

Estructura y desarrollo de la estilobase en *Abildgaardia*, *Bulbostylis* y *Fimbristylis*

Introducción

Entre los caracteres empleados para la delimitación de *Abildgaardia* Vahl, *Bulbostylis* Kunth y *Fimbristylis* Vahl, la duración de la estilobase ha sido uno de los más utilizados (Goetghebeur 1998, Kern 1974, Kral 1971, Kral & Strong 1999, Barros 1947, Gómez-Laurito 2003, Osten 1931); esta estructura es persistente en *Bulbostylis* (a la madurez del fruto sólo se cae la porción no ensanchada del estilo), y caediza en *Abildgaardia* y *Fimbristylis* (a la madurez del fruto se desprenden el estilo y la estilobase conjuntamente). No obstante, algunas pocas especies de *Bulbostylis* presentan estilobase caediza, pudiendo desprenderse conjuntamente con la porción distal del estilo (tipo *Abildgaardia-Fimbristylis*, ej. *B. hispidula* (Vahl) R.W. Haines), o tardíamente después que ésta última porción se desprendió (tipo *Bulbostylis*, ej. *B. sp2*).

La estilobase no es una estructura exclusiva de las *Abildgaardieae* (está presente también, por ejemplo, en *Eleocharis* R. Br., *Fuirena* Rottb., *Rhynchospora* Vahl, y otros géneros de *Cyperaceae*, Barros 1947; Pedersen 1969; Kern 1974; Bruhl 1995; Goetghebeur 1998; Muasya 1998), pero se presenta como una sinapomorfía para este clado en análisis cladísticos morfológicos (Bruhl, 1995). La duración y el desprendimiento del estilo y la estilobase se ha relacionado a dos causas: una mayor o menor conexión entre el estilo y el ápice del ovario (Gordon-Gray, 1971) y la presencia de placas de abscisión (Gordon-Gray, 1971; Bruhl, 1995). La supuesta existencia de placas de abscisión más la observación de parénquima con engrosamientos espiralados en la estilobase de *Bulbostylis* (Gonzalez & López, 2010) sugieren que la estilobase podría ser una estructura con una llamativa complejidad histológica para una

modificación ubicada en el verticilo más indiferenciado de la flor (el gineceo) y específicamente en el estilo, cuya función es efímera.

Pero una estructura histológica más o menos diferenciada de la estilobase permitiría explicar su desprendimiento o permanencia. Así, la estilobase de *Abildgaardia* y *Fimbristylis* solo diferenciaría una placa de abscisión basal, permitiendo el desprendimiento de la estilobase y del resto del estilo en conjunto. En el caso de *Bulbostylis* la estilobase diferenciaría siempre una placa de abscisión funcional en su extremo distal, permitiendo el desprendimiento del estilo y la permanencia de la estilobase en el fruto; y eventualmente formaría solo una placa funcional de posición basal (como en *B. hispidula*), o generaría dos placas funcionales (una distal y otra basal, como en *B. sp2*), permitiendo el desprendimiento de la estilobase y la porción superior del estilo en conjunto o como dos partes separadas respectivamente. Asimismo podría esperarse que las estilobases de *Fimbristylis* y *Abildgaardia* alcancen una menor diferenciación histológica que las estilobases típicas de las *Bulbostylis*.

Pero los estudios de desarrollo en *Abildgaardia*, *Bulbostylis* y *Fimbristylis* son incompletos y se limitan solo a dos especies: *Fimbristylis xyridis* R. Br. y *Bulbostylis hispidula* (Vrijdaghs, 2006), ambas con estilo tipo *Fimbristylis*. Por esta razón, en este capítulo se plantea un estudio ontogenético y anatómico del gineceo para algunos representantes de estos tres géneros, con el objetivo de contrastar si las diferencias en la duración y desprendimiento de la estilobase se corresponden con su diferenciación anatómica.

Los resultados muestran que las estilobases de las especies estudiadas de *Abildgaardia*, *Bulbostylis* y *Fimbristylis* presentan morfologías y desarrollos similares, aunque la formación de una constricción distal en la estilobase de *Bulbostylis* y su permanencia a la madurez del fruto justifican distinguir esta estructura de las estilobases

de *Abildgaardia* y *Fimbristylis*, las cuales solo presentan una articulación basal con el ápice del ovario y son caedizas. La estructura histológica de las estilobases en los tres géneros es sencilla y no existe evidencia histológica para afirmar que la constricción distal de la estilobase en *Bulbostylis*, o que la basal en *Fimbristylis* y *Abildgaardia*, represente una placa de abscisión. Las evidencias no son suficientes para afirmar que realmente existe mayor conexión entre el ápice del ovario y la base de la estilobase en *Bulbostylis*, respecto a los otros dos géneros. La presencia en *Abildgaardia* y *Fimbristylis* de una estilobase de menor duración que en *Bulbostylis*, podría relacionarse con la menor cantidad de células esclerosadas que integran dicha estructura en el fruto maduro de estos dos géneros. La abscisión del estilo y de la estilobase parece darse por razones mucho más simples que la diferenciación de una placa de abscisión. La simplicidad histológica de la estilobase concuerda con la aparición homoplásica de esta estructura en géneros no próximamente relacionados (como *Rhynchospora*). Por esta razón, si bien la presencia de la estilobase parece ser una sinapomorfía de las especies de *Abildgaardieae*, su permanencia o no sobre el fruto pudo haber surgido repetidas veces durante la evolución de este clado, y podría no ser un buen carácter para delimitar los géneros.

Materiales y Métodos

Espiguillas de plantas vivas conteniendo flores en diferentes estados de desarrollo de *Abildgaardia ovata*, *Bulbostylis* sp2, *B. juncoides*, *B. conifera*, *Fimbristylis autumnalis* y *F. squarrosa* (Apéndice 2) fueron colectadas en el campo y fijadas en FAA (formol : ácido acético : etanol 70%, 10 : 5 : 85, v/v/v) para estudios con MEB y microscopía fotónica (MF). Para los estudios con MEB, se procedió de manera similar a lo detallado en Capítulo 2, procediendo a la disección de las muestras en etanol

70% bajo un microscopio estereoscópico OLYMPUS SZH10, seguido de la deshidratación de las mismas con una serie creciente de etanol más dos cambios finales de acetona al 100%, y posteriormente del secado por punto crítico utilizando un secador EMITECH K850 con CO₂ como fluido intermedio. El material seco fue montado, metalizado con oro-paladio, y finalmente observado y fotografiado con un microscopio electrónico de barrido Philips XL30, utilizando el servicio de microscopía electrónica del Museo de Ciencias Naturales “Bernardino Rivadavia” (Buenos Aires, Argentina). Las flores en desarrollo fueron comparadas con estructuras maduras.

Para los estudios con MF, espiguillas semi-maduras fueron deshidratadas a través de una serie creciente de etanol e incluidas en parafina (Ruzin, 1999). Se obtuvieron secciones longitudinales cortadas a 10 µm, las cuales fueron teñidas utilizando triple tinción de safranina-*fast green*-hematoxilina de Mayer, y montadas con bálsamo de Canadá. Para estudiar la distribución de los tejidos dentro de las estilobases, frutos maduros fueron diafanizados en una solución de NaOH al 5% y etanol 96° (1:1, v/v) por 5 minutos a 100°C, clarificados en hipoclorito de sodio (50%, v/v) por 3-5 minutos (Dizeo de Strittmatter, 1973), lavados con agua destilada y mantenidos en ácido láctico (5:2, v/v) por aproximadamente 24 horas; posteriormente las muestras fueron teñidas con fucsina básica (0,05%, w/v) (o con safranina en algunos casos) y montadas en glicerina (50%, v/v) (Kraus & Arduin, 1997). Muchos de los preparados anatómicos fueron observados con un microscopio Nikon FXA y fotografiados con el sistema de fotografía digital Nikon NIS del Instituto de Botánica Darwinion (IBODA-CONICET), mientras que ciertos preparados adicionales, junto con los frutos diafanizados, fueron analizados bajo un microscopio Mikoba S-800 y fotografiados con una cámara digital Canon Power Shot A640 adaptada al mismo.

Resultados

Morfología externa de las estilobases en el fruto maduro

A la madurez del fruto, las especies estudiadas de *Abildgaardia* y *Fimbristylis* presentan un estilo con la porción basal dilatada y una única articulación con el ápice del ovario, a partir de la cual se desprenden el estilo y la estilobase. En *Abildgaardia*, el engrosamiento del estilo disminuye progresivamente hacia la porción distal, quedando constituida una estilobase alargada, de forma piramidal (Tabla 3.1; Fig. 3.1G); mientras que en *Fimbristylis*, si bien el engrosamiento del estilo también disminuye de manera gradual hacia la zona distal, se delimita ligeramente un bulbillo basal (Tabla 3.1; Figs. 3.2M, 3.3J). En *Bulbostylis* el estilo se encuentra engrosado en su porción basal formando un bulbillo bien definido, delimitado por dos articulaciones: una sobre el ápice del ovario (homóloga en posición a la que se observa en *Abildgaardia* y *Fimbristylis*) y otra en el extremo distal de la estilobase. Generalmente la porción no engrosada del estilo cae, mientras que la base engrosada permanece. En *B. conifera* y *B. juncooides* (donde solo ocurre abscisión distal del estilo, como en la mayoría de las *Bulbostylis*) la estilobase presenta forma bulbosa deprimida (Tabla 3.1; Figs. 3.4J, 3.5H, I), mientras que en *B. sp2* (donde se da inicialmente abscisión de la porción distal del estilo, y tardíamente abscisión del estilopodio) la estilobase presenta morfología intermedia entre la estructura bulbosa deprimida de las *Bulbostylis* típicas y la estilobase cortamente piramidal de las *Fimbristylis* (Tabla 3.1; Fig. 3.6I).

