

1. Introducción



1.1 La familia Poaceae

La familia Poaceae (Gramíneas) constituye una de las cinco familias más ricas en especies dentro del reino vegetal y es, taxonómica y ecológicamente, uno de los grupos más importantes en el mundo (Clayton & Renvoize, 1986; *Grass Phylogeny Working Group* [GPWG], 2001). Reconocida como un “grupo natural” desde fines del siglo XX, esta familia incluye aproximadamente 10000 especies distribuidas en 700 géneros, cubriendo más de 1/5 de la superficie de la tierra (Tzvelev, 1989; Renvoize & Clayton, 1992; Watson & Dallwitz, 1992; Jacobs et al., 1999; GPWG, 2001). Las gramíneas han suscitado el interés del hombre desde tiempos antiguos, principalmente porque entre sus especies se hallan plantas alimenticias, forrajeras, de uso o aplicación industrial, ornamental y aún medicinal (Nicora & Rúgolo de Agrasar, 1987). Es importante mencionar también que muchas de las especies de la familia Poaceae son el componente principal de los pastizales naturales que existen en el mundo (Jacobs et al., 1999). Los pastizales naturales cubren una gran superficie de la Tierra y en muchos casos estos sistemas son utilizados por el hombre como áreas de pastoreo (de inmenso valor para la ganadería local por la producción de forraje la mayor parte del año) o de producción agrícola (Burkart, 1969; Sala & Paruelo, 1997). De hecho, numerosas especies de gramíneas han sido domesticadas y están siendo cultivadas ampliamente en todo el mundo. Entre ellas, se pueden citar las especies que constituyen el componente principal de la dieta de la humanidad, como por ejemplo la caña de azúcar y numerosos cereales (maíz, arroz, avena, trigo, cebada y centeno, entre otros).

Las gramíneas se distinguen del resto de las Angiospermas por características del fruto, embrión, polen y estructura de sus flores e inflorescencias (GPWG, 2001). El fruto es

una cariopsis que se caracteriza por ser uniseminado con el tegumento externo que se desarrolla fusionado a la pared interna del ovario. El embrión es lateral, pero a diferencia del resto de los embriones de las Monocotiledóneas, está altamente especializado dado que los meristemas del tallo y la raíz, las hojas y el sistema vascular están claramente diferenciados en esta etapa del desarrollo. El polen de las gramíneas se distingue por poseer un único poro. Uno de los aspectos más novedosos e interesantes de esta familia es la morfología de sus flores y con ello la aparición de las estructuras conocidas como espiguillas: la espiguilla típica de las gramíneas consta de un eje o raquilla que sostiene a una serie de brácteas de disposición alterna dística y a los verticilos florales (Fig.1A). Las dos brácteas basales son estériles y se las conoce con el nombre de glumas (gluma inferior y gluma superior, GL1 y GL2). Por arriba de las glumas se inserta una bráctea llamada lemma (L) y un órgano similar a un profilo conocido como pálea (Pa). Por encima de estos órganos se desarrollan dos o tres estructuras llamadas lodículas (Lo), las que intervienen en la antesis floral, tres o, menos frecuentemente, seis estambres (E) y los carpelos (C). Es evidente que los verticilos florales de las gramíneas se encuentran completamente modificados si los comparamos con el resto de las Dicotiledóneas y Monocotiledóneas que no son gramíneas, y esto ha derivado en numerosas interpretaciones sobre el origen de los mismos (Soreng & Davis, 1998; GPGW, 2001). La pálea es ampliamente reconocida como un profilo y ésta resulta ser una de las explicaciones más parsimoniosas sobre el origen de dicha estructura. Sin embargo, también existe evidencia suficiente de que la pálea podría formarse a partir de dos sépalos fusionados y que a su vez, la lemma tendría algunas similitudes genéticas con la pálea pudiendo constituir ambos los verticilos de protección (Soreng & Davis, 1998; Ambrose et al., 2000; GPGW, 2001). De la misma manera, el origen

de las lodículas es aún controversial, ya que han sido interpretadas como pétalos o estambres modificados, nectarios, brácteas, estípulas o estructuras derivadas de hojas o ramas modificadas (Irish, 1998; Schmidt & Ambrose, 1998; Ambrose et al., 2000; GPGW, 2001)¹.

Estas interpretaciones son aún menos claras cuando se intenta analizar la gran variación de morfologías de las espiguillas presente dentro de la familia. En las gramíneas las espiguillas pueden variar en el número, sentido de maduración y sexo de las flores y, en el número, textura y ornamentación de las brácteas.

En lo que se refiere a la disposición de las espiguillas, éstas se ubican sobre un amplio espectro de sistemas de ramificación de inflorescencias, las que han sido definidas clásicamente como “espigas de espiguillas”, “racimos de espiguillas” o “panojas de espiguillas” (Fig.1B). Cabe destacar que se puede encontrar un extenso rango de variación dentro de cada uno de estos tipos generales de inflorescencias.

La inflorescencia de las gramíneas es una estructura novedosa entre las Angiospermas y resulta ser compleja en su desarrollo, evolutivamente intrigante y agrónomicamente importante. La estructura de las mismas controla la polinización y la producción y dispersión de las semillas, en consecuencia es crucial en el proceso de selección natural y humana (Friedman & Harder, 2005; Malcomber et al., 2006). A su vez, numerosas delimitaciones taxonómicas de las gramíneas están basadas en caracteres de las inflorescencias.

¹ A lo largo de este trabajo se considerará a la flor de gramíneas como diclamídea, donde lemma y pálea son homólogos a los sépalos y las lodículas a los pétalos, de acuerdo con los últimos avances publicados (Schmidt & Ambrose, 1998; Ambrose et al., 2000; Yamaguchi et al., 2006; Whipple et al., en prensa).

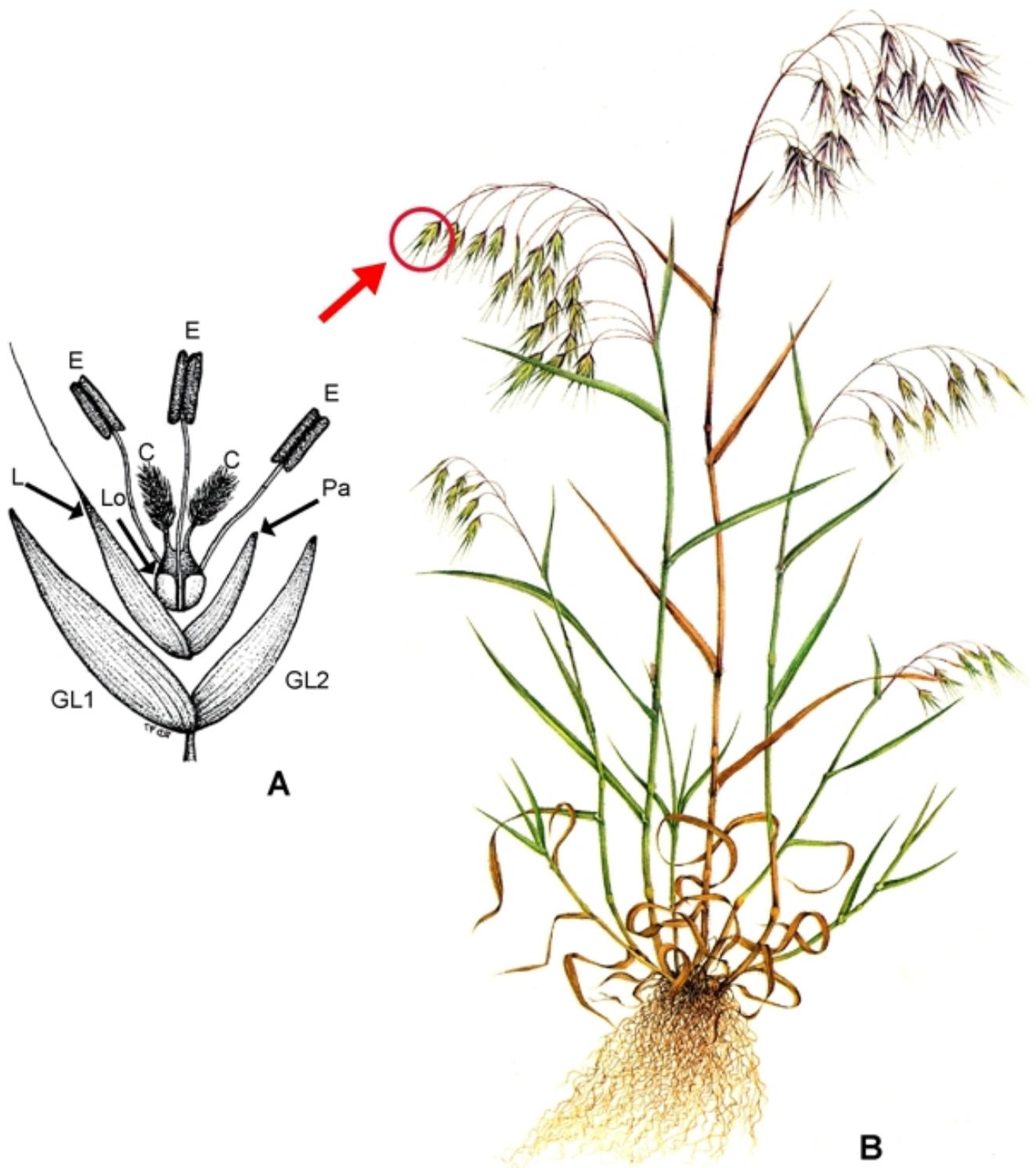


Figura 1.- Esquemas de la espiguilla e inflorescencia de gramíneas. A, dibujo esquemático de una espiguilla típica y uniflora de gramíneas; B, inflorescencia constituida por numerosas espiguillas. Referencias: GL1, gluma inferior; GL2, gluma superior; L, lemma; Pa, pálea; Lo, lodícula; E, estambre; C, carpelo.

