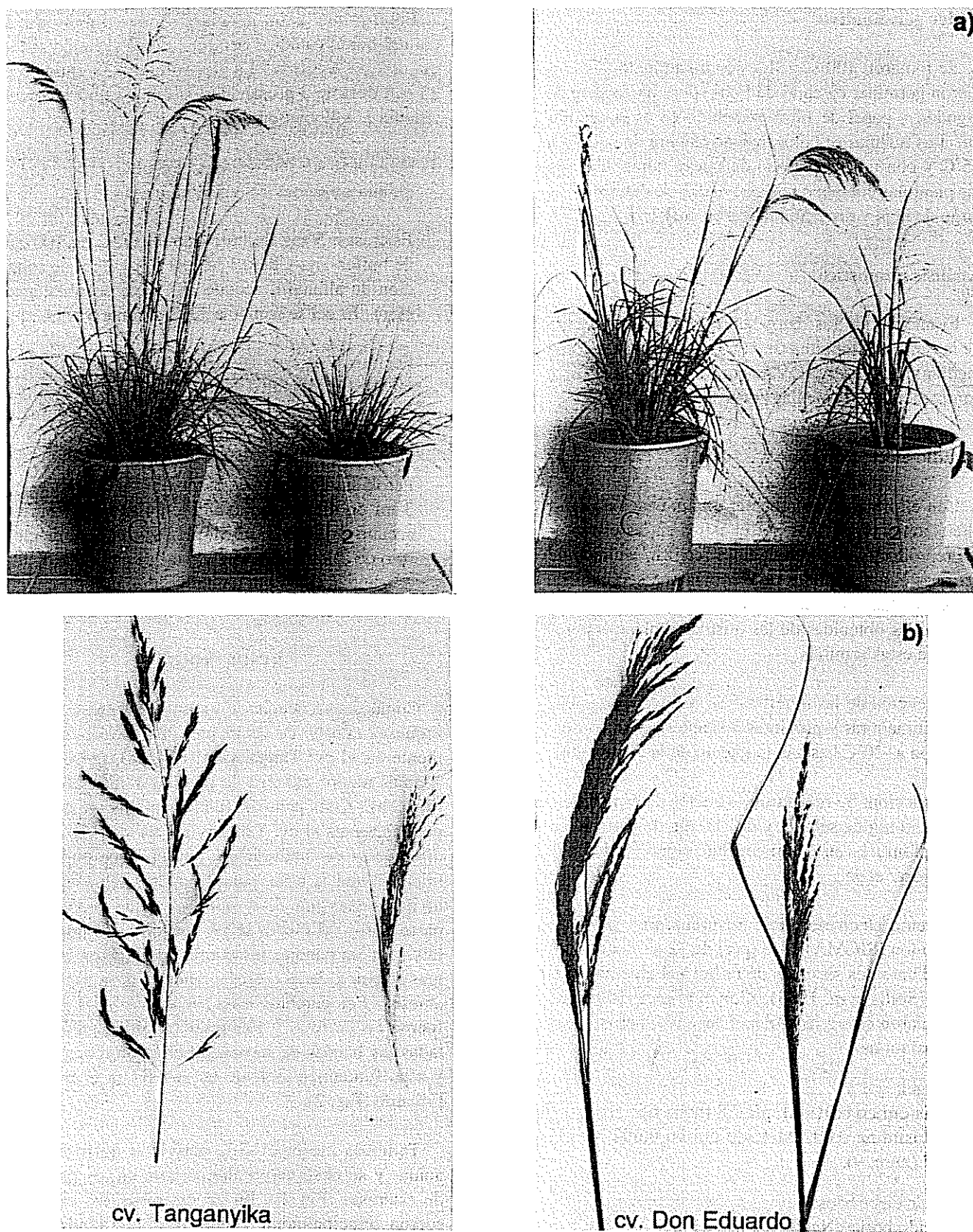


Fig. 1. a) Plantas de pasto llorón, C: control, E2: tratadas; b) panojas pertenecientes a plantas normalmente regadas y a plantas sometidas a sequía.