Tabla 3.1: Variaciones de la estilobase y el estilo en *Abildgaardia*, *Bulbostylis* y *Fimbristylis*.

Especie	Forma de la estilobase en el fruto maduro	Constricción basal en el fruto maduro	Constricción apical en el fruto maduro	Abscisión del estilo	Diferenciación del estilo
<i>Abildgaardia ovata</i>	piramidal extendida	presente	ausente	basal	tardía
<i>Bulbostylis conifera</i>	bulbosa	presente	presente	distal	temprana
<i>Bulbostylis juncooides</i>	bulbosa	presente	presente	distal	temprana
<i>Bulbostylis sp.2</i>	bulbosa-cortamente piramidal	presente	presente	distal y tardíamente basal	temprana
<i>Fimbristylis autumnalis</i>	cortamente piramidal	presente	ausente	basal	tardía
<i>Fimbristylis squarrosa</i>	cortamente piramidal	presente	ausente	basal	tardía

Desarrollo floral general

Todas las especies estudiadas comparten las etapas iniciales del desarrollo, desde la aparición de los carpelos y la formación del ovario, hasta la diferenciación de la primera articulación que delimita el ovario del estilo y el estigma [Figs. 3.1A(I-V)-E, 3.2A-H, 3.3A-F, 3.4A-F, 3.5A-D y 3.6A-E]. Las flores son bisexuales y surgen de la axila de glumas espiraladas dispuestas sobre una raquilla indeterminada. Luego de la iniciación de una gluma, un primordio floral se forma en su axila. En este momento el primordio floral comienza a desarrollarse rápidamente y sobrepasa al primordio de gluma; la diferenciación del meristema floral continúa por fuera del primordio de gluma hasta que en un momento el primordio de gluma supera a la flor en desarrollo y la cubre totalmente, por lo que las siguientes etapas de la ontogenia continúan cubiertas por la gluma (Figs. 3.1A, 3.4A y 3.6A, B). En la formación del gineceo, el ápice floral se hincha y luego forma dos primordios, un primordio de ovario con forma anular (tres, o dos en *F. squarrosa*, carpelos primordiales fusionados congénitamente forman la pared del mismo) rodeando a un primordio de óvulo de posición central [Figs. 3.1A(II), B, 3.2A, 3.4A, 3.5A y 3.6A]. Posteriormente, en el extremo de la pared del ovario aparecen dos protuberancias laterales, generalmente seguidas por una tercera protuberancia abaxial. En este momento el ovario comienza a verse trígono (o biconvexo en *F. squarrosa*) [Figs. 3.1A(III), C, 3.2B, 3.3A, 3.4A, 3.5B y 3.6A, B]. Subsecuentemente el primordio anular de ovario crece desde su base, hasta que las paredes del mismo envuelven completamente al óvulo [Figs. 3.1A(IV y V), D, 3.2C, D, 3.3B, 3.4A, B, 3.5C, D y 3.6A].

Desarrollo del estilo y del estigma

En los tres géneros los meristemas carpelares se inician como 3 puntas separadas (2 en *F. squarrosa*) que crecen desde su base formando el ovario; al momento en que el ovario queda constituido, los extremos carpelares permanecen separados sin que exista delimitación entre estilo y estigma (Figs. 3.2E, 3.3C, D, 3.4C, 3.5D y 3.6B). Seguidamente los carpelos se alargan, y se inician las ramas estigmáticas y el estilo (Figs. 3.2F, G, 3.3E, 3.4D, E y 3.6C, D). Posteriormente la diferenciación de estilo y estigma comienza; las ramas estigmáticas comienzan a verse con pelos, mientras la región estilar se ensancha en su base y una articulación entre la porción engrosada del estilo y el ovario comienza a observarse (Figs. 3.1E, 3.2H, I, 3.3F, 3.4F, G y 3.6E); el estilo queda entonces diferenciado en una región proximal (la estilobase) y una porción distal no engrosada. En *Bulbostylis* la región distal del estilo se alarga, y comienza a delinearse una constricción en el extremo distal de la estilobase (Figs. 3.4H, 3.5E y 3.6F). Al mismo tiempo, en *Abildgaardia* y *Fimbristylis*, solo la porción proximal del estilo se diferencia, mientras que la región distal del mismo no se elonga ni forma una segunda articulación [Figs. 3.1A(VI y VII), F, 3.2J y 3.3G].

En todas las especies estudiadas el inicio del estilo y del estigma ocurre de manera similar y en las mismas etapas de la ontogenia. La diferenciación del estilo comienza con el esbozo de la estilobase en los tres géneros, pero diferencias marcadas entre ellos se presentan en relación con el momento y el grado en que se diferencia la región no engrosada del estilo. En *Fimbristylis* y *Abildgaardia* la región distal del estilo se diferencia en las últimas etapas del desarrollo floral antes de la antesis, por lo que aún tardíamente las ramas estigmáticas se encuentran cercanas a la estilobase [Tabla 3.1; Figs. 3.1A(VII), F, 3.2K, L y 3.3H, I]. En *Bulbostylis*, el estilo comienza a alargarse más tempranamente y diferencia una segunda articulación en el extremo distal del

abultamiento de la estilobase. El precoz alargamiento del estilo provoca que las ramas estigmáticas tempranamente se alejen de la estilobase (Tabla 3.1; Figs. 3.4I, J, 3.5E-G y 3.6G-I).

Anatomía de la porción basal de las estilobases

La porción proximal del estilopodio se encuentra constituida al momento de la antesis por células parenquimáticas, las cuales progresivamente van aumentando el grosor de sus paredes, hasta convertirse en esclereidas en el fruto maduro. No obstante no se diferencian tejidos especializados que indiquen la presencia de una zona de abscisión en esta región en ninguno de los géneros (Figs. 3.7D-G, K, L, O-U y 3.8C-G, M-R, U-Y). La zona basal de la estilobase limita con el ápice del ovario; desde etapas tempranas del desarrollo floral hasta la antesis, las células de la epidermis externa del ovario experimentan un alargamiento anticlinal progresivo que acentúa la constricción basal de la estilobase (Figs. 3.7A-D, H-K, N, O y 3.8A-C, H-M, S-U). En etapas tempranas de la formación del fruto, las células del epicarpo parecen detener su alargamiento y pierden su núcleo; mientras tanto, las células del mesocarpo comienzan a esclerosarse simultáneamente por todo el ovario (Figs. 3.7E-G, L, M, P-U y 3.8D-G, N-R, V-Y).

Anatomía del cuerpo de la estilobase

Al momento de la antesis el estilopodio se compone de células parenquimáticas, intercaladas por taninos, y traqueoides, un tipo especializado de células que se observan dispersas en la estilobase tanto de *Abildgaardia*, *Bulbostylis* y *Fimbristylis* (Figs. 3.7D, E, K, O y 3.8C, M, U). Por el centro del estilopodio un fino canal tapizado por tejido de transmisión atraviesa longitudinalmente esta estructura, y se continúa con la porción

superior del estilo. Al progresar el desarrollo del fruto, las células tánicas y los traqueoides se hacen más abundantes, mientras que las células parenquimáticas pueden colapsar o engrosar progresivamente sus paredes hasta convertirse en esclereidas (Figs. 3.7U y 3.8G, R). El engrosamiento de las células parenquimáticas de la estilobase progresa desde la región proximal hacia la distal, pero diferencias marcadas se observan en los distintos géneros en cuanto a la zona de la estilobase afectada por el esclerosamiento. A la madurez del fruto, las especies de *Bulbostylis* presentan estilobases casi completamente esclerosadas (Fig. 3.9A-E); mientras que las especies de *Fimbristylis* y *Abildgaardia* exhiben estilobases con células esclerosadas limitadas solo a la región basal (Figs. 3.10A-H). En *B. sp2*, el esclerosamiento se encuentra extendido por una región bastante amplia (mayor que la que se observa en *Abildgaardia* y *Fimbristylis*), pero más limitada que en las otras especies de *Bulbostylis* estudiadas (3.9F-H).

Anatomía de la región apical de las estilobases

En los tres géneros, al momento de la antesis, la porción no engrosada del estilo se encuentra constituida principalmente por células parenquimáticas de paredes finas y células tánicas. Desde etapas anteriores a la antesis, las células de la porción superior/distal del estilo comienzan a alargarse longitudinalmente, lo que provoca un contraste cada vez mayor entre dichas células y las células más o menos isodiamétricas de la estilobase. En *Bulbostylis*, este proceso comienza más temprano y provoca (aproximadamente en la antesis) una diferencia más marcada y tajante entre la porción distal de la estilobase y la zona superior del estilo que lo que se observa en *Abildgaardia* y *Fimbristylis* (Fig. 3.8C, D, K-N). En estos dos últimos géneros, el contraste entre dichas regiones es menor, llegando a ser muy tenue en *Abildgaardia*

(Fig. 3.7D, E, J, O, P). En *Bulbostylis*, en etapas tempranas de la fructificación, las células de la región no engrosada del estilo comienzan a morir, mientras que en *Abildgaardia* y *Fimbristylis* la muerte celular se da por todo el estilo (tanto en la región distal no engrosada como en la estilobase). En ninguno de los géneros se diferencia una placa de abscisión en la región distal de la estilobase.

