UNIVERSIDAD DE COSTA RICA

FACULTAD DE CIENCIAS

ESCUELA DE BIOLOGIA

Tesis para Optar por el Grado de Licenciatura en Biología con énfasis en Botánica

Comparación morfológica ultraestructural de las especies silvestres de arroz *Oryza*: Poaceae en Costa Rica

María Ethel Sánchez Chacón

Carné 752908

1999

Dedicatoria

Esta tesis está dedicada a:

Mi Padre Dios, grande e inseparable amigo, que me ha dado todo. Junto a El todo lo puedo.

A mis padres por su amor, comprensión, apoyo y por haber hecho de mí quien soy.

Al Dr. Francisco Hernández, compañero y amigo, quien creyó en mí, fue mi guía y algunas veces mi mano.

A mis compañeros y amigos de la Unidad de Microscopia Electrónica Maribelle, Jéssica, Oscar, Rafaél, Guillermo, Casilda, Enrique, Frank, por su solidaridad, apoyo y ayuda.

A mis grandes amigas María del Carmen Obando, Lisella Moreira, Maribelle Vargas., Odalisca Breedy, Jéssica Coto y a mi amigo José Bonilla.

"Esta tesis fue aceptada por la Comisión del Programa de Estudios de la Escuela de Biología de la Universidad de Costa Rica, como requisito parcial para optar por el grado de

Licenciatura en Biología con énfasis en Botánica"

Dra. Ana Mercedes Espinoza
DIRECTORA DE TESIS

Dra. Mayra Montiel
MIEMBRO DEL TRIBUNAL

Dr. Walter Marín
MIEMBRO DEL TRIBUNAL

Dra. Ana Victoria Lizano
MIEMBRO DEL TRIBUNAL

M.Sc. Hernán Camacho
DIRECTOR ESCUELA DE BIOLOGIA

María Ethel Sánchez Chacón
SUSTENTANTE

INDICE

	Página
Portada	i
Dedicatoria	ii
Hoja de aprobación	iii
Indice	iv
Resumen	vii
Lista de figuras	ix
Lista de cuadros	xi
Lista de abreviaturas	xii
Introducción	1
Objetivos	3
Objetivo general	3
Objetivos específicos	3
Materiales y Métodos	4
Procesamiento general para microscopia electrónica de barrido	5
Procesamiento del polen	6
Procesamiento de la cariópside	6
Método utilizado para medir las estructuras	6
Marco teórico	8
Taxonomía	8
Características del género *Oryza*	12
Raíz	12
Culmo	13
Hoja	13
Inflorescencia	15
Fruto	16

Descripción del arroz cultivado 17
Oryza sativa L 17
Variedad CR-5272 18

Especies silvestres de arroz 18
Oryza rufipogon Griff 18
Oryza *glumaepatula* Steud 19
Oryza latifolia Desv. 20
Oryza grandiglumis (Doell) Prod 21
Resultados 23
Ultraestructura de la lámina foliar, aurículas, lígula, espiguilla y cariópside de las escies del género *Oryza*. 23
Oryza sativa L. var. CR-5272 23
Oryza latifolia Desv (Cañas) 25
Oryza latifolia Desv (Carara) 28
Oryza latifolia Desv (Pelón) 29
Oryza rufipogon Griff 30
Oryza glumaepatula Steud 32
Oryza grandiglumis (Doell) Prod 34
Figuras 51
Discusión 41
Conclusiones y recomendaciones 49
Literatura citada 94
Anexos 100
Anexo 1. Clave de tricomas para la identificación de las especies de *Oryza* de Costa Rica. 101
Anexo 2. Clave de la lígula para identificar las especies de *Oryza* de Costa Rica. 102
Anexo 3. Clave de la espiguilla para identificar las especies de *Oryza* de Costa Rica. 103

Anexo 4. Clave sinóptica para identificar las especies de *Oryza* de Costa Rica. 104

Anexo 5. Comparación ultraestructural de las cariópsides de *O. grandiglumis* de Costa Rica y Brasil y *O. alta* de Brasil y Surinan. 108

Fig. 1. Cariópside de *O. alta* proveniente de Surinan 109

Fig. 2. Cariópside de *O. alta* proveniente de Brasil 110

Fig. 3. Cariópside de *O. grandiglumis* proveniente de Costa Rica. 111

Fig. 4. Cariópside de *O. grandiglumis* de Costa Rica 112

Fig. 5. Cariópside de *O. grandiglumis* de Brasil 113

Fig. 6. Cariópside de *O. grandiglumis* de Brasil 114

RESUMEN

El arroz es uno de los componentes de mayor importancia en la dieta mundial y see ha utilizado exclusivamente como alimento para humanos constituyendo del 25 al 50 % de la dieta diaria de unos 2000 millones de personas.

El arroz pertenece a la familia Poaceae y al género *Oryza*, dos especies se cultivan para consumo humano *O. sativa* y *O. glaberrima* y hay alrededor de 20 especies silvestres, cuatro de ellas endémicas de América.

En Costa Rica existen varias especies silvestres del género *Oryza,* que por sus características de resistencia a enfermedades, plagas y estrés, se podrían usar como fuente de genes para transferir al arroz comercial mediante cruzamientos interespecíficos, rescate de embriones o mediante ingeniería genética.

Las especies silvestres pueden clasificarse usando rasgos anatómicos macroscópicos como tamaño de la lámina foliar, la lígula, las aurículas, espiguillas y la cariópside. Sin embargo estas características son muy variables y algunas también se presentan en especies silvestres asiáticas y africanas que posiblemente se introdujeron con el arroz cultivado. Por lo tanto, se requiere una descripción morfológica ultraestructural más precisa para cada especie.

Se utilizó la microscopia electrónica de barrido para analizar muestras de la lámina foliar, aurículas, lígula, espiguilla y cariópside de plantas silvestres de arroz y una variedad comercial. Las estructuras anteriores se compararon con especímenes clasificados taxonómicamente por el IRRI. Las características morfológicas diagnósticas para *O. sativa* var. CR 5272 son los tricomas atenuados de la lámina foliar, una hilera de tricomas espinosos alargados en el borde de la lámina, la espiguilla carece de arista y tiene espinas muy pequeñas y escasas y

las lemas estériles son lanceoladas de bordes irregulares. Para *O. latifolia*, la presencia de hileras de tricomas espinosos abultados en el borde de la lámina foliar, la vena central sin o con muy pocas papilas. El ecotipo Cañas tiene las aurículas rectangulares, mientras los otros dos ecotipos Carara y Pelón las presentan envolventes. El ecotipo Carara tiene la lígula cónica y en los otros dos es de forma truncada. Para *O. rufipogon* abundantes tricomas espinosos hirsutos en la lámina foliar y estomas desnudos de 30 μm de largo, en el borde de la lámina. En *O. glumaepatula* una hilera de tricomas abultados en el borde de la lámina foliar, y tricomas hirsutos poco abundantes en la lámina y tiene tricomas bicelulares muy pequeños en la superficie de las aurículas. En *O. grandiglumis* un patrón cuticular más denso, espinas entre la raquilla y las lemas fértiles, las lemas estériles lanceoladas, delgadas y dentadas y cubren alrededor de un 70% de la superficie de las lemas fértiles, el borde de la lámina foliar tiene tres hileras de tricomas espinosos largos y tricomas espinosos abultados de varios tamaños, además presenta pocas hileras de tricomas muy pequeños abultados e hirsutos.