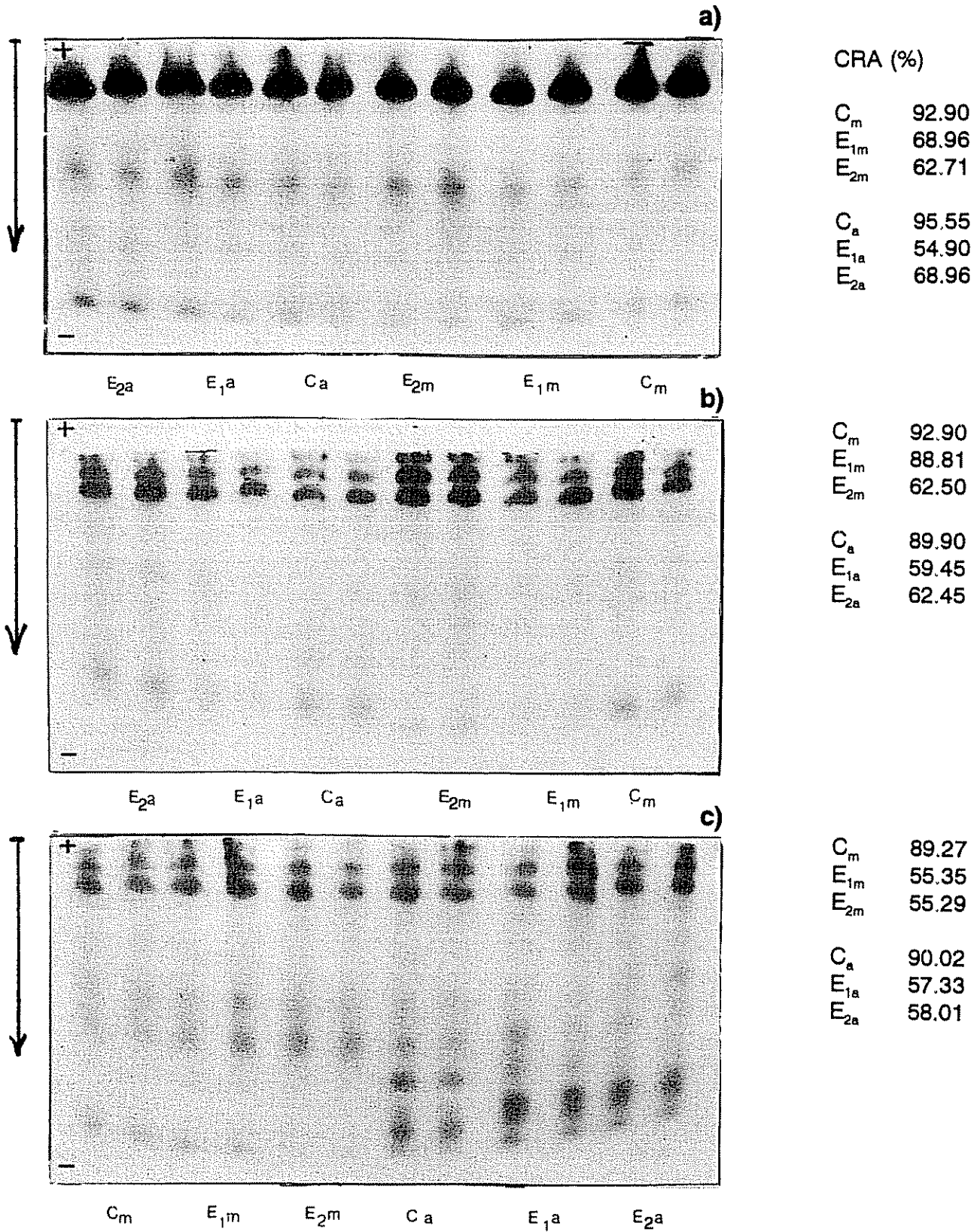


Fig. 2. Isoenzimas de peroxidadas de espiguillas de plantas de pasto llorón, Cm: control meiosis, E1m: primer nivel de estrés meiosis, E2m: segundo nivel de estrés meiosis, Ca: control antesis, A1a: primer nivel de estrés antesis, E2a: segundo nivel de estrés antesis; a) cv. Tanganyika; b) cv. Don Pablo; c) cv. Don Eduardo.

sin alteraciones en la aneuploidia. Pudo observarse un incremento general de la actividad de fosfatasa con el estrés en ambos estadios de las panojas, predominando los cambios cuantitativos (Fig. 3). El aspecto de las panojas sin emerger era de completa hidratación, pero de tamaño reducido con respecto a las de control. En el estudio meiótico se observó una disminución en la cantidad de células y en el tamaño de las mismas, así como la aparición del citoplasma granu-

loso. Las irregularidades cromosómicas observadas fueron: cromosomas no orientados, aglutinación, univalentes, rezagados, puentes dicéntricos y micronúcleos (Fig. 4). El mayor número de éstas se observó con el primer nivel de estrés, mientras que en E2 fue menor o no se observaron células en división como en el caso del cv. Tanganyika (Cuadro 1). El que presentó mayor cantidad de irregularidades fue el cv. Don Eduardo.

**Cuadro 1.** Irregularidades meióticas observadas en tres cultivares de pasto llorón con tres regímenes hídricos (se indica frecuencia de aparición).

Cultivar	Tratamiento	Estadio			
		MI Cromosomas no orientados adherencias	A-T I Cromosomas rezagados puentes cromatínicos	M II Cromosomas no orientados	A-T II Cromosomas rezagados micronúcleos
T A N G A N Y I K A	Control CRA: 94%	11.86	8.07	2.32	14.28
	Estrés 1 CRA: 81%	31.00	12.12	21.05	21.00
	Estrés 2 RA: 55.5%	31.00	26.82	sin células en división	
D P A B L O	Control CRA: 97%	25.42	10.90	23.33	10.90
	Estrés 1 CRA: 90.2%	48.38	44.00	*	13.80
	Estrés 2 CRA: 50.8%	22.62	23.91	27.03	18.18
D E D U A R D O	Control CRA: 93%	15.90	13.51	1.51	8.41
	Estrés 1 CRA: 81.2%	39.28	37.50	25.00	21.62
	Estrés 2 CRA: 61.2%	30.00	16.13	*	25.00

Nota:

\* menos de 20 células.

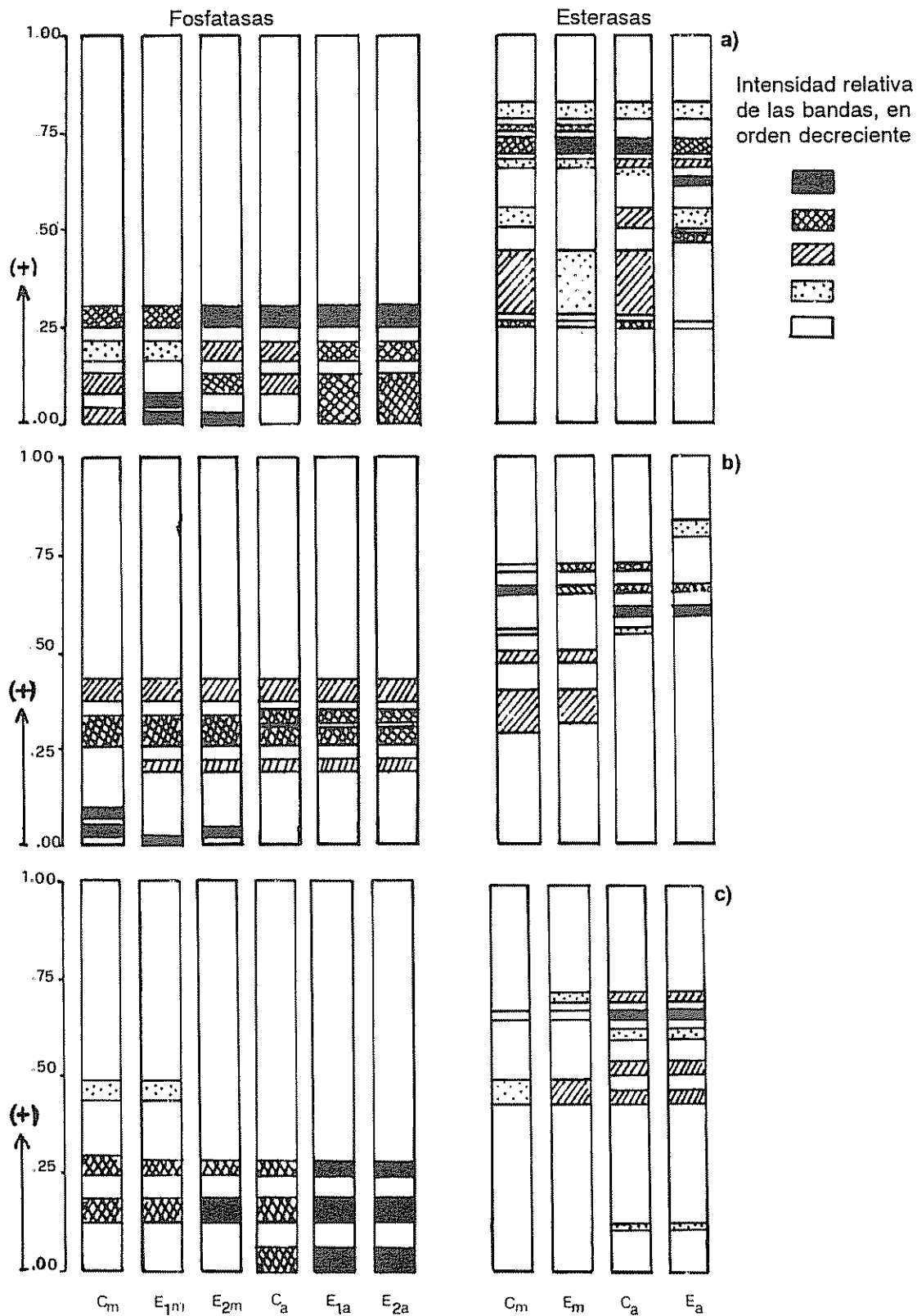


Fig. 3. Isoenzimas de fosfatasa y esterasas de espiguillas inmaduras y en antesis de plantas de pasto llorón en condiciones normales de riego (C) y sometidas a sequía (E1 y E2); a) cv. Tanganyika; b) cv. Don Pablo; c) cv. Don Eduardo.