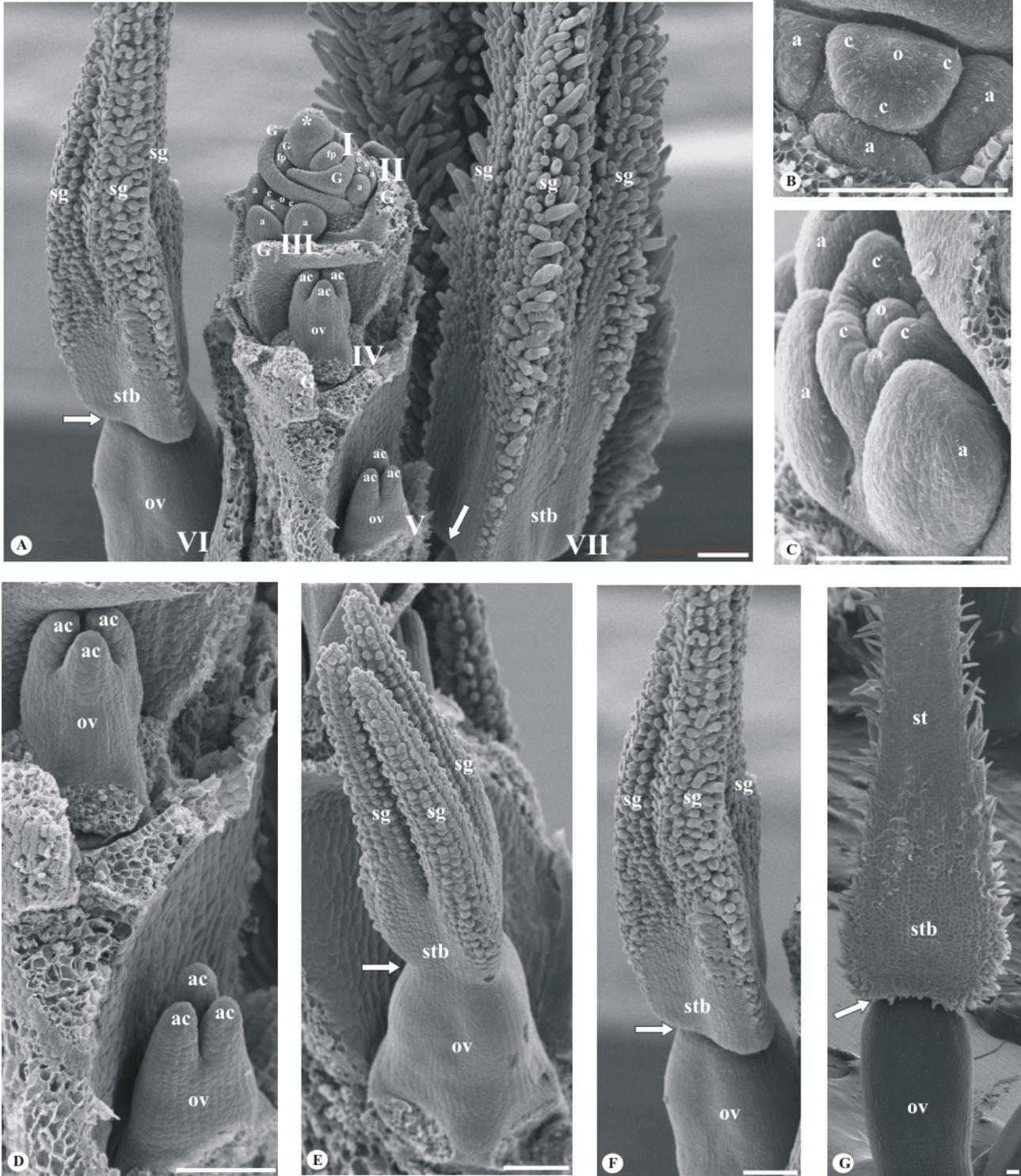


Figura 3.1. - Desarrollo del gineceo de *Abildgaardia ovata*, analizado bajo microscopio electrónico de barrido. (A) Vista lateral del ápice de una espiguilla, llevando flores con diferentes estados de desarrollo del gineceo, numerados I-VII; en los estados VI y VII la flecha señala la articulación formada en la región proximal de la estilobase. (B) Vista apical de un estadio temprano del desarrollo floral, en el cual el primordio de gineceo se encuentra diferenciado en un primordio de ovario anular, que rodea a un primordio de óvulo central. (C) Vista lateral de una flor en desarrollo en la cual tres protuberancias carpelares surgen en el extremo de la pared del primordio de ovario. (D) Vista lateral de dos gineceos en similares estados de la ontogenia, donde la pared del ovario en desarrollo encierra completamente al óvulo, y tres puntas carpelares sobresalen en el extremo distal. (E) Vista lateral del gineceo en el cual estigma y estilo están diferenciados; la flecha indica el área entre el ápice del ovario y la región proximal del estilo, donde una constricción comienza a emerger. (F) Estado avanzado del desarrollo del gineceo, en el cual la constricción se acentúa (señalada por la flecha), la porción proximal del estilo se diferencia, y las ramas estigmáticas están más diferenciadas. (G) Vista lateral de un fruto inmaduro en el cual solo una articulación se observa (flecha), y el estilo presenta una porción proximal expandida y una zona distal no engrosada. Referencias: a, antera (primordio); ac, ápice carpelar; c, carpelo; G, gluma (primordio); o, óvulo (primordio); ov, pared del ovario (primordio); fp, flor (primordio); sg, estigma (primordio); st, estilo (primordio); stb, estilobase (primordio); *, ápice de la raquilla. Las barras representan 100 μ m.

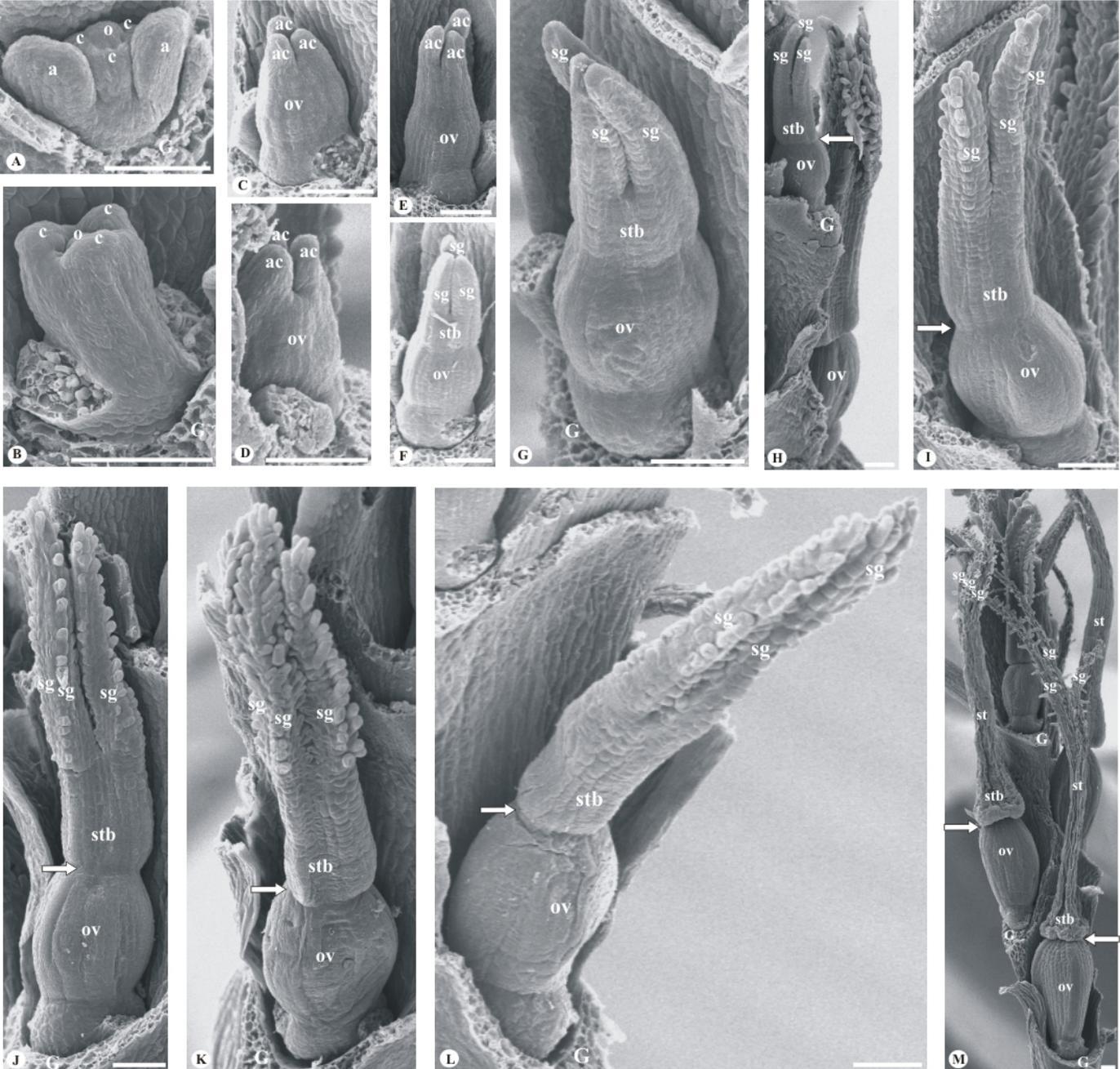


Figura 3.2. - Desarrollo del gineceo de *Fimbristylis autumnalis*, analizado bajo microscopio electrónico de barrido. (A) Estado temprano del desarrollo floral donde se observan dos primordios de estambres, y un primordio de ovario anular rodeando a un primordio de óvulo central. (B) Inicio de tres protuberancias en el extremo apical de la pared del ovario en formación. (C) y (D) Estado del desarrollo del gineceo, donde la pared del primordio de ovario encierra al óvulo, y remata en tres puntas carpelares distales. (E) Momento posterior del desarrollo del gineceo, en el cual los extremos carpelares se han alargado ligeramente, pero permanecen aún indiferenciados. (F) y (G) Origen del estilo y de las ramas estigmáticas. (H) y (I) Diferenciación del estilo en una región basal engrosada, y desarrollo de papilas en las ramas estigmáticas; la flecha indica el inicio de una articulación entre el ápice del ovario y el estilo. (J-L) Subsiguientes estados de desarrollo del gineceo en los cuales se profundiza la única articulación generada (indicada por la flecha), y tanto la porción proximal del estilo, como las ramas estigmáticas se encuentran más diferenciadas. (M) Vista lateral de una espiguilla llevando flores en su región distal y frutos en su porción proximal; notar que la porción distal del estilo está elongada, y solo la articulación proximal de la estilobase está presente (marcada por la flecha). Referencias: a, antera (primordio); ac, ápice carpelar; c, carpelo; G, gluma (primordio); o, óvulo (primordio); ov, pared del ovario (primordio); sg, estigma (primordio); st, estilo (primordio); stb, estilobase (primordio). Las barras representan 50 μ m.