La clasificación de las gramíneas ha sufrido numerosas reorganizaciones a lo largo del tiempo, fundamentalmente asociadas a los cambios en las metodologías empleadas para clasificar, las que surgen por la necesidad de obtener ordenamientos cada vez más informativos y que permitan una mejor descripción de la diversidad. Se pueden mencionar tres etapas principales en la historia de la clasificación de las gramíneas: (1) aquella en la que las clasificaciones eran intuitivas, que surgen a comienzos del siglo XIX y perduran hasta fines del siglo XX, (2) aquella en las que las clasificaciones están basadas en el método fenético (o taxonomía numérica), comenzando con los trabajos de Watson & Dallwitz (1992) y finalmente, (3) aquellas clasificaciones filogenéticas que son el resultado de la aplicación del método cladístico (el más utilizado en estos tiempos) donde Kellogg & Campbell (1987) realizan los primeros aportes para la familia Poaceae.

La taxonomía numérica y la cladística surgen casi paralelamente alrededor de los años 1950-1960 debido a la creciente preocupación entre los sistemáticos por la práctica intuitiva y poco precisa de la disciplina hasta ese momento (Crisci & López Armengol, 1983; Goloboff, 1998). La taxonomía numérica ha sido definida como la evaluación numérica de la afinidad o similitud entre unidades taxonómicas y el agrupamiento entre estas unidades en taxones (Crisci & López Armengol, 1983). Muchos de los procedimientos de la taxonomía numérica y sus justificaciones teóricas han sido objeto de críticas por parte de algunos taxónomos que sostenían que agrupar por similitud no siempre describe las relaciones evolutivas entre los organismos, si se considera que la hipótesis de evolución (genealogía) constituye la mejor explicación para la diversidad biológica. De ahí que casi al mismo tiempo comienza a gestarse un nuevo método que permitiría hacer hipótesis de genealogía (relaciones ancestro-descendientes) a partir de las

observaciones de las características actuales de los organismos. La formulación original del mencionado método, que se conoce con el nombre de cladística, suele atribuirse al entomólogo Willi Hennig, pero muchas de las ideas básicas fueron desarrolladas independientemente por varios investigadores incluso anteriores a Hennig (Goloboff, 1998). El interés de los sistemáticos en proponer clasificaciones genealógicas (= filogenéticas) radica en que la filogenia es la principal causa de las similitudes y diferencias entre organismos. Esto significa que, si dos especies cercanas comparten características similares, es más probable que esto se deba a haber heredado esas características de un ancestro en común, que a dos adquisiciones independientes de características idénticas (Goloboff, 1998). La cladística empezó a hacerse conocida en 1970, y en la actualidad constituye el método más usado por los sistemáticos.

Entre las primeras clasificaciones intuitivas de las Poaceae se pueden citar los trabajos de Brown (1810, 1814), donde la familia queda dividida en dos grandes grupos: las Paniceae (que actualmente es equivalente a la subfamilia Panicoideae) y las Poaceae (similar a la subfamilia Festucoideae propuesta por Hitchcock & Chase, 1950 o Pooideae en la actualidad). Esta división se realizó sobre la base de características morfológicas de las espiguillas (compresión, articulación y número de flores). Posteriormente, la clasificación propuesta por Brown (1810, 1814) de dividir a las gramíneas en dos grandes grupos fue establecida como nomenclaturalmente válida por Bentham (1878) y confirmada por Bentham & Hooker (1883) y Hackel (1887).

Durante el siglo XX nuevas clasificaciones sobre las gramíneas fueron propuestas a nivel de subfamilias. En esta etapa se producen numerosos adelantos en el conocimiento de la citología, embriología y anatomía foliar de las gramíneas. De esta manera una nueva

perspectiva sobre la evolución y la clasificación de las Poaceae surge con la incorporación, a los esquemas de clasificación, de caracteres citológicos (número y estructura de los cromosomas), relacionados a la morfología del embrión de gramíneas (Reeder, 1957, 1961, 1962) y anatomía foliar (Prat, 1932, 1960; Brown, 1958; Metcalfe, 1960). Todas estas clasificaciones y las que le siguieron durante el siglo XX (Stebbins & Crampton, 1961; Caro, 1982; Clayton & Renvoize, 1986; Tzvelev, 1989; Renvoize & Clayton, 1992) fueron intuitivas. Como resultado de la incorporación de estos nuevos caracteres, las gramíneas fueron divididas en 2 (Tzvelev, 1989) o hasta 13 subfamilias (Caro, 1982) aunque por lo general la mayoría de los autores dividieron a las Poaceae en 5 o 6 subfamilias (Prat, 1960; Clayton & Renvoize, 1986).

Watson & Dallwitz (1992) son los primeros autores en usar una gran cantidad de datos morfológicos y citológicos, en combinarlos entre sí y en analizarlos empleando el método fenético. Como resultado de estos estudios la familia Poaceae queda dividida en 5 subfamilias: Bambusoideae, Pooideae, Arundinoideae, Chloridoideae y Panicoideae. Siete años más tarde, estos autores generan una nueva clasificación incrementando el número de especies analizadas e incorporando nuevos caracteres exomorfológicos, anatómicos, citológicos y bioquímicos. De esta manera, sobre la base de análisis fenéticos, Watson & Dallwitz (1999) reconocen 2 subfamilias más, Stipoideae y Centothecoideae, a las 5 ya existentes.

Entre las primeras clasificaciones sobre las Poaceae empleando el método cladístico se puede mencionar el trabajo realizado por Kellogg & Campbell (1987) sobre la base de 33 caracteres morfológicos y considerando prácticamente representantes de todos los géneros de gramíneas reconocidos hasta ese momento. En este estudio las subfamilias

Pooideae (incluyendo Stipeae), Panicoideae, Chloridoideae y Bambusoideae son monofiléticas y Arundinoideae es polifilética. Además, en esta hipótesis filogenética, las Pooideae se muestran como la subfamilia basal de las gramíneas.

Posteriormente, gracias a los avances tecnológicos en la secuenciación de genes, fue posible obtener clasificaciones filogenéticas de la familia Poaceae mediante la incorporación de secuencias de genes de plástidos (ej. *rbcL*, *ndhF*, *matK*, *phyB*, *rpl16*, *rpoC2*, *rps4*) y del núcleo (ej. *ITS*, *waxy*). Esto último permitió establecer una nueva clasificación de las Poaceae sobre la base de caracteres derivados del genoma plástidico o nuclear sumados a los morfológicos (entre los últimos podemos citar los caracteres exomorfológicos de cañas, hojas, inflorescencias, espiguillas y fruto, como así también los derivados de los estudios de anatomía foliar y citología). En los comienzos de esta nueva etapa, las clasificaciones propuestas fueron realizadas sobre las secuencias de un único gen plástidico empleando un escaso número de representantes de la familia Poaceae (ej. Doebley et al., 1990) hasta los trabajos de Davis & Soreng (1993) en el cual se incrementa notablemente el número de especies estudiadas (31 taxa). De esta manera, comienzan a surgir nuevas clasificaciones en las que se intenta explorar la evolución de las gramíneas sobre la base de un mayor número de especies analizadas (ej. Nadot et al., 1994; Cummings et al., 1994; Clark et al., 1995; Duvall & Morton, 1996).

Los estudios de Soreng & Davis (1998) son los primeros en los que se logra combinar numerosos sitios de restricción del genoma plástidico con un importante número de caracteres principalmente recopilados de la lista propuesta por Watson & Dallwitz (1992). En este estudio se confirma la posición basal de Anomochlooideae y Pharoideae (previamente consideradas como tribus dentro de la subfamilia Bambusoideae

[Watson & Dallwitz, 1992]), la monofilia de las subfamilias Pooideae, Panicoideae, Centothecoideae y Chloroideae, y la polifilia de Arundinoideae. Del mismo modo, los árboles filogenéticos obtenidos en el trabajo de Hilu et al. (1999) presentan una topología que se asemeja a la presentada en los estudios realizados por Soreng & Davis (1998). La hipótesis filogenética propuesta por Hilu et al. (1999) se basó exclusivamente en secuencias del gen *matK* y en un amplio número de representantes de las diferentes subfamilias reconocidas hasta ese momento.

Fue recién en los comienzos del siglo XXI, cuando surgen las primeras hipótesis filogenéticas de las Poaceae sobre la base de secuencias de genes del genoma nuclear. Dentro de estos estudios se pueden citar los trabajos de Mathews et al. (2000) en los que se empleó el gen *phyB* (fitocromo B) o los trabajos de Hsiao et al. (1999) los que se realizaron en base al gen ITS (*Internal Transcribe Spacer*). Estos estudios resultan ser un complemento a los resultados obtenidos previamente (Davis & Soreng, 1993; Nadot et al., 1994; Cummings et al., 1994; Clark et al., 1995; Duvall & Morton, 1996; Soreng & Davis, 1998), dado que muestran mayor soporte en las relaciones filogenéticas entre las subfamilias que anteriormente fueron presentadas con una pobre resolución. De esta manera, se reafirman las relaciones entre las subfamilias Bambusoideae, Ehrhartoideae (Oryzoideae) y las Pooideae (*The BEP Clade*) y las subfamilias Panicoideae, Arundinoideae, Centothecoideae y Chloridoideae (*The PACC Clade*).

El trabajo presentado por Clark et al. (2000) constituye una de las primeras hipótesis filogenéticas que surge de la combinación de secuencias de genes de plástidos (*ndhF* y *rbcL*) con genes nucleares (*phyB*). A partir de estos resultados queda delimitada la nueva subfamilia Puelioideae, la cual presenta una posición basal cercana a

Anomochlooideae y Pharoideae. Resultados similares también fueron obtenidos en trabajos previos (Zhang, 1996) quedando confirmados por los estudios de Clark et al. (2000).