Las especies pudieron colocarse en dos grupos, de acuerdo a las características ultraestructurales que comparten, un grupo lo constituyen las especies diploides y de genoma AA, *O. sativa* var. CR. 5272, *O. rufipogon* y *O. glumaepatula* que comparten ls siguientes características: presencia de tricomas hirsutos, la forma de la lígula que es aguda y bífida y sin tricomas en el extremo distal y las aurículas son rizoides. El otro grupo lo forman las especies tetraploides y de genoma CCDD *O. latifolia* y *O. grandiglumis,* que presentan aurículas envolventes, la lígula es corta y truncada y las lemas estériles son lanceoladas, finas y dentadas.

La estructura morfológica más importante para la clasificación de las especies son los tricomas. *O. rufipogon* y *O. glumaepatula* son las especies más similares. En Costa Rica están presentes las especies silvestres *Oryza rufipogon*, *Oryza glumaepatula*, *Oryza latifolia* y *Oryza grandiglumis*.

LISTA DE FIGURAS

FIGURA		Página
1.	Micrografías de la epidermis adaxial de la lámina foliar de *O. sativa* var CR-5272.	52
2.	Micrografías de la zona abaxial de la lámina foliar, la lígula y aurículas de *O. sativa* var CR-5272.	54
3.	Micrografías de la espiguilla de *O. sativa* var CR-5272.	56
4.	Micrografía de la cariópside de *O. sativa* var CR-5272.	58
5.	Micrografías de la zona adaxial de la lámina foliar de *O. latifolia* (Cañas).	60
6.	Micrografías de la zona abaxial de la lámina foliar, las aurículas y la lígula de *O. latifolia* (Cañas).	62
7.	Micrografías de la espiguilla de *O. latifolia* (Cañas) y de la zona adaxial de la lámina foliar de *O. latifolia* (Carara).	64
8.	Micrografías de la zona abaxial de la lámina foliar, las aurículas, la lígula y la cariópside de *O. latifolia* (Carara).	66
9.	Micrografías del ovario y estigmas de *O. latifolia* (Carara) y la superficie adaxial y abaxial de la lámina foliar y la lígula de *O. latifolia* (Pelón).	68
10.	Micrografías de la lígula, las aurículas y la espiguilla	70

de *O. latifolia* (Pelón).

11. Micrografías que muestran el detalle de las zonas adaxial y abaxial de la lámina foliar de *O. rufipogon*. 72

12. Micrografías de las zonas abaxial de la lámina foliar, las aurículas, la lígula y la espiguilla de *O. rufipogon*. 74

13. Micrografías de la espiguilla de *O. rufipogon*. 76

14. Micrografías de las lemas y cariópside de *O. rufipogon*. 78

15. Micrografías de las superficies de la lámina foliar de *O. glumaepatula*. 80

16. Micrografías de las aurículas, la lígula y la antera de *O. glumaepatula*. 82

17. Micrografías de la espiguilla de *O. glumaepatula*. 84

18. Micrografías de las superficies de la lámina foliar de *O. grandiglumis*. 86

19. Micrografías de la lígula, las aurículas y las espiguillas de *O. grandiglumis*. 88

20. Micrografías de la espiguilla de *O.grandiglumis*. 90

21. Micrografías de las anteras, del grano de polen y de la espiguilla de *O. grandiglumis* de Brasil y la cariópside de *O. grandiglumis* de Costa Rica. 92

LISTA DE CUADROS

CUADRO		Página
1.	Clasificación por complejos de las especies del género *Oryza*: sinonímia, genoma, uso potencial y distribución.	9
2.	Comparación de las aurículas de las especies costarricenses del género *Oryza*: forma, tamaño y tricomas.	38
3.	Comparación de las lígulas de las especies costarricenses del género *Oryza*: forma, tamaño y tricomas.	39
4.	Comparación de la morfología de la espiguilla de las especies costarricenses del género *Oryza*.	40

LISTA DE ABREVIATURAS

Antera: an

Apículo: ap

Aproximadamente: *ca.*

Arista: ar

Aurículas: a

Célula oclusiva: co

Células alargadas: ca

Células de sílice: cs

Células subsidiarias: csu

Embrión: em

Espinas: esp

Estigma plumoso: ep

Estilo: et

Estoma: e

Exina: ex

Filamentos: f

Glumas rudimentarias: gr

Grano de arroz: ga

Grano de polen: gp

Lámina foliar: lfo

Lema: lm

Lema estéril: le

Lema fértil: lf

Lígula: l

Lóbulos: lb

Ojo: oj

Ovario: o

Pálea: p

Papila alargada: pa

Papila bilobulada: pb

Papila en forma de lápida: plap

Papila esferoide: pe

Papila globular grande: pgg

Papila lignificada: pl

Papila tetralobulada: pte

Papila trilobulada: pt

Papilas de los estigmas plumosos: pap

Patrón de cera: pc

Pedicelo: pd

Poro del polen: pp

Poro estomático: pest

Raquilla: r

Tricoma atenuado: ta

Tricoma bicelular: tb

Tricoma espinoso abultado: teab

Tricoma espinoso alargado: tea

Tricoma espinoso pequeño: tp

Tricoma espinoso: te

Tricoma ganchudo: tg

Tricoma hirsuto: th

Vena central: vc

INTRODUCCION

El arroz (*Oryza sativa* L) es uno de los componentes de mayor importancia en la dieta mundial. Se ha utilizado exclusivamente como alimento para humanos y constituye del 25 al 50 % de la dieta diaria de unos 2000 millones de personas (Ronald 1997). Se ha cultivado en la India y China desde hace unos 5000 años (Swaminathan 1986).

En América se cultiva la subespecie *indica* de *Oryza sativa* y tiene un genoma diploide AA (León 1987). En 1993, en América Latina se cultivó aproximadamente 7.5 millones de Ha, con una producción anual de 20 millones de toneladas métricas de arroz, que casi en su totalidad se consumió internamente (IICA 1993, Sanint 1996). En Costa Rica, en 1998 se cultivó 44.000 Ha de terreno y la producción se consumió internamente (I Congreso Arrocero Nacional 1998).

En algunos países de América Latina, muchas veces la demanda de arroz excede la producción (Herrera & Jiménez 1992); sin embargo, en ocaciones hay pérdidas importantes por falta de una óptima preparación del terreno, manejo del cultivo o por plagas y enfermedades, por lo tanto, la producción de nuevas variedades resistentes y de mayor potencial debe aumentar cada día.

El arroz pertenece a la familia Poaceae y al género *Oryza*. Tiene una distribución mundial, desde los 50 ° de latitud norte hasta los 40 ° de latitud sur y desde el nivel del mar hasta los 3000 m de altura (León 1987). Fue originalmente cultivado en el trópico húmedo como planta semi-acúatica , pero luego se adaptó a condiciones de zonas áridas hasta zonas frías. Dos especies se cultivan para consumo humano, *O. sativa* y *O. glaberrima* y hay alrededor de 20 especies silvestres, cuatro de ellas endémicas de América (Morishima & Martins 1993).

Las dos especies cultivadas *O. sativa* y *O.glaberrima*, se domesticaron a partir de sus respectivos progenitores silvestres, *O. rufipogon* en Asia (forma asiática *de O. perennis*) y *O. barthii* (*O. breviligulata*) en Africa (Morishima 1994).