Figura 3.3. - Desarrollo del gineceo de *Fimbristylis squarrosa*, analizado bajo microscopio electrónico de barrido. (A) Vista lateral de una etapa temprana de desarrollo floral, donde se observa un primordio de estambre, y un primordio anular de ovario rodeando a un primordio de óvulo central. (B) Gineceo con la pared del primordio de ovario envolviendo al óvulo, y llevando dos puntas carpelares distales. (C) y (D) Siguiendo estado de desarrollo del gineceo, en el cual los extremos carpelares se han elongado ligeramente, pero permanecen aún indiferenciados. (E) Origen del estilo y de las ramas estigmáticas. (F) Diferenciación del estilo en una región basal engrosada, y desarrollo de papilas en las ramas estigmáticas; la flecha indica el surgimiento de una articulación entre el ápice del ovario y el estilo. (G-I) Subsiguientes estados de desarrollo del gineceo en los cuales la única articulación generada (indicada por la flecha) se encuentra más pronunciada, y tanto la porción proximal del estilo, como las ramas estigmáticas están más diferenciadas. (J) Frutos cercanos a la madurez, en los cuales la porción distal del estilo está elongada, y se observa una única articulación (señalada por la flecha) en la zona proximal de la estilobase. Referencias: a, antera (primordio); ac, ápice carpelar; c, carpelo; o, óvulo (primordio); ov, pared del ovario (primordio); sg, estigma (primordio); st, estilo (primordio); stb, estilobase (primordio). Las barras representan 50 μm .

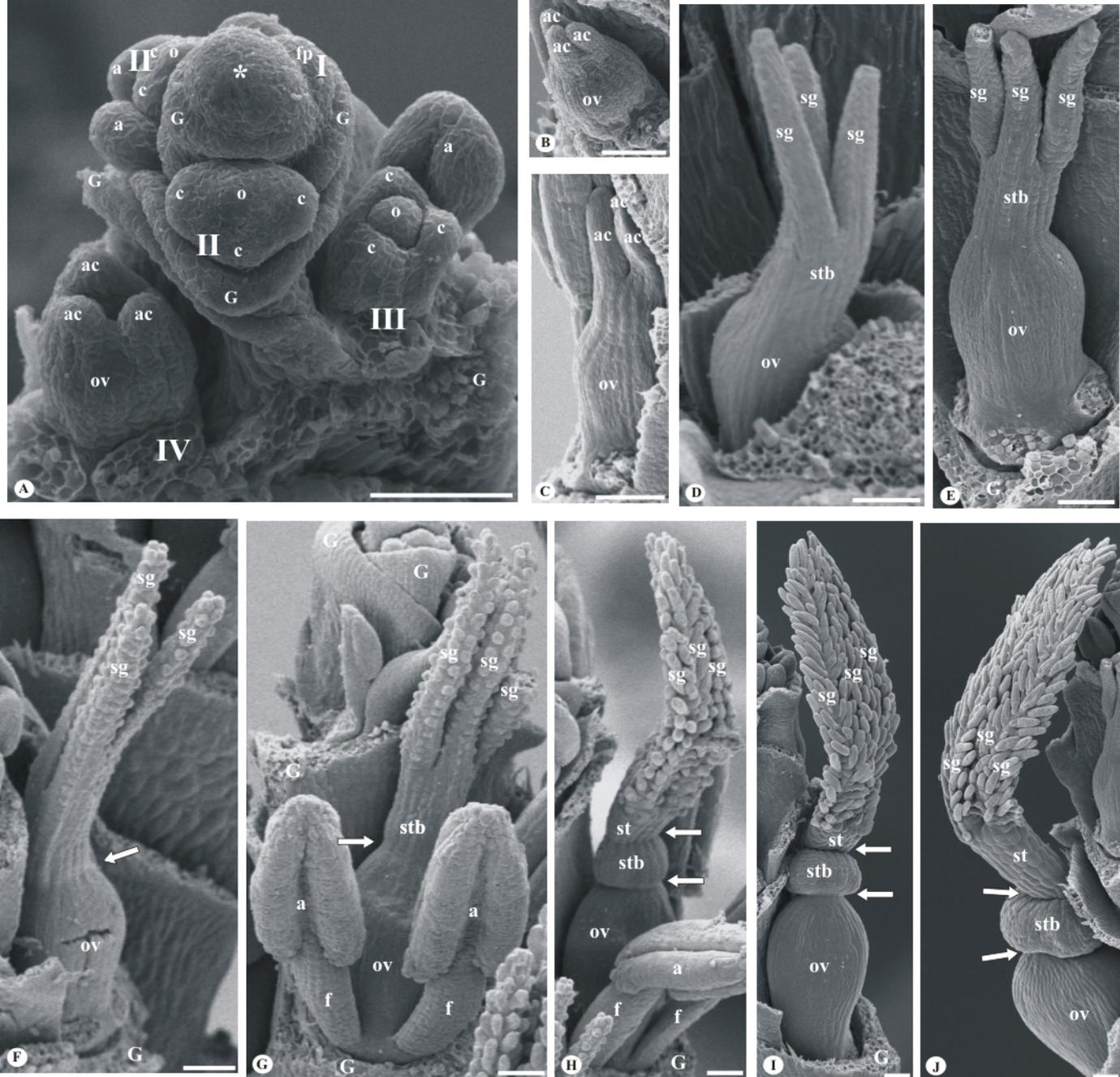


Figura 3.4. - Desarrollo del gineceo de *Bulbostylis juncooides*, analizado bajo microscopio electrónico de barrido. (A) Espiguilla llevando flores en etapas tempranas de desarrollo (I-IV); con el mismo número se señalan similares estados de desarrollo. Al estado "I" la flor es un primordio sin órganos diferenciados; al estado "II" el primordio del gineceo se ha diferenciado en un primordio anular de ovario, el cual rodea a un primordio de óvulo central; al estado "III" tres protuberancias carpelares surgen en el extremo de la pared del primordio de ovario; y al estado "IV" la pared del primordio de ovario encierra completamente al óvulo. (B) y (C) Estados sucesivos de desarrollo del gineceo, en los cuales los extremos carpelares se han elongado ligeramente, pero permanecen aún indiferenciados. (D) y (E) Estado posterior de diferenciación del gineceo, en el cual se inicia el estilo y las ramas estigmáticas. (F) Estado de desarrollo en el cual el estilo se encuentra engrosado en su porción basal, y una articulación (señalada por la flecha) surge entre el ápice del ovario y el estilo; notar como las ramas estigmáticas se vuelven más papilosas. (G). Similar estado ontogenético que en "F", pero en el cual la diferenciación se ha avanzado. (H) Siguiente etapa de desarrollo del gineceo, en la cual dos articulaciones limitan la estilobase (indicadas por las flechas) y la región distal del estilo está elongada. (I) y (J) Estados avanzados de desarrollo del gineceo, en los cuales las constricciones que limitan la estilobase se profundizan (señaladas por las flechas) y la porción distal del estilo se presenta más elongada. Referencias: a, antera (primordio); ac, ápice carpelar; c, carpelo; f, filamento; fp, flor (primordio); G, gluma (primordio); o, óvulo (primordio); ov, pared del ovario (primordio); sg, estigma (primordio); st, estilo (primordio); stb, estilobase (primordio); *, ápice de la raquilla. Las barras representan 50 μ m.