Finalmente, en el año 2001, el GPWG presentó una clasificación para la familia Poaceae basada en la combinación de 5 genes (*rbcL*, *ndhF*, *phyB*, *rpoC2* y *Waxy*) y datos morfológicos. Los resultados presentados por el GPWG presentan un alto soporte y constituye la clasificación filogenética más actual de las gramíneas.

En la filogenia presentada por el GPWG (2001), la familia Poaceae queda dividida en 12 subfamilias: 11 previamente consideradas por otros autores (Anomochlooideae, Pharoideae, Puelioideae, Bambusoideae, Ehrhartoideae, Pooideae, Aristidoideae, Arundinoideae, Chloridoideae, Centothecoideae, Panicoideae), a la que se añade la nueva subfamilia Danthonioideae. Esta hipótesis filogenética propone que los linajes que primero divergieron fueron Anomochlooideae, Pharoideae y Puelioideae, respectivamente. El resto de las gramíneas forman un clado monofilético, dentro del cual se reconocen numerosos grupos, entre ellos: las Bambusoideae sensu stricto (s.s.) + Ehrhartoideae + Pooideae (*The BEP Clade*), que forman un clado pobremente resuelto, mientras que las Aristidoideae + Danthonioideae + Arundinoideae s.s. + Chloridoideae sensu lato (s.l.) y Centothecoideae + Panicoideae forman un clado monofilético altamente soportado (*The PACCAD Clade*).

1.2 Subfamilia Panicoideae

La subfamilia Panicoideae Link comprende 3300 especies agrupadas en 206 géneros (GPWG, 2001). Esta subfamilia ha sido dividida en varias tribus (Andropogoneae, Arundinelleae, Hubbardieae, Isachneae, Paniceae y Steyermarkochloaeae) de las cuales las dos más amplias e importantes son las Paniceae, con más de 110 géneros, y las Andropogoneae con 85 géneros (Clayton & Renvoize, 1986; Watson & Dallwitz, 1992; Zuloaga et al., 2000).

1.3 Tribu Paniceae

La tribu Paniceae presenta una gran variación morfológica, anatómica y fisiológica. Investigaciones recientes sobre filogenia de Paniceae, basadas en caracteres morfológicos y moleculares (*trnL*, *trnF*, *rpoC2* y *ndhF*) (Gómez-Martínez & Culham, 2000; Zuloaga et al., 2000; Duvall et al., 2001; Giussani et al., 2001), muestran que las Paniceae se dividen en dos grandes clados: uno con número cromosómico básico $x = 10$, que incluye a todas las especies americanas y el restante con número cromosómico básico $x = 9$ que agrupa a todas las especies pantropicales analizadas (Fig.2).

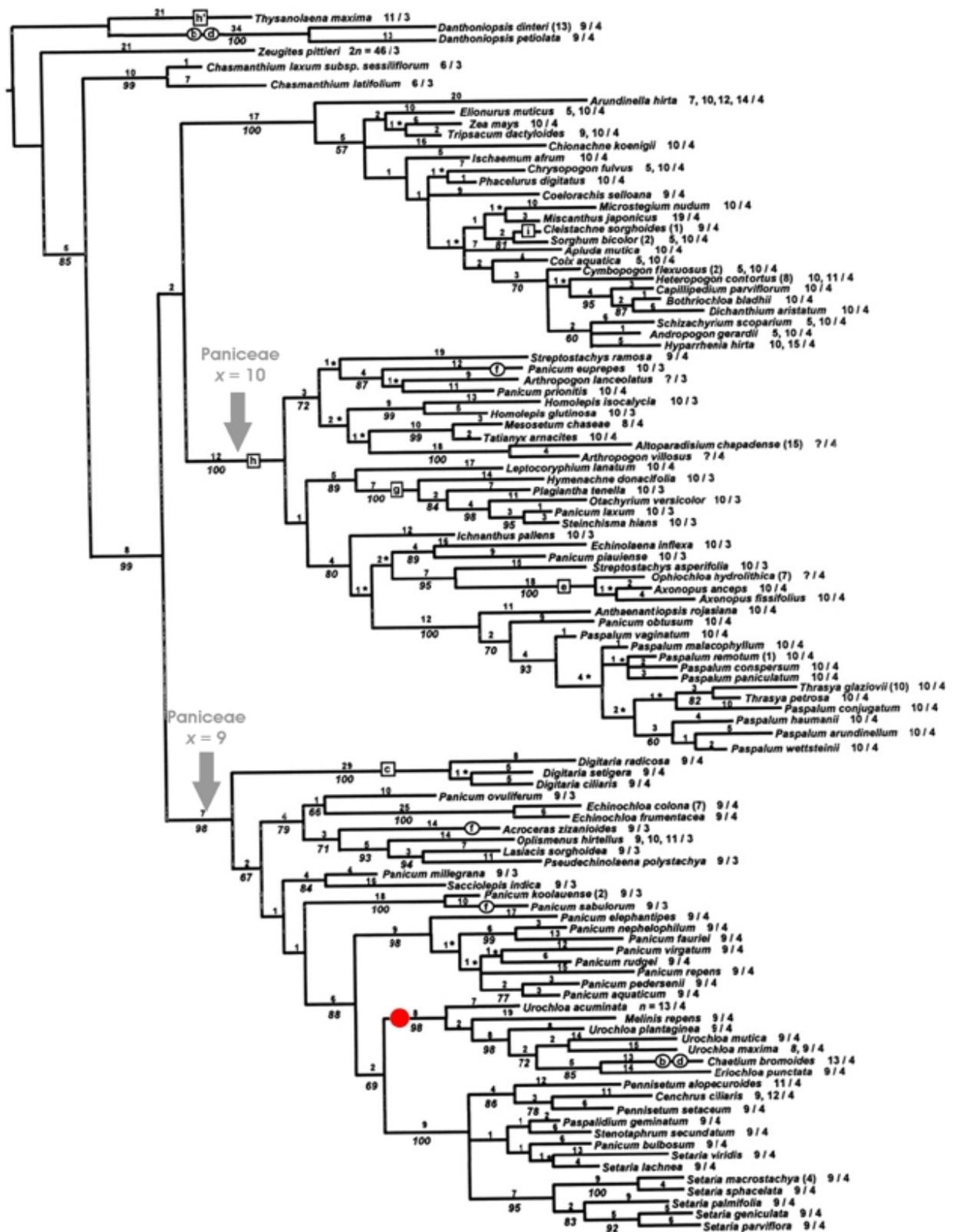


Figura 2.- Uno de los árboles más parsimoniosos obtenidos en los análisis filogenéticos propuestos por Giussani et al., (2001) para la subfamilia Panicoideae. El punto de color rojo indica la posición de *Brachiaria* y *Urochloa* en la filogenia de la Subfamilia Panicoideae y en particular dentro de la tribu Paniceae.

1.4 *Brachiaria* y *Urochloa*, su posición en la filogenia de las Paniceae y su relación con otros géneros

Brachiaria (Trin.) Griseb. y *Urochloa* P. Beauv. son dos géneros pertenecientes a la tribu Paniceae². Todas las filogenias realizadas coinciden en agrupar a ambos géneros dentro del clado de las Paniceae pantropicales ($x = 9$) (Gómez-Martínez & Culham, 2000; Zuloaga et al., 2000; Duvall et al., 2001; Giussani et al., 2001) (Fig. 2).

Frank (1998), siguiendo los lineamientos propuestos por Clayton & Renvoize (1986), consideró a los géneros *Eriochloa* Kunth, *Yvesia* A. Camus, *Thuarea* Pers. y *Eccoptocarpha* Launert y al género *Panicum* s.l. L. como grupos hermanos a *Brachiaria* y *Urochloa*. Utilizando caracteres morfológicos únicamente, este autor concluye que *Brachiaria* y *Urochloa* se encuentran formando un clado monofilético con *Eriochloa*, *Yvesia*, *Thuarea*, *Eccoptocarpha*. Los seis géneros incluyen plantas C₄ que comparten el subtipo anatómico foliar PS (anatomía foliar Kranz con dos vainas alrededor de los haces vasculares, la externa parenquimática con cloroplastos especializados y la interna mestomática con dos a tres células clorénquimáticas entre los haces vasculares contiguos, presencia de almidón en las células de la vaina Kranz, mesófilo radiado alrededor de los haces vasculares y disposición centrífuga de los cloroplastos, Morrone & Zuloaga, 1992), la orientación abaxial de la gluma inferior y la presencia de un mucrón en el antecio superior.

Al considerar las filogenias moleculares publicadas en los últimos años sobre la subfamilia Panicoideae y en particular sobre las Paniceae (Gómez-Martínez & Culham, 2000; Zuloaga et al., 2000; Duvall et al., 2001; Giussani et al., 2001; Aliscioni et al., 2003), se

² Si bien recientemente Veldkamp (2004) sugiere usar el nombre de *Moorochloa* para *Brachiaria*, aquí se sigue utilizando este último nombre para facilitar la lectura y análisis de relaciones con *Urochloa*.

observa que dentro del clado de las Paniceae pantropicales ($x = 9$), todas las especies incluidas en dichos análisis que son plantas C_4 con subtipo anatómico foliar PS y fisiología PEP-ck (*phosphoenol pyruvate carboxykinase*, PCK) formaban un clado monofilético denominado *The PCK clade* (Gómez-Martínez & Culham, 2000; Giussani et al., 2001). Este clado presenta un alto soporte en todas las hipótesis filogenéticas y se encuentra constituido por los géneros *Brachiaria*, *Chaetium* Nees, *Eriochloa*, *Panicum maximum* Jacq., *Melinis* P. Beauv. y *Urochloa* (Fig.2). Los géneros *Yvesia*, *Thuarea* y *Eccoptocarpha* no fueron incluidos en las hipótesis filogenéticas anteriormente mencionadas.