En América Central y Sur América se conocen cuatro especies silvestres de *Oryza*, una diploide y tres tetraploides. El taxón americano diploide, el cual comparte el genoma AA con las especies cultivadas es la especie silvestre *O. glumaepatula* (Akimoto 1998). Las tres especies tetraploides son *O. latifolia, O. alta* y *O. grandiglumis* y tienen un genoma CCDD (Kihara 1963, citado por Vaughan 1989). Se distribuyen desde Mesoamérica hasta Brasil y Paraguay y las Islas del Caribe (Pohl 1980).

Algunas de las especies silvestres son resistentes a muchas de las enfermedades y plagas que afectan el arroz cultivado; otras se han adaptado a suelos con altas concentraciones de salinidad (Zamora *et al.* 1999). Estas características serían ideales en el arroz cultivado, por lo tanto esas especies silvestres representan un banco de genes útiles para el mejoramiento de *O. sativa*, y la incorporación de algunos de esos genes aumentaría la producción, le conferiría resistencia a muchas de las enfermedades y plagas y permitiría el cultivo de arroz en áreas donde actualmente no es posible cultivarlo.

La transferencia de estos genes puede realizarse mediante técnicas de cruzamiento y rescate de embriones o utilizando la ingeniería genética (Jena *et al.* 1991), para esto es necesario realizar una caracterización morfológica y molecular de las especies silvestres para determinar cuales son las estructuras morfológicas de valor taxonómico que nos permitan distinguir las diferentes especies del género *Oryza* y poder describir la variación entre y dentro de las mismas, además se podrá determinar la diversidad génetica de las especies presentes en Costa Rica.

OBJETIVOS

Objetivo general

El objetivo de este trabajo es clasificar, describir y comparar la ultraestructura de la lámina foliar, lígula, aurículas, inflorescencia y cariópside de *O. sativa* (variedad CR-5272), *O. latifolia, O. rufipogon, O.glumaepatula* y *O. grandiglumis*.

Con esto se pretende determinar cuáles caracteres ultraestructurales tienen valor taxonómico para la identificación de las especies silvestres del género *Oryza* de Costa Rica y a su vez poder distinguirlas de otras especies que contaminan el arroz cultivado.

Objetivos específicos

1. Describir la ultraestructura de las especies indicadas en el estudio.
2. Realizar el análisis morfométrico de las especies citadas.
3. Efectuar una comparación entre las especies estudiadas.
4. Determinar cuales características tienen valor taxonómico.
5. Confeccionar una clave dicotómica para identificar las especies.

MATERIALES Y METODOS

Para la descripción ultraestructural se estudiaron cinco especies de arroz: cuatro especies silvestres, de las cuales tres son endémicas de América (*O. latifolia, O. glumaepatula* y *O. grandiglumis*) y una especie introducida de Asia (*O. rufipogon*); y una variedad comercial de *O. sativa* denominada CR- 5272.

Se estudiaron tres ecotipos de *O. latifolia:* Cañas, Carara y Pelón. El ecotipo Cañas , se colectó en la reserva biológica de Palo Verde, cantón de Cañas, provincia de Guanacaste. El ecotipo Carara se colectó en la reserva biológica Carara, cantón de Orotina, provincia de Alajuela y el ecotipo Pelón, del cantón de Miramar, provincia de Puntarenas. *O. grandiglumis*, en la reserva biológica de Caño Negro, cantón de San Carlos, provincia de Alajuela. *O. glumaepatula*, en las orillas del río Medio Queso, en el cantón de Los Chiles, provincia de Alajuela. *O. rufipogon*, en el cantón de Parrita, provincia de Puntarenas. La variedad comercial *O. sativa* var. CR-5272, se tomó del invernadero del Centro de Investigación en Biología Celular y Molecular (CIBCM), Universidad de Costa Rica, Sabanilla de Montes de Oca, provincia de San José.

Las muestras fueron colectadas por miembros del grupo de Biotecnología del Arroz, del Centro de Investigación en Biología Celular y Molecular, de la Universidad de Costa Rica, durante la época lluviosa, a excepción de *O. glumaepatula* que florece de diciembre a enero.

Las especies silvestres fueron identificadas por Alejandro Zamora y Mayra Montiel (especialista en taxonomía de gramíneas) , también se compararon con especies del género *Oryza,* en los herbarios de la Escuela de Biología de la Universidad de Costa Rica y del Museo Nacional. De estas mismas se colectaron semillas que fueron cultivadas en el invernadero del CIBCM. También se

cultivaron semillas provenientes del banco de germoplasma del Instituto de Investigación en Arroz, IRRI (Filipinas) y semillas de *O. glumaepatula y O. grandiglumis* enviadas de Brasil, por M. Akimoto.

Las plantas cultivadas en invernadero fueron utilizadas para la comparación de las especies silvestres colectadas en Costa Rica, utilizándose un microscopio electrónico de barrido modelo S-2360N, con el que se pueden observar muestras sin procesamiento.

El material analizado al microscopio electrónico fue: lámina foliar (zona adaxial y abaxial), lígula, aurículas, espiguillas, granos de polen y la cariópside.

Las muestras de lígula y aurículas fueron tomadas de la parte basal, media y distal de las plantas de arroz de las especies estudiadas. De igual forma se procedió para la lámina foliar, pero para éstas se tomó muestra de la zona basal, media y distal de la lámina. Las espiguillas se colectaron de la base, parte media y apical de la panícula.

Procesamiento general para microscopia electrónica de barrido

Las muestras de lámina foliar, aurículas, lígula e inflorescencias que se analizaron fueron sometidas a una fijación de 24 horas a 4° C en una solución de glutaraldehido al 2.5% y paraformaldehido al 2% en amortiguador de fosfato de sodio 0.1M pH 7.4 (Karnovsky 1965), se sometieron a tres lavados de 20 min con el amortiguador. Se post-fijaron por 2 horas con tetraóxido de osmio al 1% en el amortiguador de fosfato de sodio; seguidamente se realizaron cinco lavados con el amortiguador y se deshidrató en un gradiente ascendente de alcohol etílico (30°, 50°, 70°, 80°, 90°, 95°, 100°,100°), los cambios en los alcoholes de 30° a 95° se hicieron por un período de 20 min y los de 100° por 30 min cada uno. Se continuó realizando 4 lavados con alcohol terbutílico, de 30 min cada uno, se secó por sublimación (sublimador Eiko ID-2). Las muestras se montaron con cinta

adhesiva de doble cara sobre bases de aluminio y se cubrieron con 20 nm de platino, utilizando un cobertor iónico (modelo Eiko IB-5). Se observaron con un microscopio electrónico de barrido (modelo Hitachi S-570), con un voltaje de aceleración de 15 Kv y a una distancia de trabajo entre 15 y 30 mm. La toma de la fotografías se realizó en película Kodak Verichrome Pan, ASA 100, a aumentos que variaron de 22 a 5000X.

Procesamiento del polen

Se colectaron anteras de cada especie y se maceraron con una solución de hidróxido de sodio al 10 % por 30 min, luego se hicieron 5 lavados de agua destilada, de 5 min cada uno, centrifugando a 3000 rpm (centrífuga modelo Hitachi 05 PR-22). Posteriormente se sometió a 20 min de limpieza con ultrasonido (Sonicador marca Astrason, modelo 11 H). Se fijaron en tetraóxido de osmio al 1% en al amortiguador de fosfatos 0.1M y se procesaron como se describió en el punto anterior.