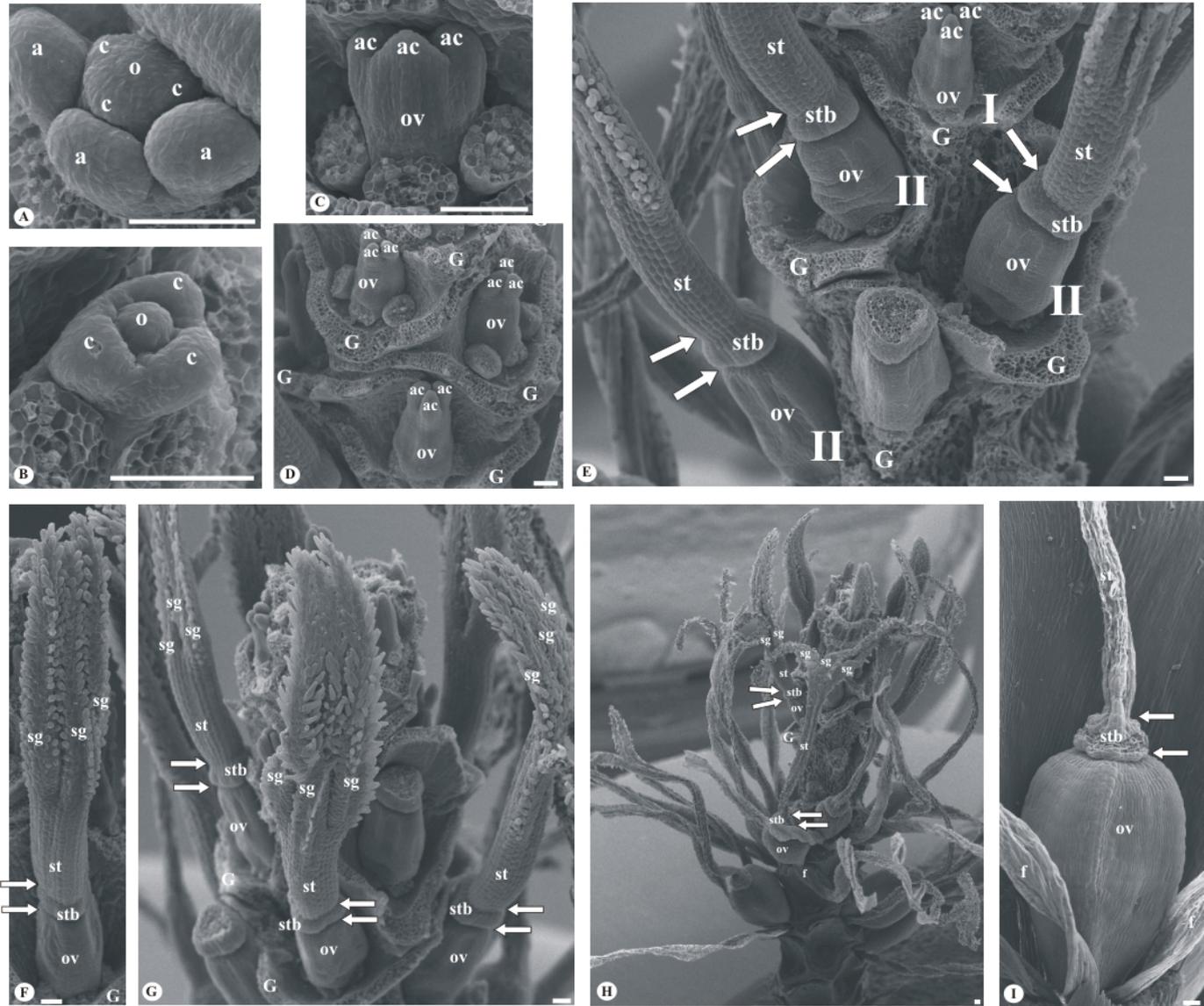


Figura 3.5. - Desarrollo del gineceo de *Bulbostylis conifera*, analizado bajo microscopio electrónico de barrido. (A) Primordio floral en el cual el gineceo se encuentra diferenciado en un primordio anular de ovario, y un primordio de óvulo central. (B) Gineceo en desarrollo en el cual tres protuberancias surgen en el extremo de la pared del primordio de ovario. (C) Estado de diferenciación del gineceo en el cual la pared del primordio de ovario encierra completamente al primordio de óvulo. (D) Vista lateral de una espiguilla llevando varios primordios de gineceo en similares estados de desarrollo, donde los extremos carpelares se han elongado ligeramente, pero permanecen aún indiferenciados. (E) Vista lateral de una espiguilla conteniendo gineceos en dos diferentes estados del desarrollo; el mismo número (I o II) indica similar estado ontogenético. Al estado "I" el gineceo es similar al descrito en punto "D"; al estado "II" el estilo está diferenciado en una región basal engrosada, con dos articulaciones limitando esa estructura (indicadas con flechas), y una región distal no engrosada; notar la presencia de papilas sobre las ramas estigmáticas. (F) y (G) Estado posterior de diferenciación del gineceo, en el cual las dos articulaciones observadas en "E", se profundizan (señaladas por las flechas). (H) Vista lateral de una espiguilla portando flores en la región distal, y frutos semimaduros en la porción proximal; notar que en estos últimos la porción distal del estilo se encuentra elongada, y dos articulaciones limitando la estilobase se reconocen (indicadas con flechas). (I) Detalle de un fruto semimaduro observado en "H". Referencias: a, antera (primordio); ac, ápice carpelar; c, carpelo; f, filamento; G, gluma (primordio); o, óvulo (primordio); ov, pared del ovario (primordio); sg, estigma (primordio); st, estilo (primordio); stb, estilobase (primordio). Las barras representan 50 μm .

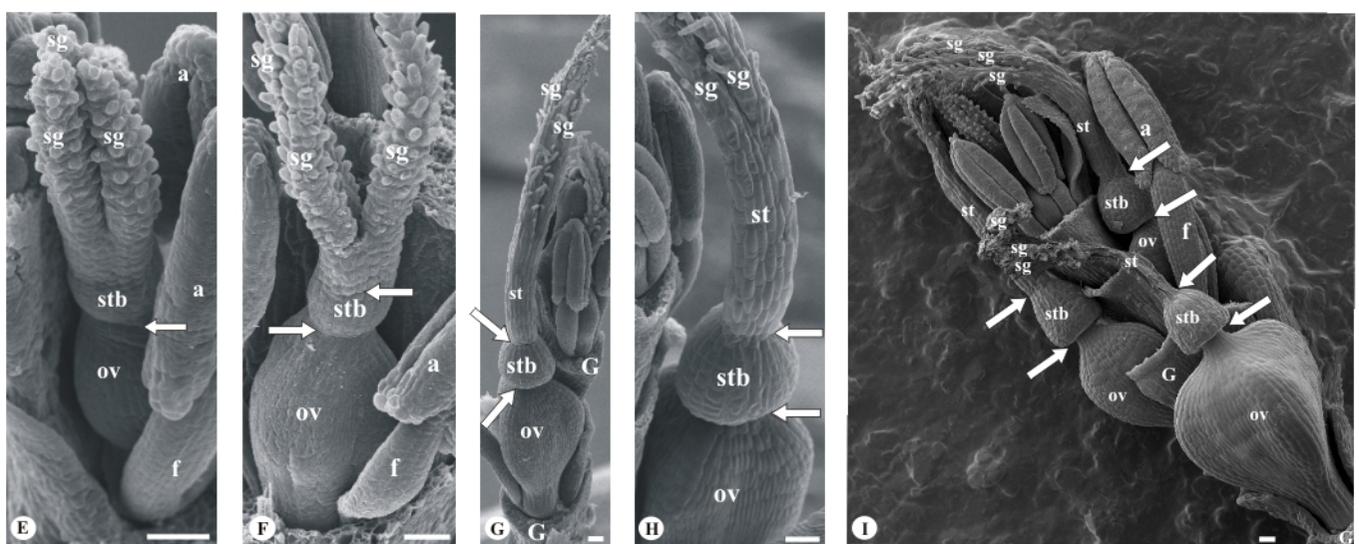
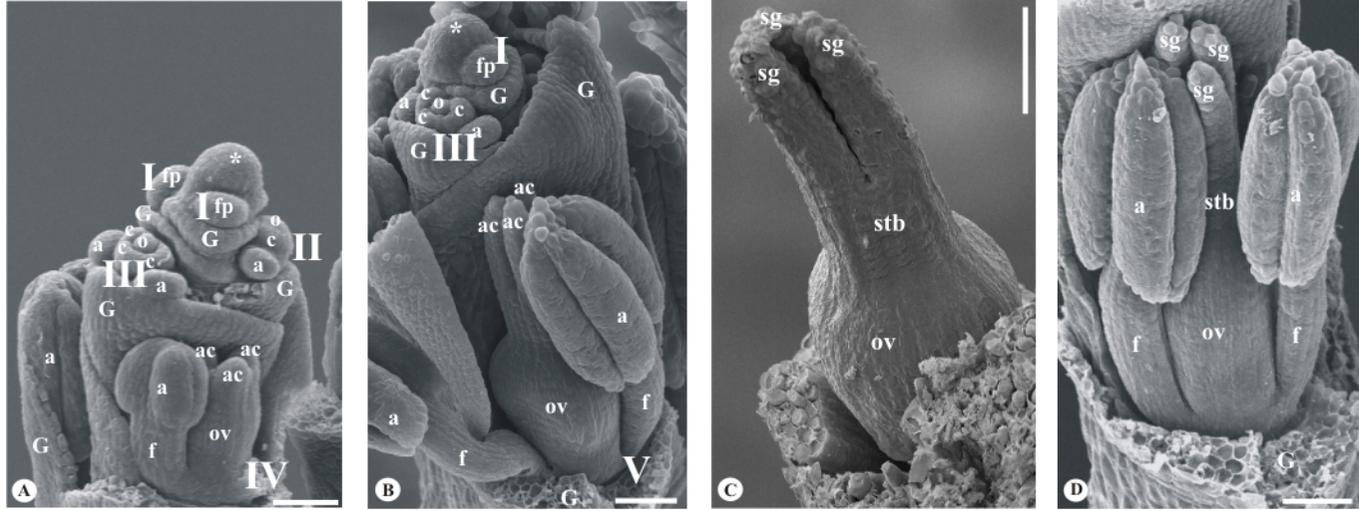