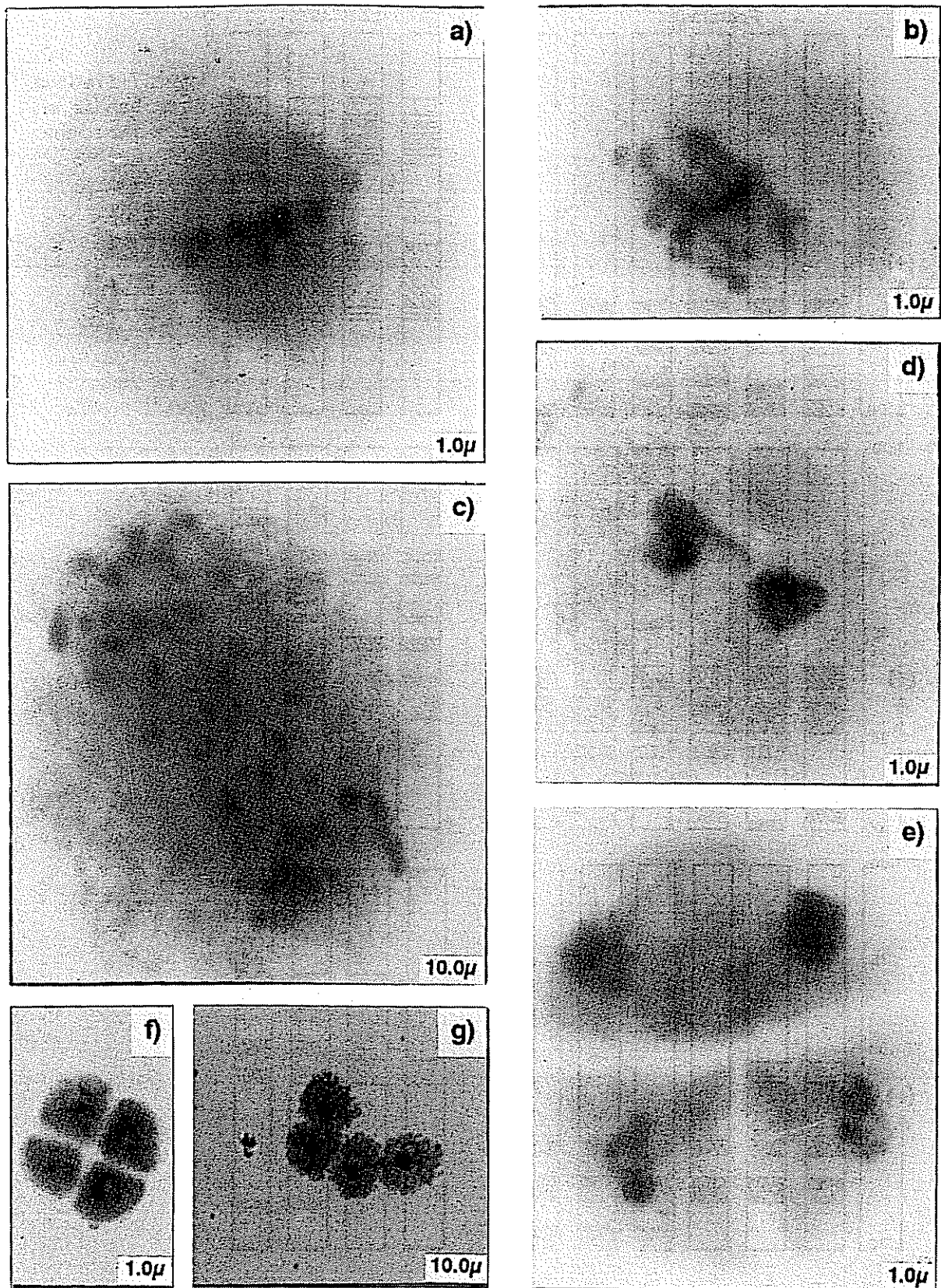


Fig. 4. Irregularidades meióticas observadas. a) Metafase I: cromosoma no orientado; b) metafase I: adherencias; c) anafase I: cromosomas rezagados; d) telofase I: puente cromatínico; e) telofase II: micronúcleo; f) cuartetos control; g) cuartetos estrés 2.

La viabilidad del polen disminuyó por causa del estrés hídrico (Fig. 5a). Los granos inviábiles se caracterizaron por su carencia de contenido, escaso desarrollo del mismo o color poco homogéneo con respecto a los granos normales (Fig. 5b). Los granos de plantas tratadas se mostraron diferentes al microscopio electrónico, contraídos y de menor tamaño, fundamentalmente en el cv. Tanganyika (Fig. 6). El peso de 100 semillas fue menor que en los correspondientes controles, y el más afectado fue el cv. Don Pablo (Cuadro 2). En el cv. Tanganyika, las semillas presentaron una coloración más pálida que las de los controles. En estas semillas, la actividad de peroxidadasas fue débil, lo cual dificultó la visualización de las bandas. Los cambios detectados fueron exclusivamente cualitativos, con desaparición de bandas en E1 y E2, exceptuando E2 en el cv. don Pablo, donde se observó una nueva banda (Fig. 7). La actividad de

Cuadro 2. Peso unidad proveniente de plantas-control y tratadas de pasto llorón.