Recientemente, Torres González & Morton (2005) publicaron la primera hipótesis filogenética exclusiva para *Brachiaria* y *Urochloa*, utilizando secuencias del genoma nuclear de las regiones comprendidas entre ITS1 (*Internal Transcribed Spacer1*), 5.8S e ITS2 (*Internal Transcribed Spacer2*) y caracteres morfológicos referentes a las espiguillas. Los resultados de esta filogenia coinciden con las filogenias anteriormente mencionadas: los géneros *Brachiaria* y *Urochloa* se encuentran directamente relacionados con *Eriochloa* y *Melinis* en un clado monofilético. En el mencionado estudio, los cuatro géneros comparten numerosas sinapomorfías moleculares sobre la región ITS, y sólo una morfológica (la ornamentación de la lemma superior). En estos estudios *P. maximum* fue tratada como *U. maxima* y no se incluyeron los géneros *Chaetium*, *Yvesia*, *Thuarea* y *Eccoptocarpha*.

1.4.1. Características de los géneros afines y su relación con *Brachiaria* y *Urochloa*.

Thuarea es un género paleotropical representado por dos especies, *Thuarea perrieri* A. Camus que crece en Madagascar y *Thuarea involuta* (G. Forst.) R. Br. ex Sm, importante maleza que habita en Indomalasia, el norte de Australia y Nueva Guinea (Watson &

Dallwitz, 1992). *Thuarea* se distingue del resto de los géneros que integran el Clado PCK por sus características de inflorescencia (Watson & Dallwitz, 1992). Sus especies presentan una inflorescencia peculiar formada por un único racimo espiciforme, con flores masculinas en la región distal y flores femeninas en la parte proximal de la misma. Cuando las inflorescencias de este género son jóvenes se encuentran completamente cubiertas por una lámina espatácea de origen caulinar.

Yvesia también es un género paleotropical, representado por una única especie, *Y. madagascariensis* A. Camus, que crece en Madagascar. *Yvesia* se distingue del resto de los géneros del Clado PCK particularmente por presentar inflorescencias paucifloras compuestas por 3 a 5 racimos (Watson & Dallwitz, 1992).

Eccoptocarpha es un género monotípico, paleotropical, que crece en las sabanas de África tropical. *Eccoptocarpha obconiciventrifera* Launert se distingue del resto de los géneros que componen el Clado PCK por las características de su inflorescencia: la inflorescencia de *Eccoptocarpha* posee de 2-7 racimos distribuidos unilateralmente sobre el eje principal (Watson & Dallwitz, 1992).

Yvesia, *Thuarea* y *Eccoptocarpha* presentan un subtipo anatómico foliar PS, y fisiología PCK, al igual que la mayoría de las especies de *Brachiaria* y *Urochloa* (Watson & Dallwitz, 1992; Frank, 1998) y no hay registros sobre el número cromosómico de las especies que integran estos géneros.

Eriochloa es un género pantropical que comprende aproximadamente entre 25 y 30 especies (Clayton & Renvoize, 1986; Nicora & Rúgolo, 1987; Arriaga, 2000). Sus especies son anuales o perennes y crecen en regiones tropicales, subtropicales y templadas de ambos hemisferios. El número cromosómico básico del género es generalmente $x = 9$, y se

encuentran especies 4-6-8 ploides. *Eriochloa* posee el mismo subtipo anatómico PS y fisiológico PCK que *Brachiaria*, *Urochloa* y el resto de los géneros que integran el Clado PCK y se distingue de estos géneros por tener una estructura cupuliforme en la base de la espiguilla (Morrone & Zuloaga, 1992). Existen diferentes interpretaciones sobre el origen de la estructura cupuliforme antes mencionada (Shaw & Smeins, 1984; Davidse, 1987; Thompson et al., 1990; Arriaga, 2000). Por su anatomía, es muy probable que esta estructura cumpla funciones de atracción entomófila y dispersión de las semillas y no sea una formación derivada de la gluma inferior como ha sido interpretada previamente (Davidse, 1986; Thompson et al., 1990; Arriaga, 2000). Las especies de *Urochloa* se encuentran estrechamente relacionadas a *Eriochloa* por el tipo de inflorescencia así como por la textura y ornamentación del antecio superior, y se diferencian por la ausencia de estructura cupuliforme en la base de la espiguilla de *Urochloa* (Morrone & Zuloaga, 1992).

Panicum maximum es una especie africana, ampliamente cultivada como forrajera en las regiones tropicales y subtropicales del Viejo y Nuevo Mundo, volviéndose también una importante maleza (Simon & Jacobs, 2003). El número cromosómico básico registrado para esta especie varía entre $x = 8-9$ y son plantas C_4 con anatomía foliar PS y fisiología PCK (Giussani et al., 2001). Esta especie es la única de *Panicum* que pertenece al clado PCK, en el que aparece estrechamente relacionada a especies de *Urochloa* (Gómez-Martínez & Culham, 2000; Giussani et al., 2001; Aliscioni et al., 2003). *Panicum maximum* fue transferido al género *Urochloa* por Webster (1987), criterio seguido por otros autores más recientemente (Giussani et al., 2001; Aliscioni et al., 2003). Luego, Simon & Jacobs (2003) establecen el nuevo género monotípico *Megathyrsus* para ubicar a *U. maxima*, el que difiere principalmente de *Urochloa* por su panoja abierta similar a la del género *Panicum* a

diferencia de las inflorescencias de *Brachiaria* y *Urochloa* que son panojas condensadas en racimos de racimos. Si bien es evidente que *P. maximum* ya no pertenece al género *Panicum*, su posición taxonómica es aún incierta, dado que la monofilia de *Urochloa* no ha sido confirmada y no existe evidencia suficiente para transferir esta especie al género *Megathyrsus*. A lo largo de esta tesis, *P. maximum* será tratada como *Megathyrsus maximus* siguiendo los lineamientos propuestos por Simon & Jacobs (2003) hasta tanto quede confirmada la monofilia de *Urochloa*.

Melinis es un género paleotropical que abarca aproximadamente 12 especies anuales o perennes; 1-2 crecen en Sudamérica tropical y el oeste de India y 11 son tropicales creciendo en el Sur de África y Madagascar (Clayton & Renvoize, 1986; Nicora & Rúgolo de Agrasar, 1987; Zizka, 1988; Watson & Dallwitz, 1992). Son todas plantas C_4 , con anatomía foliar PS y fisiología PCK, algunas cultivadas como forrajeras (*M. minutiflora*) en África y otras son malezas en América tropical. El número cromosómico básico de este género es $x = 9$ (Giussani et al., 2001), y se distingue morfológicamente del resto de los géneros del Clado PCK por la presencia de la lemma proximal largamente aristada e inflorescencias laxas muy ramificadas (Nicora & Rúgolo de Agrasar, 1987).

Chaetium es un género exclusivamente americano con 3 especies de distribución neotropical, las que se encuentran desde México, América Central y Cuba, hasta el norte de América del Sur, en Colombia, Venezuela y noreste de Brasil (Morrone et al., 1998). Las tres especies son perennes, cespitosas y C_4 pero varían en el tipo anatómico foliar, siendo *C. bromoides* del tipo PS mientras que *C. cubanum* y *C. festucoides* son del tipo MS (una vaina completa alrededor de los haces vasculares, sin extensiones de la vaina, presencia de una vaina perifloemática completa y autoflorescencia de los cloroplastos diferente a los

de especies PS) reflejando tener fisiología NADP-me, a diferencia de la primera que parece tener una bioquímica PCK (Morrone et al., 1998).

1.4.2 Variación morfológica entre *Brachiaria*, *Urochloa* y los géneros afines. Dentro de la vía fotosintética C₄, en gramíneas existen tres mecanismos bioquímicos enzimáticos: NADP-malic enzyme (NADP-me), NAD-malic enzyme (NAD-me), y PEP carboxykinase (PEP-ck) (Ehleringer, 1993). Las especies NAD-me predominan en ambientes de extrema aridez, mientras que las especies NADP-me son frecuentes en ambientes más húmedos (Ehleringer, 1993). Asimismo, las especies del subtipo PEP-ck tienden a ser más abundantes en ambientes intermedios entre los dos subtipos anteriores (Hattersley, 1992; Ehleringer, 1993). El subtipo PEP-ck, de la vía fotosintética C₄, aparentemente surgió una única vez en la historia evolutiva de las Paniceae y de hecho todos los miembros de la tribu que poseen este tipo particular de fisiología han sido agrupados dentro del mismo clado (Gómez-Martínez & Culham, 2000; Zuloaga et al., 2000; Duvall et al., 2001; Giussani et al., 2001). Sin embargo, se halló una gran variación en el tipo anatómico foliar y bioquímico (Ogundipe & Olatunji, 1992) de numerosas especies de *Brachiaria* del oeste de África, no incluidas en los análisis filogenéticos comentados previamente. La mayoría de estas especies son plantas Kranz con anatomía foliar MS y fisiológicamente NADP-me y sólo unas pocas presentan anatomía foliar PS y fisiología PEP-ck (Ogundipe & Olatunji, 1992). Del mismo modo, dos de las especies de *Chaetium*, que no fueron incluidas en los análisis filogenéticos de Paniceae, parecen tener también un subtipo anatómico MS y una bioquímica NADP-me. La variación observada en los subtipos fotosintéticos entre las

especies que integran el Clado PCK posiblemente ha permitido a este grupo ocupar nuevos ambientes y ampliar su distribución.

A pesar de que la mayoría de las especies que integran el clado PCK poseen un número cromosómico básico $x = 9$, existen especies como *Chaetium bromoides* que posee un número cromosómico básico $x = 13$, *Megathyrsus maximus* con un número cromosómico básico que varía entre $x = 8-9$, y especies de *Urochloa* que muestran una variación en su número cromosómico básico, pudiendo ser $x = 6, 7, 8, 9$ ó 13 (Honfi et al., 1990; Morrone & Zuloaga, 1992; Giussani et al., 2001; Risso-Pascotto et al., 2006). Estas diferencias en los números cromosómicos básicos demuestran que los miembros del clado experimentaron un activo proceso de evolución cromosómica (Giussani et al., 2001).