Figura 3.6. - Desarrollo del gineceo de *Bulbostylis sp2*, analizado bajo microscopio electrónico de barrido. (A) Vista lateral de la porción distal de una espiguilla, conteniendo estados tempranos de desarrollo floral, el mismo número (I-IV) designa etapas de desarrollo similares. Al estado "I" la flor es un primordio sin órganos diferenciados; al estado "II" el primordio del gineceo está diferenciado en un primordio anular de ovario, que rodea a un primordio de óvulo central; al estado "III" tres protuberancias carpelares surgen en el extremo de la pared del primordio de ovario; y al estado "IV" la pared del primordio de ovario encierra completamente al óvulo. (B) Vista lateral de una espiguilla con flores en similares estados de diferenciación que los observados en "A" (numerados de la misma manera), pero portando adicionalmente un estado posterior, "V", en el cual los extremos carpelares se han elongado ligeramente, pero permanecen aún indiferenciados. (C) y (D) Origen del estilo y de las ramas estigmáticas. (E) Diferenciación del estilo en una región basal engrosada, y desarrollo de papilas sobre las ramas estigmáticas; la flecha indica el comienzo de una articulación entre el ápice del ovario y el estilo. (F) Estado posterior de diferenciación del estilo, en el cual la articulación proximal de la estilobase se acentúa, y una segunda constricción se inicia en el extremo distal de la estilobase (ambas indicadas por flechas). (G) y (H) Estado avanzado de desarrollo del gineceo, en el cual las dos constricciones que limitan la estilobase se profundizan (señaladas por flechas), y la porción distal del estilo se elonga. (I) Vista lateral de una espiguilla llevando flores en la zona distal y frutos semimaduros en la region proximal; notar que en estos últimos la porción distal del estilo se encuentra elongada, y dos articulaciones limitando la estilobase se reconocen (indicadas con flechas). Referencias: a, antera (primordio); ac, ápice carpelar; c, carpelo; f, filamento; fp, flor (primordio); G, gluma (primordio); o, ovulo (primordio); ov, pared del ovario (primordio); sg, estigma (primordio); st, estilo (primordio); stb, estilobase (primordio); *, ápice de la raquilla. Las barras representan 50 μ m.

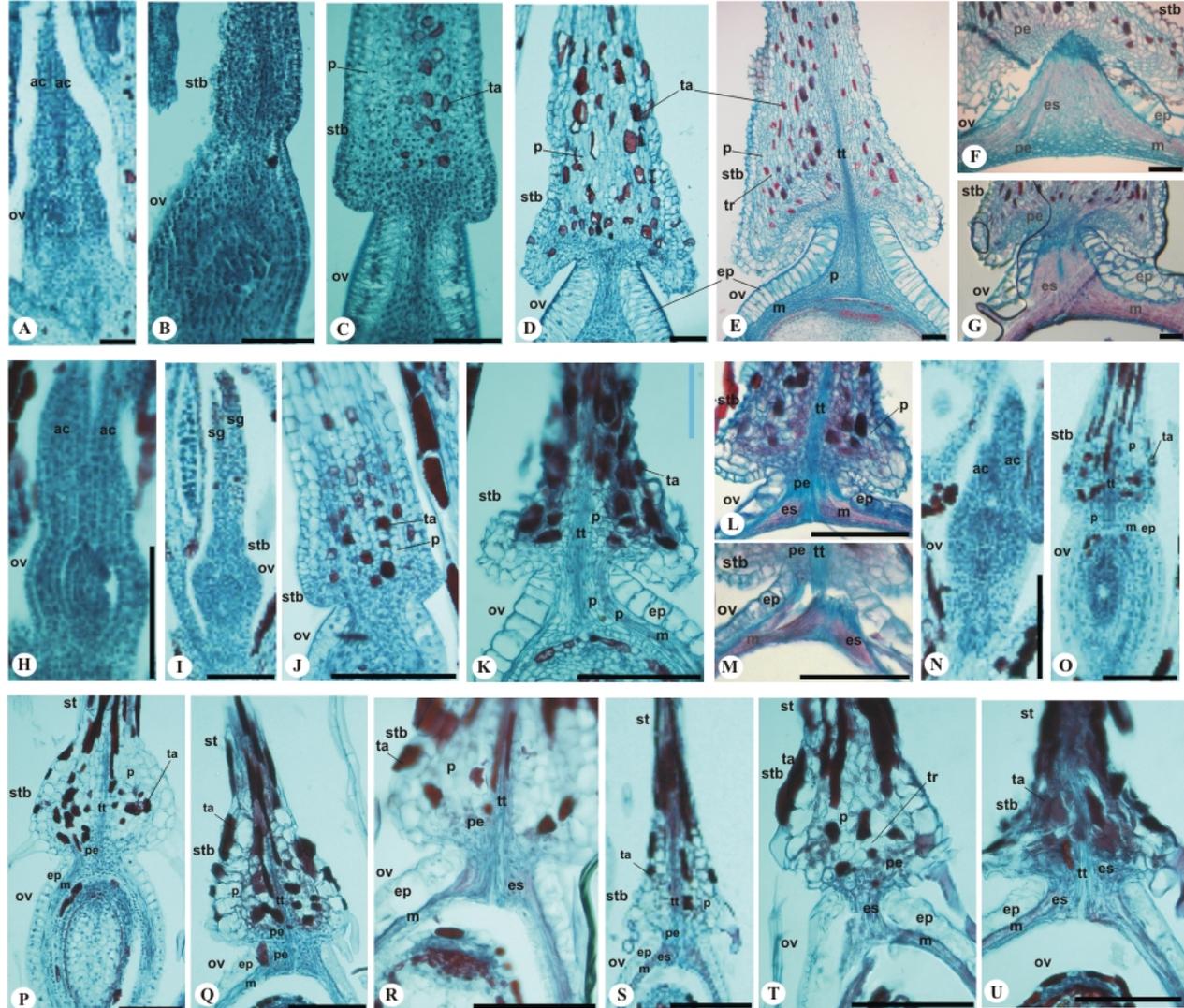


Figura 3.7. - Secciones longitudinales de estados de desarrollo sucesivos del gineceo en *Abildgaardia* y *Fimbristylis*. (A-G) *A. ovata*. (H-M) *F. autumnalis*. (N-U) *F. squarrosa*. Referencias: ac, ápice carpelar; ep, célula del epicarpo; es, esclereida; m, célula del mesocarpo; p, célula parenquimática; pe, célula parenquimática con paredes engrosadas; sg, estigma; st, estilo; stb, estilobase; ov, ovario; ta, célula tánica; tr, traqueoide; tt, tejido de transmisión. Las barras representan 100 μm .

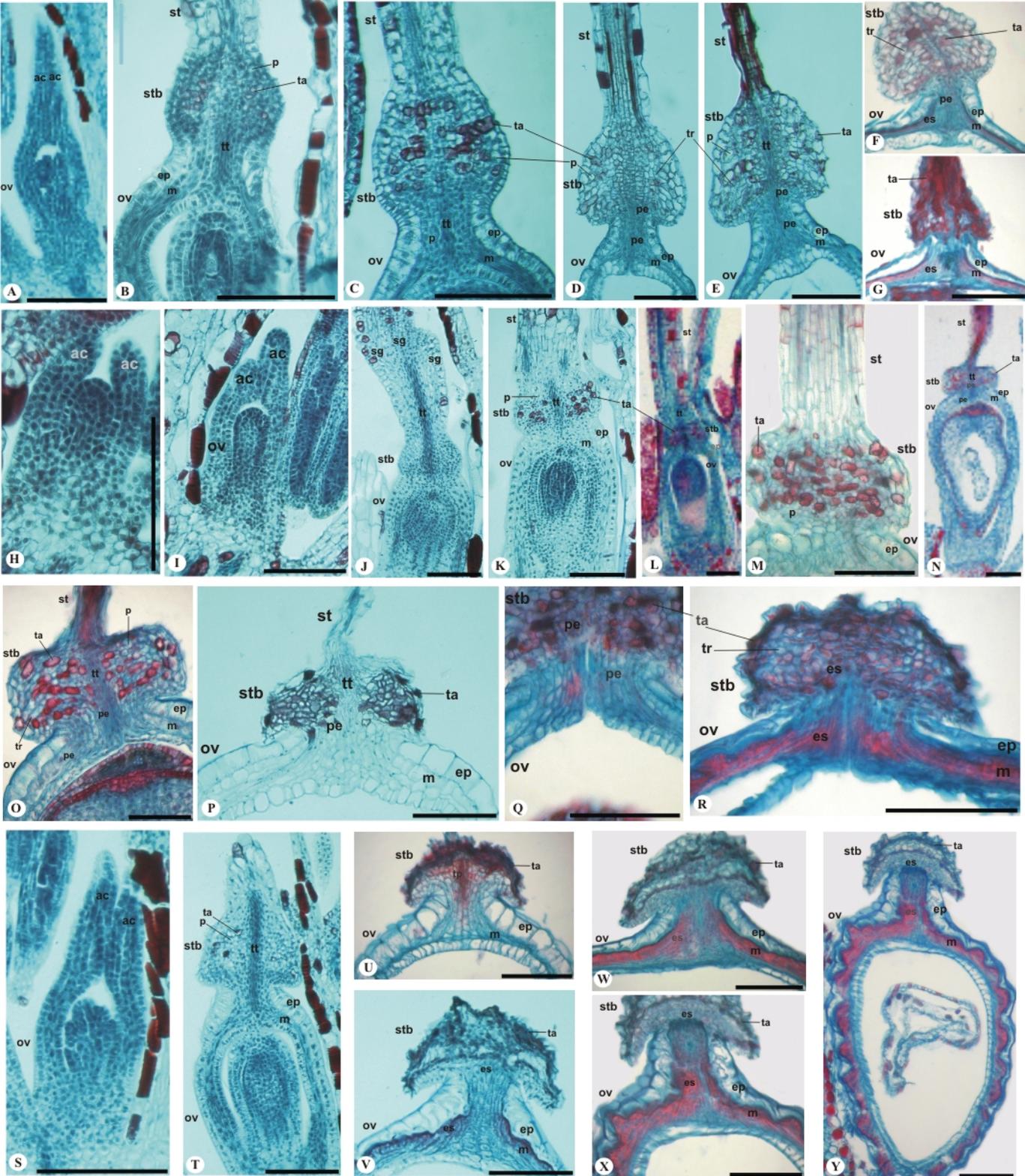


Figura 3.8. - Secciones longitudinales de estados de desarrollo sucesivos del gineceo en *Bulbostylis*. (A-G) *B. sp2*. (H-R) *B. conifera*. (S-Y) *B. juncooides*. Referencias: ac, ápice carpelar; ep, célula del epicarpo; es, esclerida; m, célula del mesocarpo; ov, ovario; p, célula parenquimática; pe, célula parenquimática con paredes engrosadas; sg, estigma; st, estilo; stb, estilobase; ta, célula tánica; tt, tejido de transmisión. Las barras representan 100 μm.