Cultivar	Tratamiento	Peso de 100 semillas (g)
Tanganyika	Control	0.0390 ± 0.0017
	Estrés 1	0.0341 ± 0.0004
	Estrés 2	0.0291 ± 0.0041
Don Pablo	Control	0.0400 ± 0.0016
	Estrés 1	0.0227 ± 0.0010
	Estrés 2	0.0219 ± 0.0007
Don Eduardo	Control	0.0279 ± 0.0016
	Estrés 1	0.0235 ± 0.0021
	Estrés 2	0.0218 ± 0.0006

Nota: Los valores representan la media de tres determinaciones ± desviación estándar

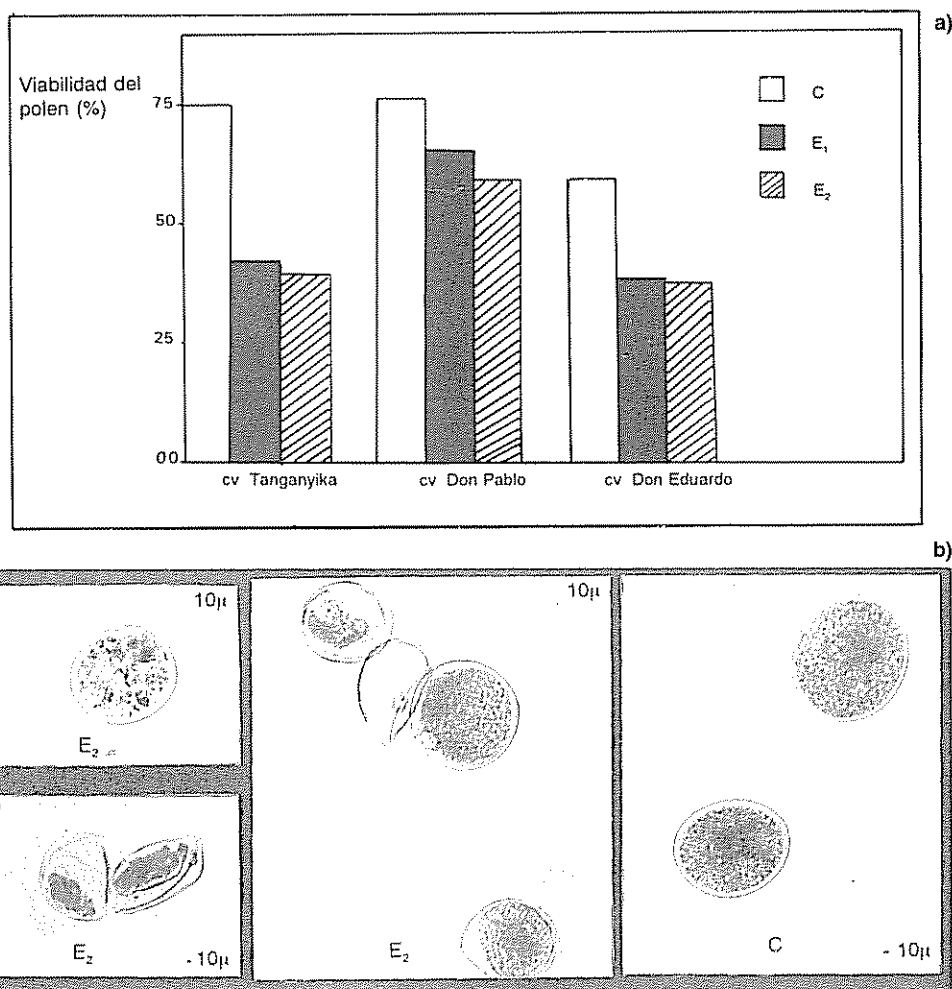


Fig. 5. a) Porcentaje de viabilidad de los granos de polen de los tres cultivares estudiados. En cada caso se contaron 500 granos de polen; b) granos de polen correspondientes a plantas sometidas a distintos regimenes hídricos: control (C) y estrés (E2).

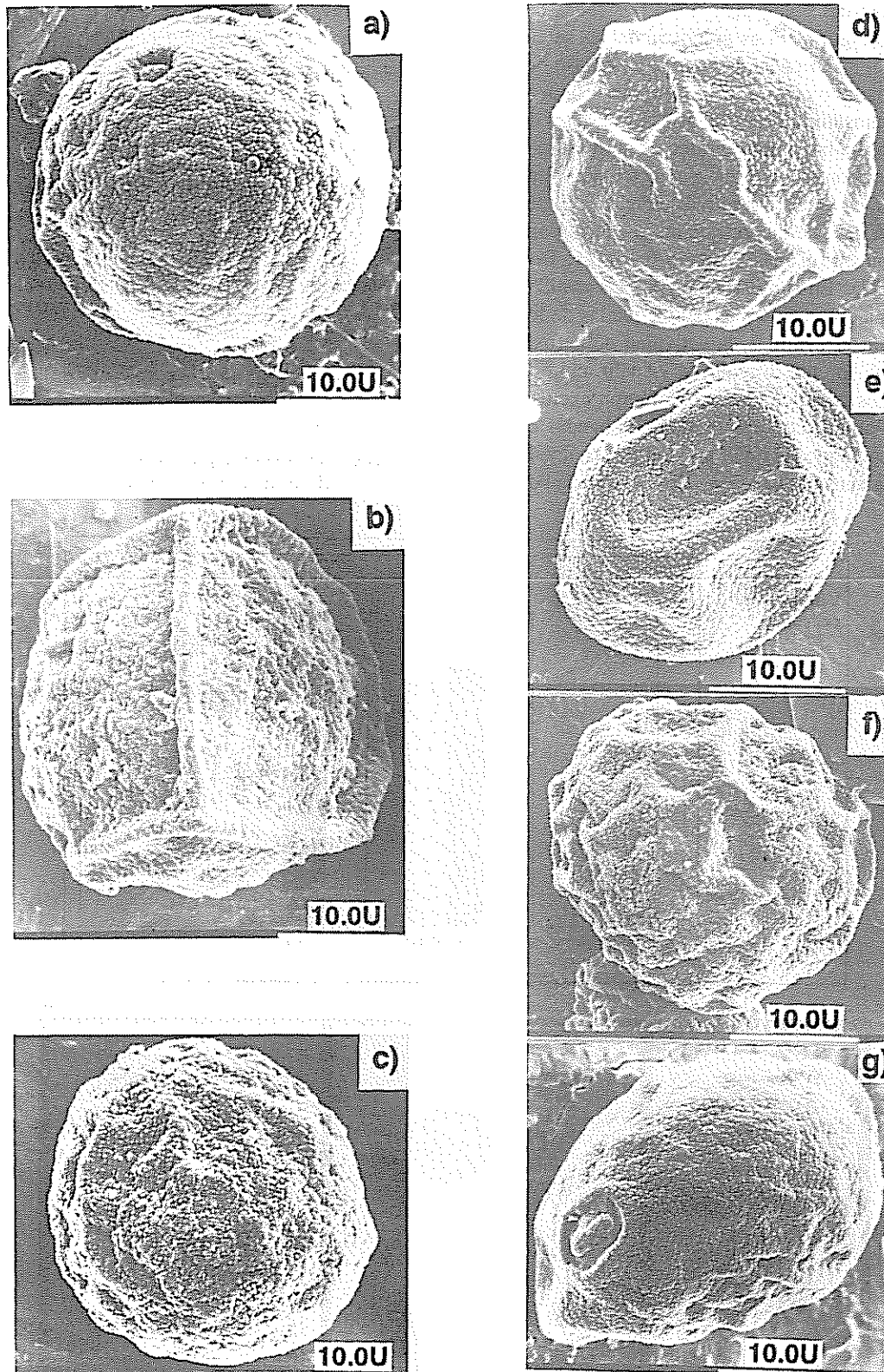


Fig. 6. Ultraestructura de los granos de polen; a) cv. Tanganyika control; b) cv. Don Pablo control; c) cv. Don Eduardo control; d) y e) cv. Tanganyika estrés 2; f) cv. Don Pablo estrés 2; g) cv. Don Eduardo estrés 2.