Las inflorescencias, como así también los caracteres de espiguillas, presentan un amplio rango de variación entre los géneros que conforman el clado PCK. Las inflorescencias varían desde “panojas” amplias hasta inflorescencias muy simplificadas, de uno o pocos “racimos” unilaterales (Clayton & Renvoize, 1986; Nicora & Rúgolo de Agrasar, 1987; Frank, 1998). Las espiguillas varían en la orientación que presentan sobre los “racimos primarios”, el largo, ancho y número de nervios de las glumas, longitud y textura de las lemmas y páleas, ornamentación del antecio superior y en el sexo de sus flores (Clayton & Renvoize, 1986; Nicora & Rúgolo de Agrasar, 1987; Watson & Dallwitz, 1992).

1.5 *Brachiaria* y *Urochloa*

1.5.1 Delimitación taxonómica. *Brachiaria* y *Urochloa* son, en lo que se refiere a su delimitación genérica y especies que incluyen, géneros que han suscitado controversia en su taxonomía y evolución; esto ha llevado a su diferente tratamiento taxonómico a lo largo del tiempo (Palisot de Beauvois, 1812; Trinius, 1826; Nash, 1903; Stapf, 1920; Hughes, 1923; Henrard, 1941; Grisebach, 1853; Clayton & Renvoize, 1982; Webster, 1987, 1988; Davidse, 1993; Morrone & Zuloaga, 1991, 1992, 1993; Veldkamp, 1996a, 1996b, 2004; Frank, 1998; Nelson & Fernández, 1998; López-Ferrari & Espejo Serna, 2000; Giussani et al., 2001; Wunderlin & Hansen, 2001; Sharp & Simon, 2002; Zuloaga & Morrone, 2003; Torres González & Morton, 2005).

Siguiendo el concepto taxonómico tradicional de diversos tratamientos (Stapf, 1919; Pilger, 1940, 1954; Hitchcock, 1950; Jaques-Félix, 1962; Clayton & Renvoize, 1982) estos géneros originariamente estaban representados por pocas especies. *Brachiaria* (Trin.) Griseb. fue tratado como un género pantropical que incluía aproximadamente 100 especies, principalmente del Viejo Mundo, mientras que dentro de *Urochloa* se incluyeron unas 12 especies de distribución paleotropical (Clayton & Renvoize, 1982). Posteriormente, ambos géneros han sufrido diversas reorganizaciones taxonómicas, las que fueron detalladamente revisadas por Morrone & Zuloaga (1992, 1993) y Torres González & Morton (2005) y se mencionarán brevemente en esta tesis.

Trinius (1826) describe a *Brachiaria* como una sección dentro del género *Panicum* y posteriormente Grisebach (1853) elevó a *Brachiaria* al rango de género por las características de sus inflorescencias, siendo *B. eruciformis* la especie tipo para este nuevo género de Paniceae. A comienzos del siglo XX, Nash (1903) definió el género *Brachiaria*

por la ornamentación del antecio superior y la posición abaxial de las espiguillas. Chase (1911, 1920) consideró a *Brachiaria* como un género válido y lo distinguió dentro de la tribu Paniceae por poseer inflorescencias racemosas y espiguillas con la gluma inferior en posición abaxial al raquis, añadiendo a su vez, que todas las especies de *Brachiaria* poseen el antecio superior papiloso-rugoso. Stapf (1920) transfirió algunas de las especies de *Panicum* a *Brachiaria* por presentar el mismo tipo de inflorescencias antes descritas. Palisot de Beauvois (1812) propuso al género *Urochloa* dentro de la tribu Paniceae, con *U. panicoides* P. Beauv. como especie tipo.

Posteriormente, en numerosos estudios florísticos que fueron realizados entre los años 1920 y 2001, la tendencia fue reducir *Brachiaria* y transferir numerosas especies del género a *Urochloa*. Asimismo, Hughes (1923), Stapf (1920) y Henrard (1941) usaron los caracteres de espiguillas mucronadas o aristuladas y la disposición abaxial de las espiguillas para transferir especies de *Panicum* a *Urochloa*. Más recientemente, diversos autores (Webster, 1987, 1988; Morrone & Zuloaga, 1992, 1993; Torres González & Morton, 2005) discutieron la debilidad de los caracteres morfológicos usados para separar a *Brachiaria* de *Urochloa*. Estos autores plantean que la orientación de las espiguillas sólo se puede determinar en aquellas especies que tienen espiguillas solitarias sostenidas por pedicelos cortos y no se sostiene en aquellas especies que exhiben espiguillas apareadas y/o sostenidas por pedicelos largos. Asimismo, el carácter de espiguillas mucronadas o aristuladas tiene una continua variación en ambos géneros y no constituye un carácter que permita distinguir a los géneros *Brachiaria* de *Urochloa*. En relación con estas últimas características, Torres González & Morton (2005) concluyen que los caracteres de espiguillas son demasiado homoplásicos para ser considerados como caracteres que

contribuyan a delimitar taxonómicamente dichos géneros y que carecen de información filogenética.

Como consecuencia de nuevos caracteres analizados (ej. simetría de la inflorescencia, morfología de las ramas primarias de la inflorescencia, tipo de desarticulación de la espiguilla, orientación de la gluma inferior, entre otros), en estudios florísticos realizados en Vietnam (Nguyen, 1966), Australia (Webster, 1987), Norte América (Webster, 1988; Zuloaga & Morrone, 2003), Sudamérica, México y América Central (Morrone & Zuloaga, 1992, 1993) y en Malasia (Veldkamp, 1996, 2004) se transfirieron numerosas especies de *Brachiaria* a *Urochloa*. De la misma manera, otras especies que no fueron incluidas en estos estudios florísticos fueron transferidas a *Urochloa* (Davidse, 1993; López-Ferrari & Espejo Serna, 2000; Morrone & Zuloaga, 1991; Nelson & Fernández, 1998; Giussani et al., 2001; Wunderlin & Hansen, 2001; Torres González & Morton, 2005). Por el contrario, Sharp & Simon (2002) mantienen el nombre *Brachiaria* para todas las especies que crecen en Australia y que fueron transferidas por Webster (1987, 1988) al género *Urochloa* por presentar el mismo tipo de inflorescencias y desarticulación de la espiguilla por debajo de las glumas. Recientemente, Veldkamp (2004) transfirió las especies anuales de *Brachiaria* al nuevo género *Moorochloa* (*M. eruciformis* (Sm.) Veldkamp, *M. malacodes* (Mez & K. Schum.) Veldkamp y *M. schoenfelderi* (C.E. Hubb. & Schweick.) Veldkamp) siguiendo las sugerencias formuladas por el *Nomenclatural Committee for Spermatophyta* (Brummitt, 1998) que planteó la necesidad de crear un nuevo género para reemplazar a *Brachiaria*. Esta idea surge de comprobar que el lectotipo (especimen designado como tipo nomenclatural del material original) era *Brachiaria holosericea* (R. Br.) Hughes (en lugar de *B. eruciformis*), que posteriormente fue

transferida a *Urochloa* como *Urochloa holosericea* (R. Br.) R.D. Webster. Por lo tanto, el nombre *Brachiaria* ha pasado a ser un sinónimo de *Urochloa*, planteándose la necesidad de crear un nuevo género para albergar a *B. eruciformis* (= *Moorochloa eruciformis*) y especies afines. En esta tesis se seguirá manteniendo el nombre original de *Brachiaria* por ser el más conocido para las especies del tratamiento y se empleará la nomenclatura de *Brachiaria* s.s. para designar a aquellas especies anuales de *Brachiaria* que fueron recientemente transferidas a *Moorochloa*, incluyendo a *B. eruciformis*.

De todo lo expresado anteriormente, se hace evidente la débil delimitación taxonómica de los géneros *Brachiaria* (= *Moorochloa*) y *Urochloa* para la cual hasta el momento no hay acuerdo entre los autores anteriormente mencionados.

En el **Apéndice 1A** se mencionan las especies de *Brachiaria* y *Urochloa* que son reconocidas en el presente y la nomenclatura botánica que se seguirá a lo largo de este trabajo.

1.5.2 La filogenia de *Brachiaria* y *Urochloa*. La primera reconstrucción filogenética para *Brachiaria* y *Urochloa* fue el estudio realizado por Frank (1998). Este autor, empleando únicamente caracteres morfológicos en su análisis, determinó que *Brachiaria* y *Urochloa* son géneros parafiléticos y ambos se encuentran formando un clado monofilético junto con *Eriochloa*, *Yvesia*, *Thuarea* y *Eccoptocarpha*. Sin embargo, la resolución interna de este clado es muy baja (Frank, 1998) y de esta manera no se logran determinar con precisión las relaciones evolutivas entre los miembros del clado como así tampoco la delimitación taxonómica entre los géneros *Brachiaria* y *Urochloa*.

En la hipótesis propuesta por Torres González & Morton (2005), basada en secuencias de la región ITS del genoma nuclear, *Brachiaria* y *Urochloa* constituyen un complejo parafilético con *Eriochloa* y *Melinis*, y muestran a *B. eruciformis*, *U. decumbens* (Stapf) R.D. Webster, *U. subulifolia* (Mez) A.M. Torres & C.M. Morton y *M. repens* (Willd.) Zizka como especies basales del resto de las especies estudiadas. A partir de estos resultados Torres González & Morton (2005) transfirieron seis especies de *Brachiaria* al género *Urochloa* (**Apéndice 1A**) y sugirieron la incorporación de un mayor número de especies de *Brachiaria*, *Urochloa* y de los géneros afines a los efectos de lograr una comprensión más precisa de las relaciones evolutiva entre ellos.