Procesamiento de la cariópside

Las cariópsides se colocaron en una estufa a 37°C por 48 horas. Posteriormente se montaron en bases de aluminio sobre cinta adhesiva de carbón (doble cara), se cubrieron con 20 nm de platino y observaron al microscopio electrónico de barrido (modelo Hitachi S-570).

Método utilizado para medir las estructuras

Las estructuras mayores de 5 cm se midieron con una cinta métrica dividida en milímetros y aquellas estructuras con dimensiones entre 5 cm y 1 mm se midieron con un vernier calibrado en 0.02 mm.

Para las estructuras de las cariópsides, espiguillas y hojas menores de 1mm, la medición se efectuó en las micrografías electrónicas de barrido, utilizando un curvímetro (calibrado 1/ 100000) y con el dato obtenido por este instrumento se determinó el tamaño real, tomando como referencia la escala sumimnistrada por el microscopio electrónico de barrido Hitachi S-570 en cada micrografía.

MARCO TEORICO

Taxonomía

La descripción del género *Oryza*, cultivado en Asia fue realizada por Linnaeus (1753), quién le dio el nombre de *Oryza sativa L* y el arroz cultivado en el oeste de Africa, *O. glaberrima* Steud fue identificado por Steudel (l854) (citado por Vaughan 1989).

Este género constaba de 30 especies, hasta que se realizó un estudio exhaustivo y se determinó que en realidad eran 20 especies (Tateoka 1965). Las especies cultivadas (*O. sativa* L y *O. glaberrima* Steud) tienen rasgos evolutivos semejantes. De las especies ancestrales perennes, derivaron las anuales y de estas últimas se domesticaron las dos especies cultivadas. Para *O. sativa* el antecesor anual sería *O. nivara* (sinónimo: *O. fatua*), que crece desde el sur de Asia hasta Australia y que se deriva de la especie perenne *O. ruffipogon* (sinónimo: *O. perennis*) y *O. glaberrima* tendría por antecesor anual a *O. barthii* y como perenne a *O. longistaminata* (Morishima *et al.* 1992)

El área de domesticación de *O.sativa* posiblemente abarcó del noreste de la India hasta el sur de China y Malasia (Vaughan l994). De este núcleo se expandió, primero desde Burma, al norte hacia el valle del río Amarillo y de Indochina al valle inferior del Yangtze. Estas poblaciones fueron adaptándose a las condiciones subtropicales, formando la subespecie *japonica* (Kato *et al.* 1928, citado por Morishima *et al.* 1992), más tolerante al frío, es de granos más pequeños y bajo contenido de almidón (Sato 1987, citado por Morishima *et al.* 1992). Se cultiva en China y Japón, de donde se ha llevado a Estados Unidos de América, Rusia y Europa. De esa misma área nuclear inicial también derivó la subespecie *indica* (Kato *et al.* 1928, citado por Morishima *et al.* 1992) que se extendió hacia Sri Lanka, el archipiélago Malayo, el sur de China, Medio Oriente,

Europa y Africa y se les encuentra en zonas del trópico y subtrópico (Morishima *et al.* 1992). La subespecie *javanica*, seleccionada de *japonica* y adaptada al trópico, se extendió por Indonesia, Filipinas y Japón (León 1987).

De acuerdo a las características morfológicas y el genoma de las especies de *Oryza*, se les incluye en cuatro complejos: complejo *O. sativa*, complejo *O. officinalis*, (también llamado complejo *O. latifolia*), el complejo *O. ridleyii* y el complejo *O. meyeriana* (Tateoka 1962 a y b, Vaughan 1994) (Cuadro 1).

Cuadro 1

Clasificación por complejos de las especies del género *Oryza:* sinonimia, genoma, usos potenciales y distribución

Complejo / Nombre de la Especie	Sinonimia	Grupo de Genoma	Uso Potencial	Distribución
Complejo *Oryza sativa*				
O. sativa L	---	AA	Especie cultivada	Nativa de Asia, cultivada en zonas tropicales y regiones templadas del mundo
O. nivara S	*O. rufipogon*	AA	Parcial resistencia a la putrición del tallo	Sur y Sureste de Asia
O. rufipogon Griff	---	AA	Hibridación con *O.sativa*	Sur y Sureste de Asia, Australia y América
O. glumaepatula Steud	---	AA	Resistencia al fuego	Sur América y América Central
O. glaberrima Steud	---	AA	Especie cultivada	Oeste de Africa

thii A Chev	*O.breviligulata*	AA	Resistencia al saltador de la hoja verde	Africa
gistaminata	*O. barthii*	AA	Resistencia a bacterias	Africa
ridionalis	---	AA	Resistencia a la sequía	Australia
plejo *O. Officinalis* (Complejo *O. latifolia*)				
cinalis Wall	*O. minuta*	CC	Resistencia a trips	Sur y sureste de Asia, Sur de China, Papua
inuta Presl	*O. officinalis*	BBCC	Resistencia a plagas de la vaina	Filipinas
chingeri P	---	CC	No se infecta del moteado amarillo	Africa Central y Este y Sri Lanka
ganctata K	*O. schweinfurthiana* (para la forma tetraploide)	BB, BBCC	Resistencia al saltador de la hoja	Africa
latifolia Desv	---	CCDD	Resistencia a tres tipos de saltamontes	América Central, América del Sur y el Caribe
alta Swallen	---	CCDD	Resistencia a raspadores de culmo	América Central y Sur América
glandiglumis Prod	---	CCDD	Planta alta, resistencia al fuego, alimento para los indígenas del Brasil	Sur América
australiensis	---	EE	Resistente a la sombra	Australia
ganae Tateoka				
brachyantha	---	FF	Resistencia a bacterias	Oeste de Africa hasta Sudán

chlechteri P	---	No se conoce	Estolones	Papua, Nueva Guinea
plejo *O. ridleyi*				
ideyi Hook	---	No se conoce	Resistencia a raspadores del culmo	Sureste de Asia y Papua, Nueva Guinea
ggiglumis	---	No se conoce	Tolerancia a la sombra	Papua, Nueva Guinea e Indonesia
ata Roschev. Complejo *O. meyeriana*				
eyeriana	---	No se conoce	Tolerancia a la sombra	Sureste de Asia
ranulata	---	No se conoce	Tolerancia a la sombra	Sur y Sureste de Asia, Sureste de China

te: Tomado de Vaughan 1989, 1994

Características anatómicas del género *Oryza*

El arroz cultivado es una planta de suelos húmedos y su estructura se ha adaptado a esas condiciones. El desarrollo del sistema radical secundario y de los tallos aéreos varía mucho según la especie y depende sobre todo de factores hereditarios y secundariamente de factores ambientales. Por ejemplo, un tipo de arroz de cultivo húmedo, tiende a formar el mismo sistema de raíces si se cultiva en condiciones de secano (León 1987).

Raíz

Las plantas de este género presentan dos tipos de raíces: las temporales o seminales (primarias) y las adventicias o permanentes (secundarias). Las raíces seminales son poco ramificadas y sobreviven poco tiempo después de la germinación, llegado el momento son reemplazadas por las raíces adventicias que brotan de los nudos aéreos o subterráneos de los tallos jóvenes. En algunos casos, como en ciertas especies silvestres, este tipo de raíz brota de los nudos aéreos.