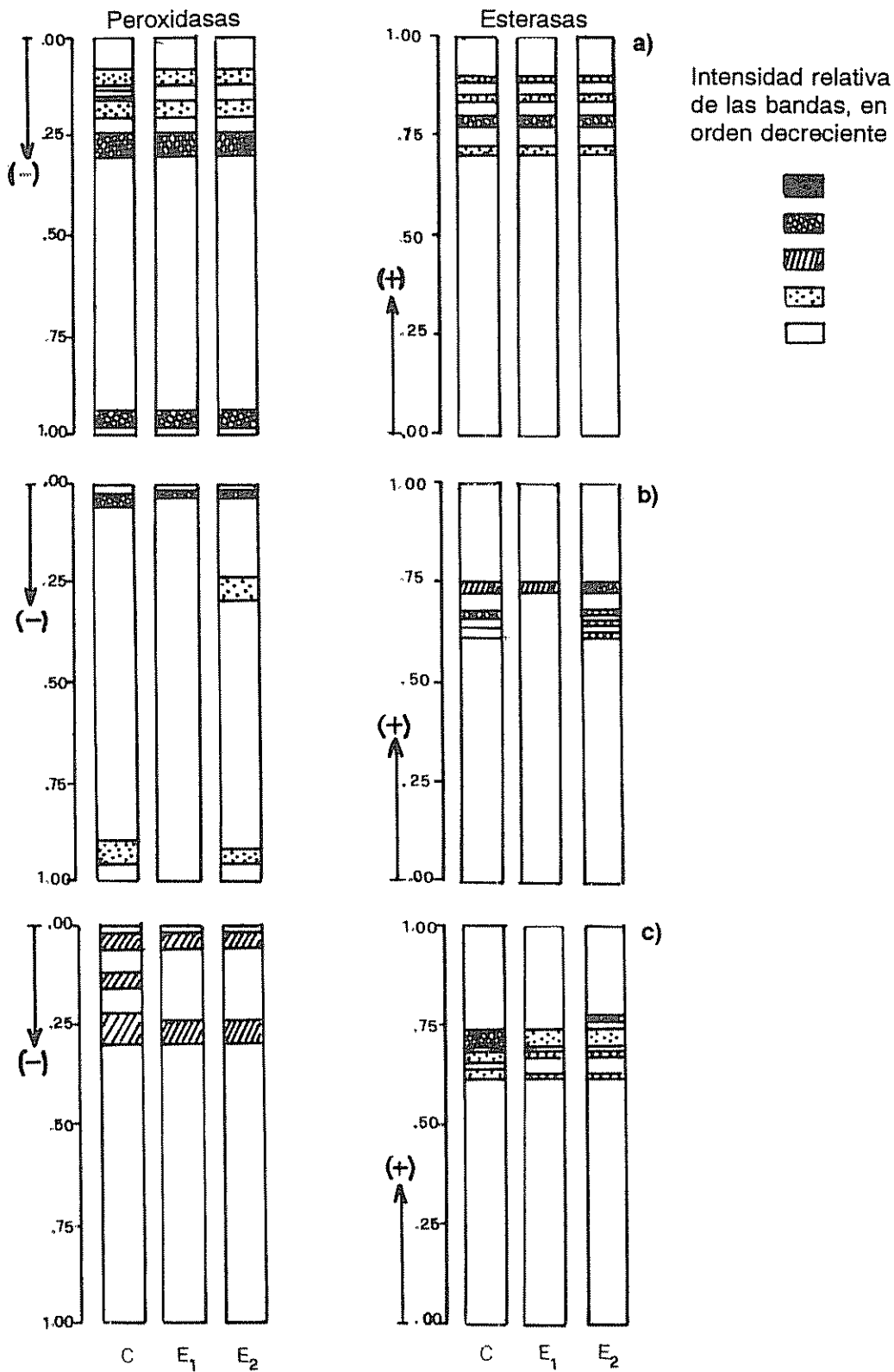


Fig. 7. Isoenzimas de peroxidasas y esterases de semilla inmadura proveniente de plantas de pasto llorón normalmente regadas (C) y sometidas a sequía (E1 y E2); a) cv. Tanganyika; b) cv. Don Pablo; c) cv. Don Eduardo.

esterasas en los cvs. Don Pablo y Don Eduardo disminuyó en E1 y aumentó en E2 con respecto al control, mientras que en el cv. Tanganyika no se notaron diferencias (Fig. 7).

No se registraron diferencias genotípicas ni por tratamiento en el poder germinativo de estas semillas (96% - 100%). En las plántulas provenientes de semillas con estrés la longitud de la raíz y de la hoja fue menor que en el control (Cuadro 3, Fig. 8). Los más afectados fueron los cvs. Don Pablo y Don Eduardo. Se incrementó la actividad de las peroxidadasas y las fosfatasas ácidas en estas plántulas, con aparición de nuevas bandas e intensificación de las preexistentes, siendo esto más evidente en E1 (Fig. 9).

Las alteraciones en los patrones isoenzimáticos de esterases fueron diferentes en las plántulas de los tres cultivares. En el cv. Don Pablo disminuyó la actividad de C a E2, con desaparición de algunas bandas. Lo mismo ocurrió en el cv. Don Eduardo pero no hubo diferencias evidentes entre E1 y E2. En el cv. Tanganyika la única diferencia observada fue el engrosamiento de la banda más lenta en E1 (Fig. 9).

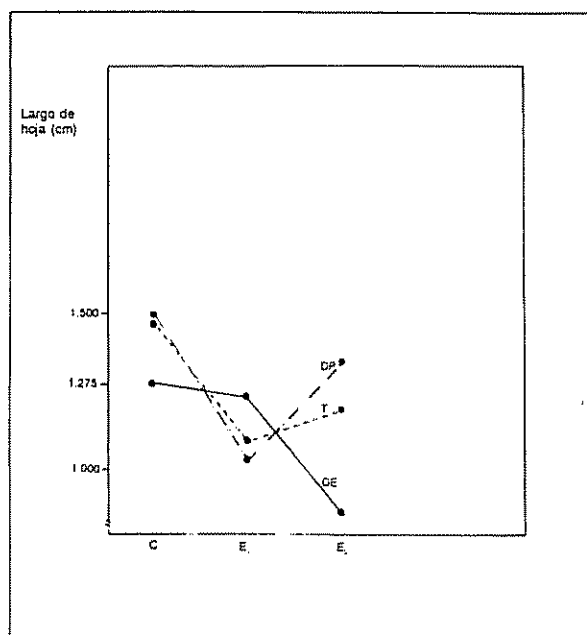


Fig. 8. Valores medios de largo de hoja de plántulas de pasto llorón, cvs. Tanganyika, Don Pablo y Don Eduardo, provenientes de semillas de plantas sometidas a tres niveles de riego.