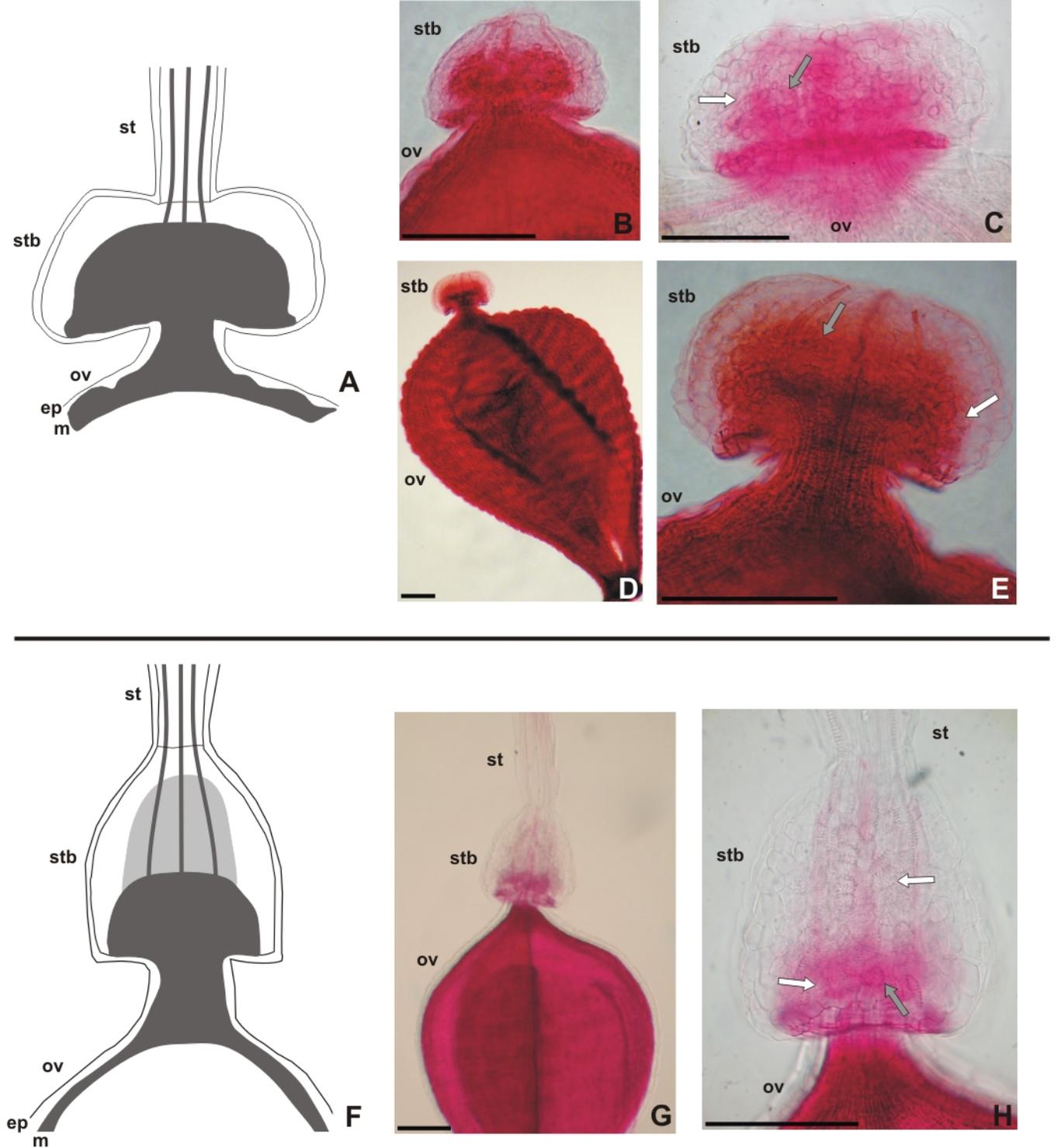


Figura 3.9. - Estilobases en frutos maduros de *Bulbostylis*. (A) Esquema simplificado de la estilobase de *Bulbostylis conifera* y *B. juncooides*. El área oscura representa la porción con esclereidas. (B) y (C) Imágenes de estilobases diafanizadas de *B. conifera*, obtenidas bajo MF. (D) y (E) Imágenes de estilobases diafanizadas de *B. juncooides*, obtenidas bajo MF. (F) Esquema simplificado de la estilobase de *B. sp2*. El área oscura representa la porción con esclereidas; el área gris representa una porción con abundantes traqueoides, pero sin esclereidas. (G) y (H) Imágenes de estilobases diafanizadas de *B. sp2*, obtenidas bajo microscopia fotónica. Las flechas blancas señalan traqueoides, las flechas grises señalan esclereidas. Referencias: ep, célula del epicarpo; m, célula del mesocarpo; st, estilo; stb, estilobase; ov, ovario. Las barras representan 100 μm .

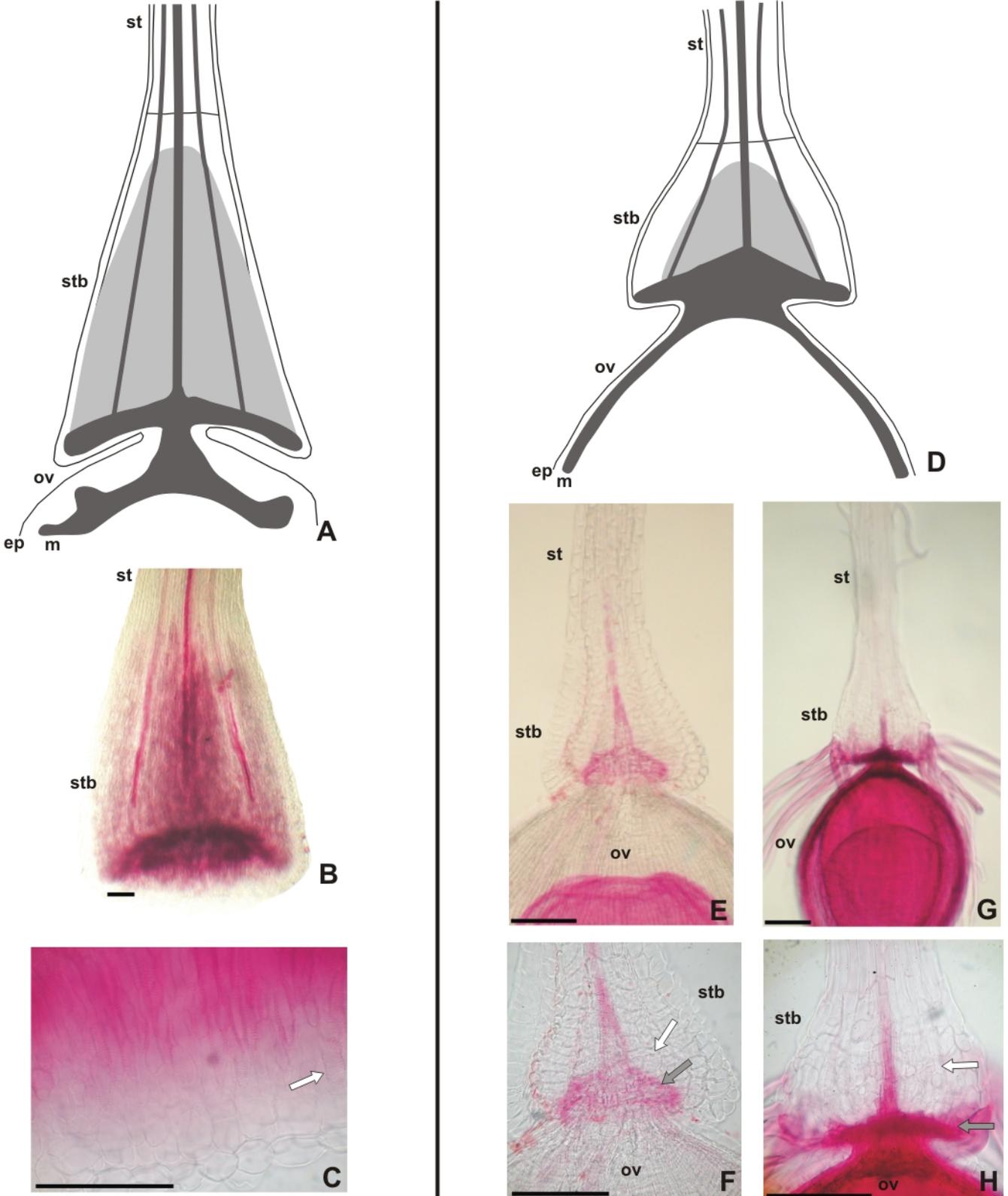


Figura 3.10. - Estilobases en frutos maduros de *Abildgaardia* y *Fimbristylis*. (A) Esquema simplificado de la estilobase de *Abildgaardia ovata*; el área oscura representa la porción con esclereidas, el área gris representa una porción con abundantes traqueoides, pero sin esclereidas. (B) Imagen de la estilobase diafanizada de *A. ovata*, obtenida bajo MF. (C) Detalle de "B", donde se observan traqueoides. (D) Esquema simplificado de la estilobase de *Fimbristylis autumnalis* y *F. squarrosa*; el área oscura representa la porción con esclereidas, el área gris representa una porción con abundantes traqueoides, pero sin esclereidas. (E) y (F) Imágenes de la estilobase diafanizada de *F. autumnalis*, obtenidas bajo MF. (G) y (H) Imágenes de la estilobase diafanizada de *F. squarrosa*, obtenidas bajo microscopía fotónica. Las flechas blancas señalan traqueoides, las flechas grises señalan esclereidas. Referencias: ep, célula del epicarpo; m, célula del mesocarpo; st, estilo; stb, estilobase; ov, ovario. Las barras representan 100 μm .