En los primeros estadíos de crecimiento las raíces son blancas, ramificadas y relativamente gruesas, al continuar el crecimiento, éstas se alargan, adelgazan y se ramifican abundantemente. Las raíces adventicias al madurar son fibrosas, con ramificaciones secundarias y pelos radicales. Por lo general las raíces adventicias gruesas forman verticilos a partir de los nudos que salen sobre el nivel del terreno (Chang & Bardenas 1965, citado por Contin 1979).

En suelos inundados, la superficie exterior de las raíces activas adquiere una tonalidad de crema hasta amarillo rojizo, por la presencia de compuestos férricos. En suelos aireados el color blanco se mantiene. En suelos ricos en compuestos sulfurosos, pueden adquirir un color negro (González *et al.* 1985)

Culmo

Como en las demás gramíneas, está dividido por nudos, el nudo inferior es muy importante en el arroz cultivado, pues de él salen las raíces adventicias que fijan y alimentan permanentemente a la planta y los brotes aéreos o tallos, que forman la macolla (Metcalfe 1960; Pohl 1980). De los nudos que siguen hacia arriba también brotan otros tallos laterales. El tamaño final de la planta, dado por el número de cañas, usualmente, es de 10 a 20 y es un carácter varietal. El crecimiento es similar en todas las cañas de una planta, los entrenudos inferiores son más cortos, los bajos e intermedios más largos y los superiores más cortos. Los entrenudos tienen en la parte inferior un meristemo intercalar (zona de elongación), en cuya base se forman nuevos tejidos que al desarrollarse determinan el alargamiento de los tallos (León 1987).

El aspecto externo del tallo: brillo, color, superficie ondulada o lisa, varía en las diferentes especies. El culmo aéreo del arroz es sólido al principio, pero al desarrollarse desaparece la médula en los entrenudos dejando un espacio central (Pohl 1980).

En el arroz los culmos desempeñan también una función de reserva, porque la planta almacena almidón en las células corticales de los culmos (Metcalfe 1960, León 1987).

Hoja

Las hojas en el arroz cultivado ocupan una posición alterna y están constituidas de vaina y lámina. La vaina es una estructura cilíndrica, abierta hasta la base, y que sale de la parte superior del nudo. En los entrenudos inferiores (basales), la vaina no sólo los cubre sino que envuelve también las bases de las hojas siguientes; en los entrenudos superiores, en cambio, es más corta y abierta. La vaina es angosta hacia el extremo superior y su parte central se engruesa para

continuar en la lámina, aurícula y lígula. Esta región tiene áreas de color púrpura claro dependiendo de la variedad.

La lígula es una estructura de valor taxonómico y se encuentra en la base de la lámina foliar, aparece como una prolongación de la parte superior de la vaina. Es una estructura triangular, hasta de 5 cm de largo que puede ser bífida, aguda o truncada, membranosa y transparente. En algunas especies tiene áreas moteadas y carece de los pelos y estomas que se hallan en la vaina. En la base de la lámina foliar, lateral a la lígula, hay dos aurículas, estructuras angostas, de forma variable y con el ápice muy oscuro cubierto de pelos unicelulares, largos, gruesos y transparentes. Las aurículas están situadas a los lados de la lígula y son muy quebradizas (Clark 1998).

El ancho de la lámina foliar varía dependiendo también de la especie, hay desde muy angosta (10 mm) hasta bastante anchas (50 mm) (Zamora *et al.* 1999), puede ser aguda en el ápice, cerrada desde éste hasta la mitad, con la vena media bien marcada y venas menores paralelas. La superficie, especialmente la superior, es dura e irregular. Los bordes son fuertes, engrosados, duros y cerrados en la mitad superior. La coloración varía según la especie, desde verde amarillento hasta un verde más oscuro (León 1987).

La forma y estructura de la lámina está dada por la clase, número y distribución de los haces vasculares. Estos son de dos tipos: grandes y aislados o pequeños y en grupos. Partiendo de la vena central hacia el borde se encuentran primero de dos a tres venas o haces pequeños, separados por áreas reducidas. Luego una vena o haz grande, después cuatro haces pequeños y finalmente un haz grande cercano al margen (Metcalfe 1960, León 1987).

Los haces vasculares están en grupos, con células engrosadas y llegan hasta la epidermis. Como el tejido de relleno o mesófilo, es suave y está dispuesto alrededor de los haces, éstos determinan la superficie irregularmente

ondulada de la hoja. En las depresiones que dejan los haces en la cara adaxial se hallan los grupos de células buliformes, con paredes delgadas y actúan a manera de bisagra, reguladoras de la turgencia de la lámina foliar. Cuando están llenos de agua la lámina es lisa, cuando carece de este líquido la lámina se enrosca (Pohl 1980).

La epidermis de la lámina está formada por diversos tipos de células; tales como célula de sílice, papilas, tricomas y las de los estomas, estas células contribuyen a darle una característica irregular y dura a la lámina (Metcalfe 1960).

Inflorescencia

La inflorescencia es una panícula, aparece al final del culmo y está protegida por una hoja terminal más corta y ancha que las inferiores, conocida como hoja bandera. El raquis de la inflorescencia es la continuación del culmo y, como éste, tiene células con clorofila en los tejidos externos. El raquis no es cilíndrico sino de lados planos, según la inserción de sus ramificaciones. Los nudos del raquis son sólidos y los entrenudos, como en el culmo, tienen el centro hueco. El raquis lleva ramificaciones desde el segundo a cuarto orden y a veces de quinto; sobre éstas dos últimas se localizan las espiguillas (Montiel 1994).

La espiguilla se compone de tres flores, pero sólo la superior es fértil, mientras que las dos inferiores son órganos vestigiales llamados glumas y lemas estériles. Las envolturas florales en las flores fértiles, están formadas por las lemas fértiles (la lema y la pálea) que recubren las lodículas, el ovario y las anteras. Las flores estériles están representadas por unas prominencias en el pedúnculo llamadas glumas y las lemas estériles que se hallan en la base de la flor fértil, que por lo común son más cortas que la lema y la pálea. En ciertas especies las lemas estériles llegan a alcanzar el mismo tamaño de las lemas fértiles (Metcalfe 1960, Pohl 1980, León 1987, Vaughan 1994).

La espiguilla fértil se forma de una lema o glumela inferior, una estructura en forma de quilla, con cinco venas longitudinales, la central es más desarrollada y forma la quilla; las dos medianas y las dos externas están cerca de los bordes. La lema es dura, de superficie áspera debido a la presencia de numerosas espículas y a veces termina en un ápice agudo o una arista, que puede llegar a medir hasta 8 cm. Opuesta a la lema y un poco hacia arriba, está la palea, de forma semejante, pero sólo presenta tres venas y carece de quilla y arista (Metcalfe 1960).

El flósculo se compone de las lodículas, dos cuerpos carnosos colocados en la base de las lemas estériles, que representan el perianto y cuya función es contribuir a la dehiscencia de la espiguilla. La flor fértil tiene de tres a seis estambres, de filamentos largos y anteras muy móviles. El gineceo consta de un ovario esférico u oblongo, terminado en tres ramificaciones que sostienen el estigma, una de ellas es más pequeña, las otras dos son bien desarrolladas y están cubiertas de papilas. El ovario contiene sólo un rudimento seminal (Metcalfe 1960, León 1987, Montiel 1994).