Cuadro 3. Tamaño de la primera hoja y raíz de plántula de nueve días de pasto llorón, proveniente de semilla de control y tratada (cm).

Cultivar	Tratamiento	Largo 1ª hoja	Ancho 1ª hoja	Largo raíz
Tanganyika	Control	1.475 ± 0.05	1.000 ± 0.000	2.750 ± 0.29
	Estrés 1	1.000 ± 0.00	1.000 ± 0.000	2.300 ± 0.25
	Estrés 2	1.200 ± 0.15	1.000 ± 0.000	2.060 ± 0.37
Don Pablo	Control	1.440 ± 0.15	0.980 ± 0.04	4.240 ± 1.16
	Estrés 1	1.100 ± 0.12	0.880 ± 0.08	2.960 ± 0.69
	Estrés 2	1.320 ± 0.13	0.940 ± 0.54	3.380 ± 0.42
Don Eduardo	Control	1.275 ± 0.05	0.975 ± 0.05	2.275 ± 0.42
	Estrés 1	1.180 ± 0.21	0.940 ± 0.09	1.080 ± 0.39
	Estrés 2	0.875 ± 0.05	0.800 ± 0.14	1.000 ± 0.28

Nota: Los valores representan la media de cinco determinaciones ± desviación estándar.

## DISCUSIÓN

Los tratamientos de sequía provocaron alteraciones en las plantas y en su progenie. Los resultados indican diferencias en el comportamiento de los cultivares ante los tratamientos impuestos. El

estrés hídrico afectó las estructuras reproductivas de estas plantas, así como la meiosis y su progenie. Se observó mayor inestabilidad en todo el proceso en los cvs. Don Pablo y Don Eduardo y con mayor nivel de ploidía. El pasto llorón, *E. curvula* (Schrad.) Nees s. lat., constituye un complejo de formas

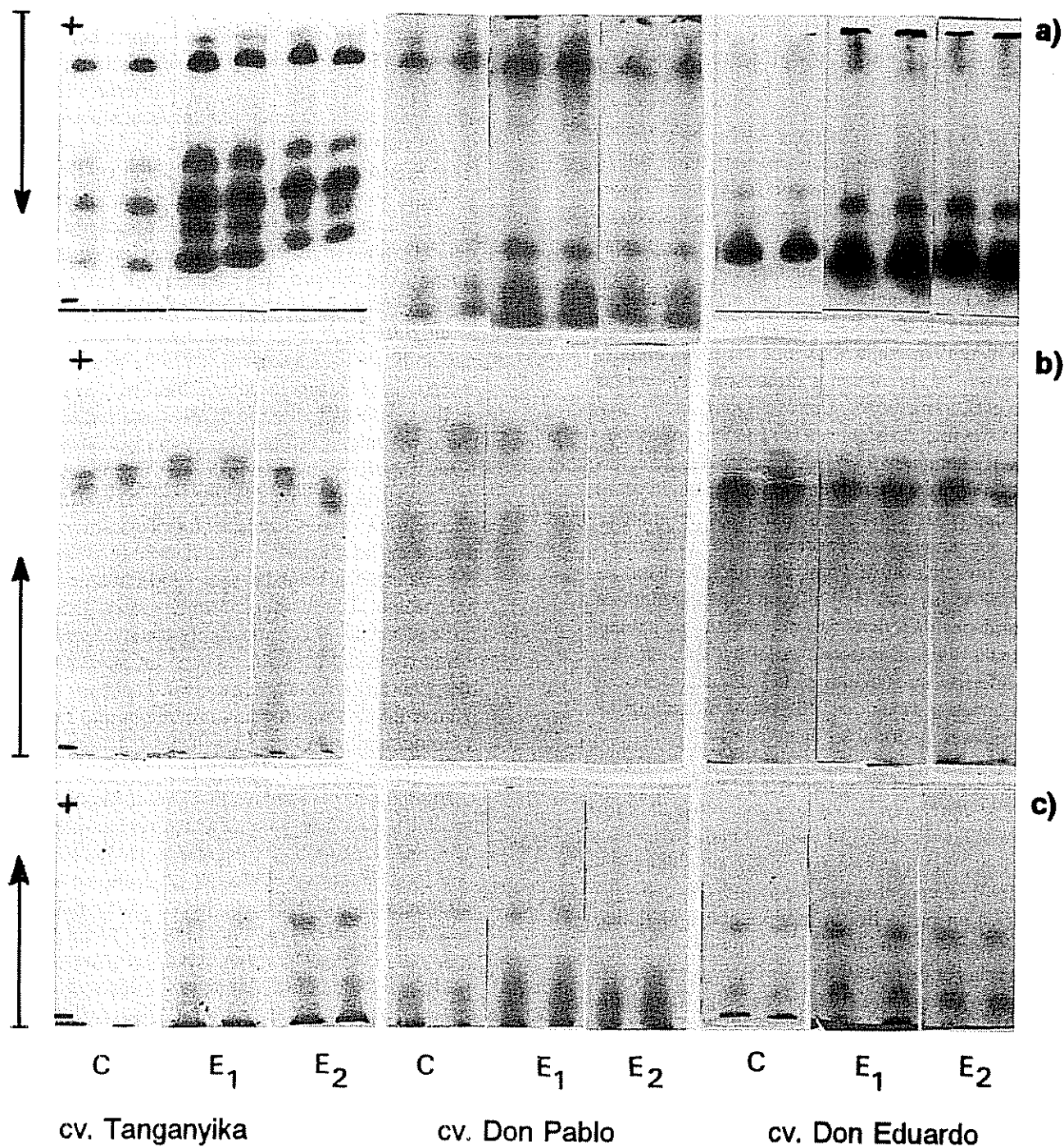


Fig. 9. Isoenzimas de peroxidasas y esterases y fosfatasa de plántulas de pasto llorón provenientes de semillas producidas en condiciones normales de riego (C) y sometidas a sequía (E<sub>1</sub> y E<sub>2</sub>) para los tres cultivares; a) peroxidasas; b) esterases; c) fosfatasa.

botánicas de diferentes niveles de ploidía, dentro de una serie con número básico  $X = 10$  (Poverene *et al.* 1986; Streetman 1963; Voigt 1971; Vorster y Lieberberg 1977).