Discusión

En todas las especies estudiadas el desarrollo floral ocurre de acuerdo al general patrón ontogenético “scirpoid” (Vrijdaghs, 2006; Vrijdaghs et al., 2005a, 2009), aunque algunas variaciones se presentan debido a la ausencia de piezas de perianto, y al desarrollo en *Fimbristylis squarrosa* de dos carpelos y un único estambre.

La estilobase en *Abildgaardia*, *Bulbostylis* y *Fimbristylis* es homóloga y presenta similar estructura y desarrollo; y su desprendimiento o permanencia no puede explicarse por el desarrollo o no de estructuras histológicas más o menos complejas. El desprendimiento o no de la estilobase podría estar en relación con el contraste más o menos marcado que existe entre el tejido del ápice del ovario y el de la estilobase. En *Abildgaardia* y *Fimbristylis*, cuando las células del ápice del ovario alcanzan un alto grado de esclerosamiento, las células adyacentes en la estilobase parecen encontrarse esclerosadas pero solo en una región limitada, mucho más reducida que la que se observa en las especies de *Bulbostylis* estudiadas. En grados similares de esclerosamiento a nivel del ápice del ovario, las estilobases de *Bulbostylis* presentan células epidérmicas colapsadas, esclereidas distribuidas por casi toda la estilobase y traqueoides; mientras que las estilobases de *Abildgaardia* y *Fimbristylis* presentan células epidérmicas vivas, células parenquimáticas de paredes generalmente delgadas, menor cantidad de esclereidas y en una zona más restringida, y traqueoides. El desprendimiento de estilo+estilobase en estos dos géneros parece ocurrir por ruptura mecánica a este nivel, donde se observa una discontinuidad tisular (o diferenciación más marcada) entre la estilobase y el ápice del fruto respecto a lo que se observa en *Bulbostylis*.

En las especies con estilobase tipo *Bulbostylis*, donde la diferenciación del estilo es mayor y más temprana, se genera una segunda articulación en la región distal de esta estructura, la cual parecería sugerir la formación de una placa de abscisión a este nivel; esto sería coherente con el desprendimiento de la región no engrosada del estilo en las especies de *Bulbostylis*. Sin embargo, ninguna evidencia de especialización histológica, que indique la presencia de una placa de abscisión, se observa entre la estilobase y la región distal del estilo en este género; contrariamente a lo que han sugerido Gordon-Gray (1971) para *Bulbostylis* y Bruhl (1995) para *Rhynchospora*. La maduración basípeta normal de los carpelos progresa y el tejido por sobre esta constricción se seca y se desarticula mecánicamente de la estilobase, en la cual las células permanecen vivas.

Buscarle una función a la estilobase sería muy complejo, pero entre otras posibilidades ésta podría: 1) ser un carácter neutro; 2) delimitar o señalar una porción del estilo donde se realiza una selección de tubos polínicos; 3) proteger el ápice del ovario; 4) servir como estructura para dispersión del fruto (como también sugiere Vrijdaghs et al. (2009) para *Eleocharis*); 5) jugar algún papel en la germinación. Gonzalez & López (2010) consideran que esta estructura en *Bulbostylis* tal vez podría relacionarse con la captación de agua para la germinación de la semilla, específicamente debido a la presencia de gran cantidad de traqueoides dentro de la misma; pero como puede verse por primera vez en este trabajo, este tipo de células especializadas que contribuyen al almacenamiento de agua, aire y al soporte mecánico (Olatunji & Nengim, 1980; Mangin, 1882; Kny & Zimmermann, 1885), se presentan también en abundancia en las estilobases de *Abildgaardia* y *Fimbristylis*, donde no podrían cumplir este rol dado su desprendimiento a la madurez del fruto.

El poseer estilobase diferenciada soporta la delimitación del clado *Abildgaardieae* en análisis cladísticos realizados para la familia *Cyperaceae* por Bruhl

(1995), aunque paralelismos se observan fuera del grupo (ej. en *Eleocharis*, *Rhynchospora*). Si evaluáramos el comportamiento del estado “estilobase diferenciada” en la filogenia de Ghamkhar et al. (2007) éste se presentaría como una sinapomorfía del clado *Abildgaardieae-Arthrostylideae*, mientras que si mapeáramos en dicha filogenia el carácter “duración de la estilobase”, el estado “estilobase caediza” sería una adquisición del clado *Arthrostylis+Actinoschoenus+Abildgaardia+Crosslandia+Fimbristylis*, y “estilobase persistente” sería el estado ancestral presente en el clado basal formado solo por especies de *Bulbostylis*. No obstante, cualquier suposición evolutiva resultaría apresurada dentro del grupo, ya que aún no se ha establecido una clara y apoyada relación entre estos géneros.

La duración de la estilobase ha sido y es un carácter muy usado para distinguir entre especies de *Abildgaardia*, *Bulbostylis* y *Fimbristylis*. No obstante se generan controversias en la utilización de este carácter, debido a que algunas especies de *Bulbostylis* (entre ellas *B. hispidula*) presentan estilobase tipo *Fimbristylis*-*Abildgaardia*, y otras (como *B. sp2*) presentan estilobase tipo *Bulbostylis* pero la cual es tardíamente caediza. Como vimos en este trabajo, las estilobases de *Abildgaardia*, *Bulbostylis* y *Fimbristylis* son similares en estructura y desarrollo general. El poseer estilobase tipo *Bulbostylis* implica que dicha estructura presente dos articulaciones delimitando el abultamiento de la estilobase y sea persistente. Presentar estilobase tipo *Abildgaardia*-*Fimbristylis* por otra parte, implica que esta estructura esté limitada solo por una articulación basal y sea caediza. Especies como *B. sp2*, serían un caso especial de estilobase tipo *Bulbostylis*, con 2 articulaciones y persistente a la fructificación, aunque con posibilidades de desprenderse tardíamente. Por otra parte, casos poco frecuentes como *B. hispidula*, tendrían estilobase típica de *Abildgaardia*-*Fimbristylis*, pero su ubicación dentro del género *Bulbostylis* podría justificarse en función al análisis

de este carácter en conjunto con otros de valor genérico (ej. presencia o ausencia de pelos lanosos en la boca de la vaina foliar, patrones de las células del pericarpo, entre otros), al igual que opinan Goetghebeur & Coudijze (1984, 1985). Tal vez *B. hispidula* y otras especies de *Bulbostylis* con estilobase tipo *Abildgaardia-Fimbristylis*, sean especies más relacionadas con el clado *Arthrostylis+Actinoschoenus+Abildgaardia+Crosslandia+Fimbristylis*, o bien sean casos en los que los estados “estilobase con 1 articulación” y “caediza” hayan sido adquiridos independientemente. Si esto último fuese cierto, la permanencia o no sobre el fruto de la base del estilo, no sería un buen carácter para delimitar los géneros.

Pero, como vimos en este trabajo, la diferencia entre los estilos de las especies típicas de *Bulbostylis* y de las especies de *Abildgaardia* y *Fimbristylis*, no se debe sólo a la permanencia o no sobre el fruto de su base engrosada, sino que comprende además el momento y el grado en que se desarrolla la porción distal del estilo. Por lo anterior, resulta preferible hablar de estilos tipo *Bulbostylis* vs. estilos tipo *Abildgaardia* y *Fimbristylis*, en lugar de limitar el carácter solo a las estilobases. De esta manera, en las especies de *Bulbostylis* típicas encontraríamos: estilo con elongación temprana durante el desarrollo, estilobase con dos articulaciones bien marcadas, mayormente esclerosada, usualmente bulbiforme, usualmente persistente en el fruto; mientras que en las especies de *Abildgaardia* y *Fimbristylis* observaríamos: estilo con elongación tardía durante el desarrollo, estilobase con una articulación (basal), esclerosada sólo en la base, usualmente piramidal-cónica, usualmente caediza en el fruto.

Estudios de la estructura y desarrollo de las estilobases del resto de los géneros de *Abildgaardieae* (y de *Arthrostylideae*) serían de utilidad para integrar estos resultados y mapear los caracteres “nº de articulaciones de la estilobase” y “duración de la estilobase”, una vez que se logre una filogenia más completa y apoyada del complejo

Abildgaardieae-Arthrostylideae, para poder hipotetizar acerca de la evolución de dichos caracteres dentro del grupo. Si luego de ampliar la filogenia de este grupo, el estado “persistente” sigue siendo basal, y el estado “caedizo” surge más de una vez, sería interesante dilucidar si la causa de la caducidad es siempre la misma o si serían diferentes mecanismos histológicos los que estarían interviniendo.