Fruto

El fruto del arroz es una cariópside y está cubierto por las envolturas permanentes, lema y pálea, que le envuelven por completo. La semilla se forma de integumentos, embrión y endospermo, este último ocupa el mayor volumen. Los integumentos del rudimento seminal forman una capa muy fina que rodea la semilla. Esta capa externa o pericarpo, se forma de tres tejidos diferentes y contiene varias capas de células ricas en aleurona. Por su contenido de proteínas, grasas y minerales, las últimas constituyen, desde el punto de vista nutritivo, junto con el embrión la parte más importante de la cariópside. Ciertas vitaminas en particular el complejo B, están también presentes en las envolturas, por ello cuando el arroz se pule, se pierde la mayor parte de esos elementos nutritivos (León 1987).

El endospermo es rico en almidón. Presenta, por lo común, una mancha blanca hacia el centro y es traslúcido en el resto; este carácter puede cambiar según la especie.

El embrión ocupa el extremo inferior del lado ventral de la semilla y está opuesto a la lema. Es rico en proteínas, vitaminas y minerales. Está formado por la plúmula y la radícula, unidos en un hipocótilo corto. El escutelo, que representa el cotiledón, ocupa gran parte del cuerpo superior del embrión (Metcalfe1960).

Descripción del arroz cultivado

Oryza sativa **L**

Presenta gran número de variedades y tiene tres subespecies. La subespecie *indica*, usualmente tiene hojas verde claro, granos delgados, espiguillas carentes de arista y presenta muchos brotes. La subespecie *japonica*, adaptadas a climas templados, de granos redondos y pubescentes, de pocos brotes y hojas verde oscuro. La subespecie *japonica* tropical que se conoce como *javanica*, por lo general tienen granos largos, redondos, espiguillas pubescentes y con arista, presenta pocos brotes (León 1987).

El cultivo se realiza en suelos inundados o en secano, algunos pueden sobrevivir como arroz flotante. Se cultiva entre los 0 y 3000 m de altitud (León 1987).

Durante varios años se utilizó en Costa Rica semilla de variedades criollas. Estas eran producidas por el agricultor que las conservaba para la próxima siembra. Posteriormente, en la década de los cincuenta, se introdujeron variedades de los Estados Unidos, pero diversos problemas fitosanitarios las hicieron fracasar. Luego se introdujeron variedades procedentes de Surinam las

que tuvieron problemas agronómicos como volcamiento y susceptibilidad al insecto *Tagosodes orizicolus* (Orthoptera: Delfacidae) y al virus de la hoja blanca, entre otros.

Al final de los años sesenta, se introdujo de Filipinas, la variedad IR-8 de porte bajo, buen macollamiento y alto rendimiento. Esta variedad revolucionó la producción arrocera obligando a los agricultores a modificar las prácticas y tecnología usadas hasta ese momento en la explotación del cultivo.

En los años siguientes se introdujeron otras variedades como IR-22, CICA-4 y CICA-6. En el año 1973 el Programa de Investigación del MAG proporciona la variedad CR-1113 y actualmente se utiliza ésta y otras variedades como: CR-5272, CR-1821y Setesa-7 (Charpantier 1988).

Variedad CR-5272

Fue desarrollada en Costa Rica en 1976, por el Ministerio de Agricultura y Ganadería. Es de porte bajo, sus hojas son erectas, de buen vigor y macollamiento. Presenta baja esterilidad y trilla dura, pero es susceptible al hongo *Magnaporthe grisea* (conocido como Piricularia). Su ciclo vegetativo es de 115 días. El grano es largo, produce buen rendimiento, es de buena calidad molinera y culinaria. Requiere que se coseche a la madurez para impedir el "rayado" del grano (Charpantier 1988).

Especies silvestres de arroz

***Oryza rufipogon* Griff**

Es una planta perenne, diploide (2n=24) y su genoma AA (Chang 1976, Duistermaat 1987, Tateoka 1962b, Vaughan 1989). Pertenece al complejo *O.*

sativa y está estrechamente relacionado con *O. sativa* y *O. nivara* con los cuales crece simpátricamente, produciendo híbridos (Morishima *et al.* 1992).

Es decumbente y flotante; forma raíces perennes; raíces adventicias y ramificación extravaginal; sus entrenudos son largos, la lígula es bífida y puede medir hasta 4.5 cm. La panícula es bien desarrollada, la arista es larga (5.5 a 10.6 mm), las anteras pueden medir aproximadamente 3 mm. El grano es delgado y puede medir entre 7.0 a 9.3 mm de largo y 1.9 a 2.6 mm de ancho, es altamente quebradizo, la planta puede tener pocas semillas, el embrión usualmente mide de 1 a 1.5 mm de largo.

Esta especie se encuentra en Asia en zonas pantanosas, ciénagas, campos de cultivo de arroz (principalmente en cultivos inundados). No sobrepasa los 1400 m. s. n. m (Vaughan 1994).

Crece en forma silvestre en Australia, Bangladesh, China, Filipinas, India, Indonesia, Laos, Malasia, Nueva Guinea, Vietnam, Sri Lanka, Thailandia. Se introdujo con el arroz cultivado en Bolivia, Brazil, Colombia, Costa Rica, Guyana Francesa, Honduras, México, República Dominicana y Venezuela, sitios donde se le encuentra asociado al arrozal (Vaughan 1994).

***Oryza glumaepatula* Steud**

Esta especie silvestre americana es diploide (2n = 24) y tiene genoma AA. Se le encuentra en Venezuela, Brasil, Bolivia (Akimoto 1998).

Las plantas de esta especie pueden crecer rápidamente cuando se incrementa el nivel de agua , el área internodal se elonga con rapidez y una vez alcanzado cierto desarrollo el culmo se rompe y es liberado del suelo. Se desarrollan retoños y raíces adventicias en cada nudo y construyen "praderas flotantes" que muchas veces son arrastradas grandes distancias por los vientos y

las corrientes del río Amazonas y sus afluentes. De esta forma se dispersa a lo largo de los ríos o lagunas (Akimoto 1998).

Sus espiguillas miden hasta 11 mm; por lo general sus anteras miden más de 3mm, algunas veces alcanzan hasta 7mm o más (Morishima *et al.* 1992), la arista puede medir hasta 80 mm y es de color rosado (Zamora *et al.* 1999). La lígula mide hasta 4.7 cm (Akimoto 1998).

Frecuentemente se le encuentra en suelos lodosos (inundados), charrales, en zacatales inundados, a la orilla de los ríos. En Sur América puede crecer en aguas profundas, hasta los 4 m, prefiere suelos arcillosos negros. Crece entre los 0 y 1400 m sobre el nivel del mar. Florece durante todo el año, aunque es corriente encontrar mayor floración de abril a setiembre y de noviembre a diciembre. Su consumo es común en Brasil (Morishima & Martins 1993).

Se distribuye en las regiones tropicales de Sur América, principalmente en el río Amazonas y sus afluentes, en Cuba y el Caribe (Morishima & Martins 1993). En Costa Rica han dos poblaciones, una se encuentra restringida al Llano de los Delirios, en los márgenes del río Medio Queso, en el Cantón de los Chiles, provincia de Alajuela y la otra población en el camino a Murciélago, La Cruz, Liberia, Guanacaste (Zamora *et al.* 1999).

***Oryza latifolia* Desv.**

Es éndemica de América, se distribuye desde México hasta Brasil y las Islas del Caribe. Es una especie del complejo *O. officinalis* y se relaciona estrechamente con *O. alta* y *O. grandiglumis*, son tetraploides, de genoma CCDD (2n = 48) (Oka 1961, Akimoto 1998).