Así, resulta claro que *Brachiaria* y *Urochloa* presentan diversos problemas taxonómicos y evolutivos para los cuales, hasta el momento, no se ha encontrado respuesta. Entre ellos, se pueden mencionar: (1) la ausencia de evidencias suficientes que apoyen la monofilia de *Urochloa* y *Brachiaria*, (2) las relaciones entre grupos hermanos afines a *Urochloa* y *Brachiaria* no están resueltas y persisten problemas en la posición taxonómica de varias especies de este grupo, como es el caso de *Megathyrsus maximus*, (3) la delimitación taxonómica de los géneros *Brachiaria* y *Urochloa* es imprecisa y ha variado a lo largo del tiempo y según los autores de los diferentes tratamientos y (4) se desconocen las relaciones filogenéticas entre las especies americanas y africanas de *Urochloa*.

1.5.3 Distribución e importancia económica de *Brachiaria* y *Urochloa*. *Brachiaria* y *Urochloa* comprenden en conjunto aproximadamente un total de 100 especies distribuidas por el Viejo y Nuevo Mundo, creciendo en un amplio rango de hábitat, desde semi-

desiertos hasta lugares pantanosos (Frank, 1998; Torres González & Morton, 2005). La mayoría habitan en África Tropical, aunque un buen número de ellas se encuentra en América y Asia y unas pocas en Europa, (**Apéndice 1B**) (Clayton & Renvoize, 1982, 1986; Watson & Dallwitz, 1992; Morrone & Zuloaga, 1992, 1993; Veldkamp, 1996a, 2004; Frank, 1998; Torres González & Morton, 2005). En América, *Brachiaria* se halla representada por una especie introducida, *B. eruciformis* (Smith) Griseb, mientras que *Urochloa* comprende 22 especies, 9 de ellas introducidas de África y Asia (Morrone & Zuloaga, 1992, 1993).

Muchas de las especies de *Brachiaria*, que actualmente fueron transferidas a *Urochloa*, son reconocidas como forrajeras o son empleadas como cultivos cerealeros no tradicionales. Entre ellas, *U. deflexa* (Shumach.) H. Scholz es cultivada en el oeste de África, mientras que *U. ramosa* se cultiva en el Sur de India (Torres González & Morton, 2005). Algunas especies africanas de *Urochloa* (*U. mutica* (Forssk.) T.Q. Nguyen, *U. brizantha* (Hochst. Ex A. Rich.) R.D. Webster, *U. decumbens*, *U. humidicola* (Rendle) Morrone & Zuloaga y *U. ruziziensis* (R. Germ. & Evrard) Crins) son especies forrajeras cultivadas en África y Australia y fueron introducidas en América como excelentes forrajeras (Frank, 1998), llegando a cultivarse muchas de ellas hasta el noreste de Argentina. Por el contrario, algunas de las especies de *Urochloa* (ej. *U. lorentziana* (Mez) Morrone & Zuloaga, *U. plantaginea* (Link) R.D. Webster y *U. platyphylla* (Munro ex C. Wright) R.D. Webster) son malezas de cultivos de verano como el arroz, maíz y soja, desde Texas hasta la Argentina (Nicora & Rúgolo de Agrasar, 1987; Morrone & Zuloaga, 1992, 1993; Frank, 1998).

1.5.4 Características de *Brachiaria* y *Urochloa*. De acuerdo con las últimas delimitaciones, los géneros *Brachiaria* y *Urochloa* han sido descritos de la siguiente manera:

Brachiaria comprende plantas anuales o perennes, cespitosas o rizomatosas, con cañas geniculadas, a veces decumbentes, arraigadas en los nudos inferiores o erguidas. Las hojas pueden ser glabras o pilosas, planas, lanceoladas o lineares. Las vainas son abiertas, las lígulas de base cortamente membranáceas y de ápice largamente pestañoso, y las láminas son lineares a lanceoladas, planas pilosas a glabras (Nicora & Rúgolo de Agrasar, 1987; Renvoize & Clayton, 1992; Watson & Dallwitz, 1992; Morrone & Zuloaga, 1992).

Urochloa incluye plantas anuales o perennes, cespitosas, rizomatosas o estoloníferas, con cañas geniculadas a decumbentes, arraigadas en los nudos basales, o erguidas, con entrenudos fistulosos. Las hojas presentan lámina plana, linear, linear-lanceolada, lanceolada o aovado-lanceolada, comúnmente pilosa. Las vainas son abiertas, pilosas, hendidas con aurículas excepcionalmente presentes, las lígulas son de base cortamente membranácea, luego largamente pestañosas (Nicora & Rúgolo de Agrasar, 1987; Renvoize & Clayton, 1992; Watson & Dallwitz, 1992; Morrone & Zuloaga, 1992, 1993).

Las especies de *Brachiaria* y *Urochloa* varían en subtipo anatómico foliar y fisiología, forma de vida, número cromosómico básico y sexo de la flor proximal. En el **Apéndice 1C** se resumen las características morfológicas de cada una de las especies.

Las descripciones de la inflorescencia de las especies de *Brachiaria* y *Urochloa* son muy escasas y poco precisas en la literatura (Frank, 1998; Morrone & Zuloaga, 1992, 1993; Torres González & Morton, 2005); los caracteres diagnósticos empleados para delimitar a

estos géneros fueron, en su mayoría, aquellos referentes a la morfología de las espiguillas pero que, sin embargo, han resultado ser poco informativos desde el punto de vista filogenético (Torres González & Morton, 2005). Morrone & Zuloaga (1992) resaltaron la importancia de algunos caracteres de inflorescencia para distinguir a las especies sudamericanas de *Brachiaria* y *Urochloa*, entre los que se destaca la simetría de las inflorescencias. Frank (1998) realizó un estudio tipológico de las inflorescencias de *Brachiaria* y *Urochloa* en el que se mencionan algunas tendencias evolutivas (ej. pérdida de estructuras distales o truncamiento y similitud u homogenización de ramas), pero principalmente sus estudios se centran en la orientación de la gluma inferior sobre el raquis y en las formas de crecimiento de las especies de estos géneros.

En general, las inflorescencias de *Brachiaria* han sido descritas como dorsiventrales, exertas, terminales y axilares, isomorfas, con ramificaciones racimosas dispuestas hacia un lado del eje principal, el que termina en una espiguilla desarrollada; las ramificaciones secundarias son racimosas (Morrone & Zuloaga, 1992; Watson & Dallwitz, 1992). A su vez, *Urochloa* se ha caracterizado por presentar inflorescencias bilaterales o radiadas, exertas o parcialmente incluidas en las vainas foliares, terminales y axilares, isomorfas, con ramificaciones de primer orden dístico-alternas o subopuestas, menos frecuentemente verticiladas y ramificaciones de segundo orden presentes o ausentes, terminando el eje principal en una espiguilla desarrollada o menos frecuentemente rudimentaria (Morrone & Zuloaga, 1992, 1993; Watson & Dallwitz, 1992). En *Urochloa* la orientación de las espiguillas es marcadamente variable, presentándose un tipo en las especies africanas y otro diferente en las americanas (Morrone & Zuloaga, 1992). Así, varios autores

consideran a las especies americanas dentro de los géneros *Brachiaria* y *Panicum*, mientras que *Urochloa* estaría conformado, de acuerdo a esta hipótesis, por las especies africanas.

1.5.5 Las inflorescencias de *Brachiaria*, *Urochloa* y los géneros afines. La inflorescencia de *Brachiaria*, *Urochloa*, y géneros más cercanos no ha sido estudiada en detalle hasta el momento, por lo que la comprensión que se tiene de la misma es escasa y únicamente basada en estructuras maduras.

Un aspecto relevante para destacar es la gran variación de formas de inflorescencias que se presentan entre *Brachiaria* y *Urochloa* y sus géneros emparentados (Fig.3). Las inflorescencias varían desde “panojas” similares a las del género *Panicum*, hasta inflorescencias simplificadas, de unos pocos racimos unilaterales, o que pueden estar reducidos a un único racimo como se presenta muchas veces en las inflorescencias de otros géneros de Paniceae, como *Thrasya* Kunth, *Mesosetum* Steud. y *Paspalum* L. (Clayton & Renvoize, 1986; Nicora & Rúgolo de Agrasar, 1987; Frank, 1998).

La diversidad de formas de inflorescencias en especies directamente emparentadas es el producto de intensas y diversas presiones selectivas que se dieron a lo largo de la historia de estos géneros y que afectaron principalmente los sistemas de ramificación que llevan las flores. De hecho, los caracteres derivados del estudio de la inflorescencia han sido empleados recientemente en numerosos trabajos, cuyos objetivos principales eran resolver las relaciones evolutivas y la delimitación taxonómica de diferentes grupos de gramíneas (Kellogg, 2000b; Doust & Kellogg, 2002a,b; Kellogg, et al., 2004; Doust & Drinnan, 2004; Bess et al., 2005; Liu. et al., 2005).