Streetman (1963) y Vorster y Lieberberg (1977) han encontrado que las plantas con bajo número cromosómico tienden a una meiosis regular, mientras que las altamente poliploides presentan meiosis anormales, con numerosas aberraciones. En las plantas normalmente regadas pertenecientes al cv. Tanganyika ( $2n = 4x$ ) se encontraron menos irregularidades en todas las fases de la meiosis que en los otros cultivares. Al incrementarse la severidad del estrés hídrico, aumentaron las aberraciones cromosómicas propias de cada estadio meiótico. Los cvs. Don Pablo y Don Eduardo son más resistentes a la sequía en estado vegetativo (Echenique 1977), pero un período de estrés hídrico condujo a alteraciones e inestabilidad en el proceso reproductivo. Estas plantas mostraron mejor aspecto que aquellas pertenecientes al cv. Tanganyika, pero presentaron mayores diferencias en los zimogramas de las panojas y mayores incrementos en irregularidades meióticas. Al no encontrarse células en segunda división meiótica en el cv. Tanganyika, podría inferirse un aumento en la velocidad del ciclo con las consecuencias que, en cuanto al número de irregularidades, podría traer aparejado.

En los cultivares Don Pablo y Don Eduardo, el número de células en E1 en la primera fase del proceso meiótico fue bajo, lo cual podría apoyar esta afirmación. En un trabajo previo (Echenique y Curvetto 1990) se encontró que un período de deficiencia hídrica en pasto llorón incrementaría el índice mitótico como resultado de los cambios en la frecuencia relativa de células en interfase y profase, con un marcado incremento en el índice de profase, indicando aumento en la velocidad del ciclo de división celular. Los resultados indicarían un fenómeno similar en meiosis. Los granos de polen al microscopio electrónico presentaron cambios leves en su morfología externa y reducción en su tamaño, con una disminución en la viabilidad que llegó a valores del 40% en el cv. Tanganyika. Otros autores han informado sobre la influencia de factores climáticos como altas y bajas temperaturas (Moraes-Fernandes *et al.* 1984; Utkhede y Jain 1974), luz (Moraes-Fernandes *et al.* 1984) y sequía (Moraes-Fernandes 1982; Namuco y O'Toole 1986) en la incidencia de anomalías meióticas.

Entre los factores señalados como causantes de androesterilidad se citan efectos directos de la deshi-

dratación sobre la antera o problemas nutricionales (Echenique 1987; Vasil 1967) o factores hormonales (Morgan 1980). La pérdida de turgencia de la hoja puede disparar la síntesis de AbA (Pierce y Rashcke 1980) que sería transportado subsecuentemente a la espiga (Goldbach y Goldbach 1977; Morgan 1980; Saini y Aspinall 1981). En un trabajo previo se observaron incrementos en la concentración de AbA endógeno en plantas de pasto llorón sometidas a sequía (Echenique 1987). La aplicación de AbA en forma exógena provoca cambios en los patrones isoenzimáticos de dichas plantas con incrementos en la actividad enzimática de fosfatasas ácidas (Echenique *et al.* 1989). La solubilización de hidrolasas ácidas puede tener una acción destructiva y la mayoría de los efectos deletéreos del estrés podrían ser explicados por tales destrucciones (Viera Da Silva 1976). Estas dos situaciones (aumento de hidrolasas, como fosfatasas ácidas, y de AbA endógeno) causarían las alteraciones observadas más que la deshidratación directa de las anteras, ya que dentro de la vaina las panojas estaban húmedas y con aspecto de completa hidratación. Los patrones isoenzimáticos de la semilla también se vieron afectados a consecuencia del estrés, así como su peso y color. En el cv. Don Pablo se encontraron más diferencias en el peso. En las plantas E2 de los tres cultivares se observó gran número de semillas poco desarrolladas.

Morgan (1980) atribuye la disminución en la producción de semilla a incrementos en los niveles de AbA endógeno en hoja y espiguilla, ya que la aplicación foliar de AbA sintético en el estadio de meiosis también reduce dicha producción y causa malformación de los granos de polen y anteras. Se ha demostrado, además, que la respuesta de las plantas al estrés hídrico es mediada por AbA a nivel de la expresión de genes específicos que inducen proteínas que podrían estar involucradas en la adaptación de las plantas al estrés (Mundy y Nam-Hai 1988). Al acumularse el AbA en las estructuras reproductivas en tales situaciones (Morgan 1980), cabría esperar que esta hormona permanezca en concentraciones elevadas en la semilla, persistiendo su efecto en las plántulas. La parte aérea y radical de las plántulas obtenidas de semillas provenientes de plantas estresadas fue de menor tamaño que en el control (fundamentalmente aquellas provenientes del tratamiento E2). Este efecto fue evidenciable ya a los cuatro días después de la germinación. Dichas plantas presentaron cambios cualitativos y cuantitativos en los tres sistemas isoenzimáticos investigados, efectos que suelen

ser mediados por AbA. Estas alteraciones de los patrones isozímicos fueron observadas en plántulas de los tres cultivares. También se sabe que la desecación prematura del embrión en desarrollo detiene la embriogénesis y altera los patrones normales de síntesis proteica. Al rehidratarse esta semilla, comienza la germinación sin haberse completado el normal desarrollo del embrión (Finkelstein *et al.* 1985).

En este trabajo pudo determinarse que un estrés severo durante el período reproductivo compromete la fertilidad de la planta, provocando alteraciones meióticas y reduciendo la viabilidad del polen. Si bien en este caso el polen no fecunda porque el pasto llorón es una especie de reproducción principalmente agámica, se requieren valores mínimos de polen viable para la producción de semilla. Los efectos de los tratamientos son evidenciados también en la progenie de las plantas tratadas, ya que las plántulas muestran alteraciones en los caracteres morfológicos y en los patrones isoenzimáticos considerados. Si bien los tres cultivares se vieron afectados, pudo evidenciarse una mayor inestabilidad en los cultivares Don Eduardo y Don Pablo.