O. latifolia es una planta de aproximadamente 2 m de altura, aunque puede encontrarse de menor o mayor tamaño; el ancho de la hoja no sobrepasa los 50

mm; la lígula es membranosa, rígida y pubescente, es ciliada en el ápice y puede medir entre 3 y 6 mm de longitud. Las aurículas son ciliadas. La arista presenta gran cantidad de espículas y puede medir hasta 25 mm.

Crece en los claros de bosques húmedos, en bosques de crecimiento secundario, sabanas, entre pastizales, en campos de cultivo, en suelos lodosos, a la orilla de los ríos, lagunas y quebradas. No crece a más de 700 m sobre el nivel del mar (Pohl 1980). En Costa Rica se le encuentra en las tierras bajas, en varias zonas de vida, desde el bosque tropical seco (1200 mm de precipitación anual) hasta el bosque tropical húmedo (4000 mm de precipitación anual) y en elevaciones desde 0 hasta los 650m. Las poblaciones más grandes se encuentran en el Refugio de Fauna Silvestre Palo Verde, provincia de Guanacaste, en las inmediaciones del río Tempisque, en terrenos que sufren inundaciones períodicas. Es también muy abundante en la vertiente Atlántica, en el Area de Conservación Tortuguero (Zamora *et al.* 1999). Se le da el nombre común de arroz pato y florece durante todo el año (Oka 1961, Zamora *et al.* 1999).

Oryza *grandiglumis* (Doell) Prod.

Es una especie tetraploide (2n = 48), su genoma es CCDD. Crece entre 0 y 230 m sobre el nivel del mar. Florece de marzo a julio y en noviembre. En Brasil los indígenas la utilizan como alimento y tiene valor como forraje (Vaughan 1994).

Las plantas de esta especie pueden alcanzar hasta 760 cm de altura, son de hojas anchas de 3 a 5 cm (Zamora *et al.* 1999), la lígula es pubescente. Las lemas estériles o glumas pueden tener la misma longitud que la pálea y la lema, característica que la distingue de otras especies de *Oryza*.

Esta especie inicia su crecimiento principalmente de retoños durante la estación seca. Durante la estación lluviosa sus internudos se elongan

incrementando rápidamente su crecimiento, pero nunca forman "praderas flotantes" como lo hace *O. glumaepatula*. Crece en las orillas de lagos, lagunas y ríos donde el agua es clara y quizás no podría sobrevivir en sitios de aguas oscuras, de pH bajos (vive en ámbitos de pH de 6-7) y pobres en nutrientes (Akimoto 1998).

Se encuentra en Argentina, Bolivia, Brasil, Colombia, Ecuador, Guyana Francesa, Paraguay y Perú (Pohl 1980, Vaughan 1994, Akimoto 1998). En Costa Rica tiene una distribución limitada al humedal de Caño Negro, en la zona Norte del país, en bosques húmedos tropicales. Crece en los bancales del Río Frío, especialmente en los terrenos fangosos (Zamora *et al.* 1999).

RESULTADOS

Ultraestructura de la lámina foliar, aurículas, lígula, espiguilla y cariópside de las especies del género *Oryza*

Oryza sativa L var. CR 5272

La ultraestructura de la lámina foliar en su parte adaxial (haz) presenta muy bien definida su venación paralela, con una vena central en la lámina que corresponde al haz vascular conspicuo y paralelos a ésta se encuentran los haces vasculares inconspicuos (venas laterales), intercalados en ellos se presentan diversos tipos de células.

En la zona adaxial, se observan las venas paralelas con largos tricomas unicelulares de *ca.* 492 μm de largo y muestran una base ampliada (Fig. 1a). En los márgenes de la lámina foliar (Fig. 1b) se aprecia una hilera de tricomas espinosos alargados que tienen un promedio de 100 μm de longitud . Las células de sílice se observan formando largas hileras (Figs. 1c y 1d), se observa gran cantidad de papilas, tricomas unicelulares largos y tricomas espinosos abultados, estos últimos pueden medir de 25 a 75 μm de largo, también se nota la presencia de tricomas hirsutos pequeños (Fig. 1c). Los estomas miden de 13 a 15 μm de largo y se encuentran rodeados por papilas, de sustancias cerosas, de dos a seis papilas a cada lado de las células subsidiarias (Figs. 1e y 1f).

Las franjas de células de sílice se observan alternando con hileras de papilas, que pueden corresponder al señalamiento de las venas laterales (Fig. 1d).

En la sección abaxial de la lámina foliar encontramos venas paralelas, tricomas atenuados, con su base agrandada muy evidente y los cordones de células de sílice de forma crenado-verticales, típicas del género *Oryza* (Fig. 2a); además, se observa estomas, células de sílice, papilas esféricas (Figs. 2b y 2c),

y tricomas espinosos abultados que en vista lateral tienen forma de aleta de tiburón (Fig. 2b), y las más abundantes son estas papilas de cera que están presentes en ambas superficies de la lámina foliar (Fig. 2c)

La zona intercostal está compuesta por cordones de células de sílice y gran número de papilas; en la zona costal se observa gran cantidad de tricomas espinosos abultados y múltiples papilas (Figs. 2a y 2b).

Los estomas en la zona abaxial de la lámina foliar son similares a los de la parte adaxial (Fig. 2c), pero las papilas, estructuras de cera son redondas en vez de alargadas y pueden adoptar diversas formas. Puede decirse que la capa de cera cuticular está formada de gran cantidad de bastoncillos de cera.

La lígula es velluda, aguda y el extremo distal es bífido, mide de 13-45 mm de largo y está compuesta por tricomas espinosos pequeños y abundantes (Fig.2d) .

Las aurículas, ubicadas en los extremos laterales de la lígula, son pequeños apéndices alargados, delgados y de forma rizoide, su longitud es de *ca.* 3 mm y rodean una sección de la lámina foliar, a su vez están constituidos por numerosos tricomas unicelulares que miden entre 45 y 69 µm y tricomas atenuados de 1 a 2 mm de largo (Figs. 2e y 2f).

La espiguilla mide de 6 a 12 mm por 2 a 5 mm; es oblonga y carece de arista, las lemas estériles de 1.4 a 3.5 mm de largo (Fig. 3a), se observan endurecidas mientras que las lemas fértiles presentan una estructura celular que asemeja un cedazo finamente tejido y está compuesto de gran número de tricomas cortos espinosos (Fig. 3b). Los estambres, formados por las anteras, de cuatro lóbulos y sus filamentos, se encuentran en número de seis y por la inserción del filamento se les denomina tipo basifija y pueden medir entre 0.6 a 1.2 mm de largo (Fig. 3c). El gineceo, está constituído por el ovario, estilos y sus

estigmas plumosos, formados por células cortas de diversas formas (Fig. 3a

En la parte basal de la espiguilla se observa la ornamentación que entan las gruesas glumas, las cuales tienen abundancia de sílice y lignina, lo les da una apariencia coriácea; también, se observan micropelos muy finos y glumas rudimentarias (Fig. 3e).

El grano de polen de este género presenta un solo poro, es monoporado y *ca.* 36 μm de diámetro y la ornamentación de la exina es sencilla (Fig. 3f).