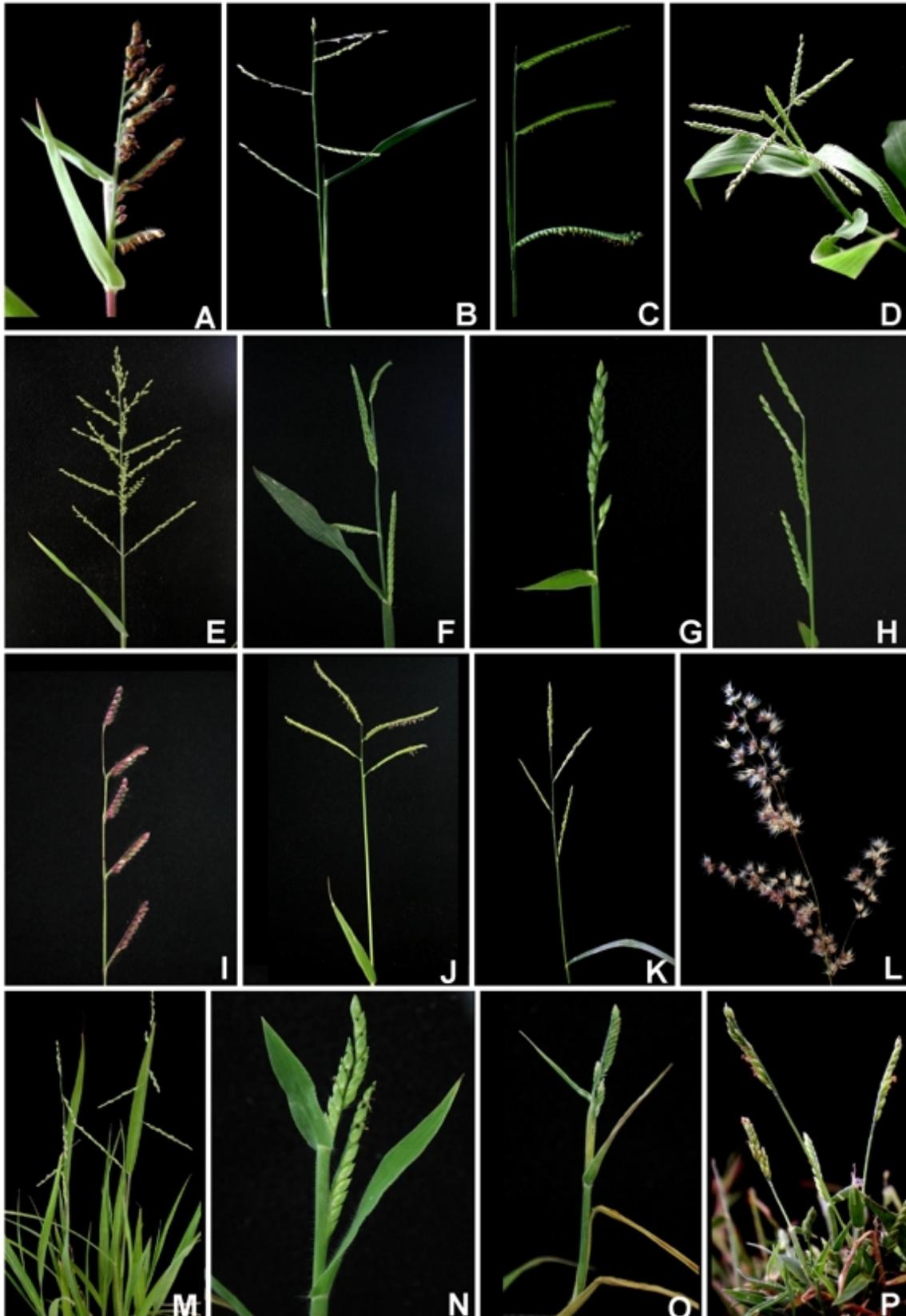


Figura 3.- Diversidad de formas de inflorescencias de *Brachiaria*, *Urochloa* y los géneros afines. A, *U. mollis*; B, *U. distachya*; C, *U. ruziziensis*; D, *U. lata*; E, *U. xantoleuca*; F, *U. plantaginea*; G, *U. paucispicata*; H, *U. platyphylla*; I, *U. jubata*; J, *U. mosambicensis*; K, *E. punctata*; L, *M. repens*; M, *U. leucacrantha*; N, *U. panicoides*; O, *U. lachnantha*; P, *B. eruciformis*.

En consecuencia, si se asume que la morfología de la inflorescencia refleja, al menos, parte de la historia evolutiva de *Brachiaria*, *Urochloa* y los grupos hermanos a ambos, una hipótesis a verificar sería que la evolución de los sistemas de ramificación de la inflorescencia constituye una de las claves para: (1) resolver las relaciones evolutivas entre los géneros, (2) encontrar una correlación entre la morfología y los resultados filogenéticos que se conocen hasta el momento y (3) mejorar la delimitación taxonómica de *Brachiaria* y *Urochloa* en función de los caracteres de inflorescencias.

Para verificar estas hipótesis es necesario contar con un conocimiento preciso de las diferentes morfologías de la inflorescencia y generar una nueva filogenia para estos géneros incluyendo los datos moleculares y la nueva información sobre la morfología de la inflorescencia de este grupo.

1.6 Estudios que permiten comprender la variación morfológica de las inflorescencias de *Brachiaria*, *Urochloa* y los géneros afines

Debido a la gran diversidad de formas de inflorescencias que presentan las Poaceae y en particular las Paniceae, se han presentado serias dificultades en la interpretación morfológica y evolutiva de las mismas (Allred, 1982; Gould & Shaw, 1983; Clayton & Renvoize, 1986). Es por ello que para lograr un completo entendimiento de las diferentes formas de inflorescencias se debe recurrir a tres niveles de estudio:

1.6.1 Estudio comparado de la variación morfológica de las inflorescencias adultas. El análisis tipológico (Troll, 1964, 1966, 1969; Cámara Hernández & Rúa, 1991; Cámara Hernández & Miente-Alzogaray, 1994; Rúa, 1999; Vegetti & Anton, 1995, 2000; Perreta &

Vegetti, 2005) puede resultar de suma utilidad para lograr una mayor precisión en los términos referidos a inflorescencias en la familia y esclarecer homologías estructurales.

Desde el punto de vista tipológico, la “inflorescencia” corresponde a la región del antotagma (Mora Osejo, 1987) o también llamada unidad de inflorescencia (Vegetti & Müller-Doblies, 2004). Sin embargo, definir los límites de la “inflorescencia” no es una tarea sencilla y ha dado lugar a numerosas discusiones (Weberling, 1965, 1989; Rua, 1999; Buzgo et al., 2004). En las primeras obras de Troll (1964) ya se plantea esta problemática y se propone el término sinflorescencia para dar una respuesta a esta dificultad. La sinflorescencia se define como el sistema de vástagos floríferos producidos a partir de la yema apical del eje embrionario o de yemas axilares (producción de innovaciones) en los años subsiguientes (Troll & Weberling, 1989). Es decir, que una planta anual posee una única sinflorescencia y una perenne desarrolla varias (Rua, 1999; Perreta & Vegetti, 2005). A partir de ello se toma a la sinflorescencia como la unidad de estudio en el análisis tipológico, lo que implica analizar el plan estructural de toda la planta y no solamente estudiar la “inflorescencia”.

Muchos de los estudios tipológicos fueron realizados en la tribu Andropogoneae. En las Paniceae se pueden citar contribuciones de: Anton (1983) y Giraldo-Cañas (2000) en *Axonopus* P. Beauv., Vegetti (1987), Rua & Weberling (1998) y Rua (1996) sobre inflorescencias de *Paspalum* L., Vegetti & Pensiero (1993), Reinheimer & Vegetti (2004), Reinheimer et al., (inédito) sobre inflorescencias de algunas secciones de *Panicum*, Rua (1993) sobre inflorescencias en *Paspalidium* Stapf., Rua & Boccaloni (1996) y Cámara Hernández (2001) sobre la inflorescencia de especies de *Digitaria* Haller., Vegetti &

Pensiero (1990) y Pensiero & Vegetti (2001) sobre inflorescencias de *Setaria* P. Beauv y Frank (1998) sobre algunas especies de *Brachiaria* y *Urochloa*.

En los últimos años, los estudios tipológicos han sido cuestionados, tomando en consideración que los análisis de inflorescencias maduras no son suficientes para comprender la diversidad morfológica de los vástagos al estado reproductivo (Kellogg, 2000a,b; Malcombers et al., 2006; Rua & Reinheimer, inédito). Para afrontar esta dificultad es necesario recurrir a los estudios de desarrollo de las inflorescencias.

1.6.2 Estudio de los patrones de desarrollo de las inflorescencias. Los diversos fenotipos de inflorescencias observados, a campo o en material herborizado, constituyen el resultado final de diferentes procesos de desarrollo. Es decir, que el tipo de desarrollo que siga la inflorescencia determinará el fenotipo final de la misma y por lo tanto, las diferencias entre los patrones de desarrollo son las responsables de la diversidad de formas observadas en estado adulto (Albert et al., 1998; Doust & Kellogg, 2002a,b). En consecuencia, los estudios de desarrollo deben ser análisis comparados en los que se intente identificar los diversos patrones de desarrollo y las diferencias existentes entre ellos. Al respecto, Doust & Kellogg (2002a,b) observaron que inflorescencias, que en estado adulto son similares morfológicamente, pueden desarrollarse a través de procesos muy diferentes, o que cambios mínimos durante el desarrollo dan origen a un considerable rango de variación en la morfología adulta de las inflorescencias.

Asimismo, se ha demostrado que los estudios de desarrollo de inflorescencias son una nueva fuente de caracteres que resultan ser de suma utilidad en la resolución de

análisis sistemáticos filogenéticos y taxonómicos (Albert et al., 1998; Kellogg, 2000b; Doust & Kellogg, 2002a,b; Doust & Drinnan, 2004; Kellogg et al., 2004; Bess et al., 2005).

Además del valor que tienen los estudios de desarrollo de inflorescencias para lograr un conocimiento completo de la morfología de los sistemas reproductivos y su contribución como nueva fuente de caracteres en los estudios sistemáticos filogenéticos, estos análisis son de suma utilidad a los efectos de impulsar el mejoramiento de cereales y forrajes, y contribuir con estudios en producción de semillas (Stür, 1986; Danckwerts & Tainton, 1993; Neil, 1993; Tainton et al., 1996; Sala & Paruelo, 1997).