#### LITERATURA CITADA

- ALEXANDER, M P. 1969. Differential staining of aborted and nonaborted pollen. *Stain Technology* 44:117-122.
- BAYLISS, M.W ; RILEY, R. 1972. An analysis of temperature-dependent asynapsis in *Triticum aestivum*. *Genetics Research* 20:193-212.
- BENNETT, M.D ; SMITH, J.B ; KEMBLE, R. 1972. The effect of temperature on meiosis and pollen development in wheat and rye. *Canadian Journal of Genetics and Cytology* 14:615-624.
- BINGHAM, J. 1966. Varietal response in wheat to water supply in the field, and male sterility caused by a period of drought in a glasshouse experiment. *Annals of Applied Biology* 57:365-377.
- CHANG, T T. 1964. Present knowledge of rice genetics and cytogenetics. Los Baños, Philippines, International Rice Research Institute. Technical Bulletin no. 1.
- DEL DUCA, L. DE J.A.; MORAES-FERNANDES, M.J.B. 1980. Meiotic instability in some Brazilian common wheat cultivars. *Cereal Research Communication* 8:619-625.
- ECHENIQUE, C.V. 1987. Algunas claves bioquímicas, físicas y anatómicas para el estudio de la resistencia a sequía en pasto llorón, *Eragrostis curvula* (Schrad.) Nees. Tesis Doctoral en Biología. Bahía Blanca, Buenos Aires, Arg., Universidad Nacional del Sur. 198 p.
- ECHENIQUE, C.V.; POVERENE, M.M.; CURVETTO, N.R. 1989. Efecto del ácido abscísico y estrés hídrico sobre 3 sistemas isoenzimáticos en pasto llorón. In Reunión Latinoamericana de Fisiología Vegetal (10) Misiones, Arg., Puerto Iguazú. 8 p.
- ECHENIQUE, C.V.; CURVETTO, N.R. 1990. Effect of water stress upon cell division in root tips of *Eragrostis curvula* (Schrad.) Nees. *Biologia Plantarum* 32(2):153-160.
- FINKELSTEIN, R.R.; TENBARGE, K.M.; SHUMWAY, J.E.; CROUCH, M.L. 1985. Role of ABA in maturation of rapeseed embryos. *Plant Physiology* 78:630-636.
- GOLDBACH, H.; GOLDBACH, E. 1977. Abscisic acid translocation and influence of water stress on grain abscisic acid content. *Journal of Experimental Botany* 28:1342-1350.
- MAAN, S.S.; MCCRACKEN, E.V. 1968. Meiotic instability of common strains derived from *Triticum timopheevii* Zhuk crosses. *Euphytica* 17:445-450.
- MORÃES-FERNANDES, M.I. 1982. Estudo da instabilidade meiótica em cultivares de trigo: Efeito genotípico, relação com fertilidade e seleção de plantas estaveis. *Pesquisa Agropecuária Brasileira* 17:1177-1191.
- MORÃES-FERNANDES, M.I.; ZANETTINI, M.H.B.; GUERRA, M.; DEL DUCA, L.J.A.; SERENO, M.J.C.; ZANELLA, C.C. 1984. Instabilidade cromosômica e adaptação em trigo. In Colóquio sobre Citogenética e Evolução de Plantas (1). *Actas. Janciro, U.S.P.* p. 69-110.
- MORGAN, J.M. 1980. Possible role of abscisic acid in reducing seed set in water-stressed wheat plants. *Nature* 285:655-657.
- MORGAN, J.M.; KING, R.W. 1984. Association between loss of leaf turgor, abscisic acid and seed set in two wheat cultivars. *Australian Journal of Plant Physiology* 11:143-150.
- MOSS, G.I.; DOWNEY, L.A. 1971. Influence of drought stress on female gametophyte development in corn (*Zea mays* L.) and subsequent grain yield. *Crop Science* 11:368-372.
- MUNDY, J.; NAM-HAI, CHUA. 1988. Abscisic acid and water-stress induce the expression of a novel rice gene. *The EMBO Journal* 7: 2279-2286.
- NAMUCO, O.S.; O'TOOLE, J.C. 1986. Reproductive stage water stress and sterility. I. Effect of stress during meiosis. *Crop Science* 26: 317-321.
- NÚÑEZ, O. 1968. An acetic-haematoxylin squash method for small chromosomes. *Caryologia* 21:115-119.

- PIERCE, M ; RASHCKE, K. 1980 Correlation between loss of turgor and accumulation of abscisic acid in detached leaves *Planta* 148:174-182
- POVERENE, M ; GARDEY, C ; CURVETTO N.R. 1986 Estudios citogenéticos en pasto Llorón, *Eragrostis curvula* (Schrad.) Nees II Comportamiento meiótico *Revista UNRC* 6:67-78
- SAINI, H.S ; ASPINALL, D. 1981 Effect of water deficit on sporogenesis in wheat (*Triticum aestivum* L.) *Annals of Botany* 48:623-633
- SOLTIS, D.E ; HAUFLE, C ; DARROW, D ; GASTONY, G. 1983. Starch gel electrophoresis of ferns: A compilation of grinding buffers, gel and electrode buffers and staining schedules *Am Fern J* 73:9-27
- STREETMAN, L.J. 1963 Reproduction of the lovegrasses, the genus *Eragrostis*: *Eragrostis chloromelas* Steud., *E. curvula* (Schrad.) Nees, *E. lehmanniana* Nees, and *E. superba* Peyr. *Wrightia A Botanical Journal* 3:41-51
- TURNER, N.C. 1981 Techniques and experimental approaches for the measurement of plant water status. *Plant and Soil* 58:339-366
- UTKHEDE, R.S ; JAIN, H.K. 1974. Temperature induced condition of univalence in wheat *Cytologia* 39:791-799.
- VASIL, I.K. 1967 Physiology and cytology of anther development *Biological Review* 42:327-373.
- VIERA DA SILVA, J. 1976. Water stress, ultrastructure and enzymatic activity *In* Water and Plant Life. O.L. Lange; L. Kappen; Z.O. Schulze (Eds.). New York, Springer-Verlag p 207-224
- VOIGT, P.W. 1971 Discovery of sexuality in *Eragrostis curvula* *Crop Science* 11:424-425.
- VORSTER, I.B ; LIEBENBERG, H. 1977. Cytogenetic studies in the *Eragrostis curvula* complex *Bothalia* 12:215-221

## Reseña del libro

**SOIL BIOCHEMISTRY. 1992. G. Stotzky, Jean-Marc Bollag (Eds.). New York, M. Dekker. v. 7, 416 p.**

Este séptimo volumen, como los anteriores, familiariza a los lectores sobre varios aspectos novedosos de la bioquímica de suelos.

El rápido desarrollo y actividad actual de los procesos en la bioquímica se deben a la preocupación sobre su efecto en la salud ambiental del suelo. Sin duda alguna, cada año se introducen más sustancias químicas, tanto orgánicas como inorgánicas en los suelos, sea para fomentar la degradación de estas sustancias, sea para fomentar la fertilidad. Es necesario lograr una mejor comprensión de los procesos bioquímicos en los suelos.

En este volumen se discuten numerosos tópicos que incluyen los últimos adelantos acerca del entendimiento de la bioquímica del azufre en suelos, de los procesos referentes a la formación de humus en

condiciones templadas, del comportamiento de hongos nematófagos, de la aplicación de técnicas moleculares a la bioquímica de suelos, de la extracción de enzimas de suelos, de los factores que afectan el movimiento de microorganismos en suelos y su interacción con los minerales.

Los autores de los diversos capítulos son reconocidos internacionalmente; y su lectura requiere un adecuado conocimiento de la bioquímica y la microbiología de suelos. Se incluyen amplias bibliografías que permitirán una mayor profundización en los nuevos campos discutidos en esta publicación.

Se recomienda para los investigadores de la ecología y agrónomos interesados en la bioquímica del suelo

ELEMER BORNEMISZA  
UNIVERSIDAD DE COSTA RICA