Las investigaciones sobre desarrollo de inflorescencia, espiguilla y flor en Poaceae se han incrementado notablemente en los últimos años. La gran mayoría de dichos estudios refieren a Andropogoneae y pocos se han realizado sobre especies de Paniceae: Stür (1986) en *Brachiaria decumbens* Stapf [= *Urochloa decumbens*], Doust & Kellogg, (2002a,b) y Bess et al. (2005) en *Setaria*, *Pennisetum* A. Rich. y *Cenchrus* L y Kellogg et al. (2004) en *Ixophorus* (J. Presl) Schldl. Frank (1998) estudió el desarrollo temprano del sistema de ramificación de la inflorescencia de cuatro especies pertenecientes al complejo *Brachiaria-Urochloa*: *U. platyphylla*, *U. plantaginea*, *U. brizantha* y *U. ruziziensis*. Este autor observó diferencias en el sentido del desarrollo de las ramas primarias y en la dirección de diferenciación de las espiguillas, coincidiendo con los resultados hallados en *Urochloa decumbens* (Stür, 1986).

Por lo tanto, el conocimiento que existe sobre el desarrollo completo del sistema de ramificación de la inflorescencia es escaso y hasta el momento se carece de estudios comparados de los diversos patrones de desarrollo que dieron origen al amplio espectro de variedad de formas de inflorescencias de *Brachiaria*, *Urochloa* y géneros afines.

1.6.3 Estudios de genética del desarrollo (Evo-Devo). El desarrollo de cualquier órgano, tejido o célula de las plantas, animales y cualquier otro ser vivo, está coordinado por la interacción de numerosos genes (Kellogg, 2000a; Malcomber & Kellogg, 2004, 2005). Comprender las bases moleculares que determinan las variaciones en el desarrollo de los órganos vegetales es de fundamental importancia para comprender la evolución morfológica de las plantas.

Particularmente en plantas, es sabido que la gran diversidad de formas observadas en las Angiospermas presumiblemente es causada por diferencias en dónde, cuándo y cómo los genes se expresan (Theissen et al., 2000). Por lo tanto, los estudios de la evolución de la genética del desarrollo (lo que actualmente se denomina *Evo-Devo researches*) implican identificar genes cuyos patrones de expresión difieren entre los organismos (Kramer & Irish, 1999; Kim et al., 2003; Malcomber & Kellogg, 2004, 2005; Malcomber et al., 2006).

Como se menciona al comienzo de esta Introducción, las gramíneas presentan una marcada variación en la morfología de sus inflorescencias y espiguillas. Estudios recientes sobre la evolución de la genética del desarrollo, revelaron que la base molecular del desarrollo de las inflorescencias y espiguillas de gramíneas es muy complejo y difiere del modelo simple propuesto para *Arabidopsis Heynh.* (Malcomber & Kellogg, 2005; Zahn et al., 2005; Malcomber et al., 2006). Estas conclusiones se basan en la identificación de numerosos eventos de duplicación génica ocurridos en diferentes momentos históricos durante la aparición y diversificación de las Poaceae (Malcomber & Kellogg, 2005; Zahn et al., 2005; Malcomber et al., 2006).

En la actualidad, y a diferencia de lo que se asumía años atrás, se conoce que los fenómenos de duplicación génica traen aparejado diversificación de funciones para los genes duplicados: la función ancestral puede ser retenida por una sola copia o dividida entre las dos copias (subfuncionalización) y nuevas funciones pueden evolucionar en una o ambas copias (neofuncionalización) (Ohno, 1970; Force et al., 1999; Zahn et al., 2005; Malcomber et al., 2006). La adquisición de nuevas funciones es una de las vías para generar morfologías nuevas.

Como resultado de los diferentes eventos de duplicación génica en los comienzos de la evolución de las Poaceae, han surgido genes nuevos para esta familia de plantas que están involucrados en el desarrollo de las inflorescencias, espiguillas y flores y, para los cuales, se desconocen homólogos directos con los genes de *Arabidopsis* (ej. *BARREN SPIKELET1/LAX PANICLE*, *FRUITFULL*, *INDETERMINATE SPIKELET1*, *KNOTTED1*, *LEAFY HULL STERILE1*, y *RICE CENTRORADILIS1/2*) (Malcomber et al., 2006). Con este aumento en el número de genes en gramíneas, el patrón de relaciones entre los mismos durante el desarrollo se modifica, lo que refleja también una compleja evolución funcional (Malcomber et al., 2006).

A su vez, los genes que resultan ser exclusivos para las gramíneas también han sufrido repetidas duplicaciones a lo largo de la especiación de esta familia. Este fenómeno ha ocasionado que ortólogos (homólogos) de un mismo gen cumplan diferentes funciones durante el desarrollo de la inflorescencia, espiguilla o flor de los diferentes linajes o especies de las Poaceae (Malcomber & Kellogg, 2005; Zahn et al., 2005; Malcomber et al., 2006). Ejemplo claro de ello es la evolución de los genes *SEPALLATA* (*SEP*) (Malcomber & Kellogg, 2005; Zahn et al., 2005).

Los genes *SEP* pertenecen a la familia multigénica MADS-box integrada por genes que codifican para factores de transcripción que cumplen funciones esenciales en numerosos aspectos del desarrollo de las plantas. Estos genes parecen ser los responsables de generar diversidad de formas, especialmente modificando patrones de desarrollo floral (Becker & Theissen, 2003). El desarrollo floral está regulado por cinco clases de genes (A, B, C, D y E) que interactúan para dar identidad a los diferentes verticilos florales (Honma & Goto, 2001; Ditta et al., 2004). Los genes *SEP* pertenecen a la clase E y son los genes más recientemente caracterizados. Estos genes juegan un papel crítico en el desarrollo de todos los verticilos florales en *Arabidopsis* (Pelaz et al., 2000; Honma & Goto, 2001; Ditta et al., 2004) y en numerosas especies de Angiospermas (ej., *Gerbera*, Uimari et al., 2004; *Petunia*, Vandebussche et al., 2003; Poaceae, Malcomber & Kellogg, 2005).

El grupo de los genes *SEP* ha sufrido numerosas duplicaciones durante la especiación de las Poaceae. Como resultado de ello, estos genes se han diversificado ampliamente en las gramíneas (Nam et al., 2004; Münster et al., 2002; Malcomber & Kellogg, 2005; Zahn et al., 2005) y han evolucionado en sus funciones de acuerdo a los diferentes linajes. Esto último sugiere que los genes *SEP* no son funcionalmente homogéneos y podrían tener un papel central en la diversificación de las espiguillas de las gramíneas (Theissen, 2001; Malcomber & Kellogg, 2004). Esta hipótesis ha sido recientemente comprobada para el gen *LHS1*, que es exclusivo de las gramíneas y parece ser uno de los principales responsables de originar variación en la morfología de las espiguillas. A este gen se le adjudican numerosas funciones dependiendo de la especie de gramínea estudiada, pudiendo mencionarse entre ellas: la determinación del sexo de las flores, del número de flores por espiguilla y de la morfología de la lemma y la pálea

(Chung et al., 1994; Cacharon et al., 1999; Jeon et al., 2000; Prasad et al., 2001; Münster et al. 2002; Nam et al. 2004; Malcomber & Kellogg, 2005).

Por todo ello, los fenómenos de duplicación génica, seguidos de diversificación en las funciones que han experimentado las gramíneas, parecen ser los responsables directos de originar cambios en el desarrollo que generan variaciones morfológicas de sus inflorescencias, espiguillas y flores. Desde este punto de vista, los genes *SEP* resultan ser uno de los grupos de genes más importantes e interesantes para estudiar cuando se intenta comprender mejor la evolución de la morfología de las inflorescencias, espiguillas y flores de gramíneas.

En particular, el gen *LHS1* tendría un papel importante en la determinación de las morfologías de las espiguillas, especialmente en la expresión sexual de las flores que la integran y en la textura y ornamentación de la lemma y pálea de las espiguillas (Malcomber & Kellogg, 2004, 2005). Como se mencionó más arriba, los caracteres de espiguillas fueron usados sin éxito en los estudios taxonómicos y filogenéticos de *Brachiaria* y *Urochloa*, lo que demuestra que los caracteres morfológicos de espiguillas observados a campo o de material de herbario no son suficientes para comprender las morfologías diferentes observadas entre las especies. Esto puede tener su explicación en las bases moleculares del desarrollo de las espiguillas del grupo taxonómico en estudio.

Las especies de *Brachiaria* y *Urochloa* se diferencian en el sexo de la flor proximal, y en la morfología (textura y ornamentación) de la lemma y la pálea de la flor proximal con respecto a la flor distal. En consecuencia, el estudio sobre la genética del desarrollo de las espiguillas de *Brachiaria* y *Urochloa*, con especial énfasis en el gen *LHS1*, puede ayudar a comprender la evolución de la morfología de las espiguillas de estos géneros.

1.6.4 Hipótesis de trabajo. La información citada a lo largo de esta introducción indica que la diversidad morfológica de las inflorescencias de *Brachiaria*, *Urochloa* y sus géneros afines representa un sistema ideal para el estudio de la evolución de la morfología. Su estudio podría mejorar la comprensión de las relaciones evolutivas y la delimitación taxonómica de los géneros analizados. Este trabajo estudia desde una perspectiva tipológica, ontogénica y genética la morfología de las inflorescencias (incluyendo espiguillas y flores) de *Brachiaria*, *Urochloa* y sus géneros más cercanos. Asimismo, los caracteres surgidos del análisis anterior se utilizan para el estudio filogenético junto con la información molecular actualmente disponible. El conocimiento de los patrones de evolución de las inflorescencias pretende: (1) esclarecer la filogenia de *Brachiaria* y *Urochloa*, (2) delimitar con mayor precisión su taxonomía, (3) aclarar sus relaciones filogenéticas con los géneros más cercanos y (4) aportar información sobre las posibles causas que originaron la diversidad morfológica de las inflorescencias de estos géneros.