La cariópside, está cubierta por dos gruesas lemas (cáscara o granza), mucho sílice y está lignificada. Se nota muy bien la línea longitudinal donde abrió el grano (Fig. 4).

***latifolia* Desv.**

***latifolia* (Cañas)**

En la zona adaxial de la lámina foliar, notamos las papilas alargadas con dante cera cuticular (Fig. 5a). Las papilas forman hileras paralelas, alterando forma y distribución donde se encuentran los tricomas espinosos abultados 5b). En la misma zona se observan abundantes papilas, hileras de células sílice, alternando con tricomas espinosos abultados, que miden entre 40 y 63 Se aprecia otro tipo de tricoma, muy pequeño que mide entre 14 y 16 μm de (Fig. 5c),. En los márgenes de la zona adaxial observamos una hilera de ganchudos que miden entre 81 y 150 μm de largo que alternan (Fig. 5d). el interior de la lámina el patrón epidérmico es el siguiente: cinco pares de de papilas de cera que se organizan en grupos, una hilera de estomas de papilas, continuando con otro par de hileras de papilas,

seguidamente observamos una hilera de células de sílice y se continúa el patrón normal de la lámina foliar (Fig. 5d).

Se apreciar un estoma, que mide *ca.* 17 µm de largo y en los extremos de las células subsidiarias se observa una papila, se nota el patrón de cera cuticular en forma de bastoncillos (Fig. 5e).

En la zona abaxial de la lámina foliar apreciamos las células epiteliales integradas en un patrón de hileras que incluye líneas de estomas, papilas y células de sílice, cuyo patrón se repite en toda la superficie (Figs. 6a y 6b). Los estomas de cada hilera están rodeados de papilas esferoides, que se aprecian claramente cuando el estoma está cerrado (Fig. 6c). Las hileras de células de sílice tienen aspecto de cremallera con tricomas espinosos abultados intercalados. Entre las hileras de estomas y células de sílice, se encuentran hileras de papilas pequeñas miden *ca.* 6 por 9 µm y en algunos casos aparecen hileras o grupos de tres a ocho papilas, en forma de lápida que miden *ca.* 12 por 5µm (Fig. 6d).

Las hileras de papilas podrían corresponder al señalamiento de la venación lateral. En los márgenes de la lámina (Figs. 6a y 6b) encontramos una hilera de tricomas espinosos, además hacia el interior de esta superficie se observan dos hileras de tricomas espinosos atenuados que miden desde 24 hasta 95 µm de longitud; usualmente se disponen en pares, aunque, en algunos casos uno está adelante del otro. Se observa también un tricoma espinoso muy pequeño, que puede medir *ca.* 12 µm (Figs. 6b y 6c).

En el envés de la hoja y sobre la zona costal se observa la vena central formada por células que carecen de cera cuticular y de papilas, carente de las estructuras características en el resto de la superficie. En su borde hay papilas que aparentemente se van diferenciando a medida que se alejan de la vena, pues hacia la sexta o sétima hilera son más grandes y anchas (Fig. 6d). Los tricomas

de la lámina foliar, exceptuando los que se encuentran en las hileras de las células de sílice, están rodeados por papilas, multilobuladas, que tienen de dos a cuatro lóbulos (Fig. 6c).

Las aurículas son estructuras de forma rectangular que miden *ca.* 3.84 mm de largo por 1.32 mm de ancho, aproximadamente y su superficie presenta abundantes tricomas cortos y atenuados largos, éstos últimos se hacen más abundantes en los bordes de la aurícula (Fig. 6e).

La lígula es membranosa y tiene abundantes tricomas atenuados largos en el extremo apical y en la superficie otro tipo de tricoma espinoso ganchudo de menor tamaño y por la forma del extremo distal es truncada, mide de 3 a 6 mm. Es evidente la venación lateral (Fig. 6f).

La espiguilla mide de 5 a 8 mm de largo, por 2-3 mm de ancho; la lema estéril es más corta que la fértil y es común encontrar estomas en su base (Fig. [illegible]). La lema fértil mide *ca.* de 5-8 mm por 1.8-2.5 mm, es oblonga, rugosa y [illegible], está cubierta de tricomas espinosos. Se observan los tricomas espinosos en los márgenes, sobre y entre las venas (Fig. 7a). Tiene una arista, cuyo largo varía entre 8 y 35 mm. Los estambres, formados por los filamentos y anteras que tienen cuatro lóbulos. Las anteras son basifijas y en número de seis con una longitud promedio de 2 a 3 mm (Fig. 7c). El ovario está constituído por dos estigmas plumosos que están cubiertos de células cortas de varias formas.

La cariópside tiene las lemas estériles lanceoladas y sus bordes son [illegible]dados (con espinas en los bordes) La lema y la pálea están cubiertas de numerosas espículas, se evidencia las venas paralelas de estas estructuras (Fig. [illegible]).

Oryza latifolia **(Carara)**

La zona adaxial de la lámina foliar tiene dos tipos de tricomas unicelulares, uno de ellos es pequeño como una aleta corta y espinoso, de *ca.* 26 μm de largo. El otro es espinoso con la base abultada y más grande, su longitud promedio es de 46.5 μm, también se aprecian las hileras de células de sílice, grupos de papilas alargadas (Fig. 7e). En el borde de la lámina foliar se observa una hilera de tricomas espinosos, cuya longitud es de *ca.* 93 μm (Fig. 7f).

La zona abaxial de la lámina foliar muestra la vena central decorada con papilas poco prominentes, distribuidas irregularmente (Fig. 8a). La superficie abaxial se compone de hileras de células de sílice que alterna con dos tipos de papilas, unas alargadas y otras en forma de lápida; ambos tipos de papilas se encuentran distribuidas a lo largo de toda la lámina foliar y también hay globulares. En el borde de la lámina observamos una hilera de tricomas espinosos abultados en la base y alternando con las células de sílice encontramos tricomas ganchudos (Fig. 8b). Se aprecia que los estomas están rodeados por siete a ocho papilas esferoides, lo que brinda un aspecto de rosetas (Fig. 8b). En términos generales, el patrón morfológico de la cara abaxial está integrado por tricomas en el borde, seguido por hileras alternas de papilas esferoides, de tricomas ganchudos, papilas en forma de lápida, miden *ca.* 7X15 μm, células de sílice, papilas alargadas y esferoides, rosetas de estomas y finalmente aparecen dos hileras seguidas de células de sílice con tricomas ganchudos intercalados entre ellas. Sigue una hilera de papilas esferoides y se repite nuevamente el patrón hasta alcanzar la vena central, que se identifica por ser la más prominente (Fig. 8b).

Las aurículas son envolventes y tienen una longitud de *ca.* 3 mm, su superficie presenta tricomas unicelulares cortos y en los bordes observamos abundantes tricomas atenuados que miden *ca.* 1 a 1.7 mm de largo (Fig. 8c).

La lígula es cónica, su extremo distal es agudo, mide *ca.* 3.4 mm de largo, es pubescente, posee tricomas ganchudos, cortos y rígidos, de *ca.* 47 μm de largo (Fig. 8d) y en su extremo distal tiene gran cantidad de tricomas largos de *ca.* 560 μm (Fig. 8e).

En la espiguilla se aprecian las glumas fértiles (la lema y la pálea), el apículo, la venación y los tricomas ganchudos *ca.* de 173 μm de largo (Fig. 8f). Se observa el gineceo formado por el ovario, el estilo y dos estigmas (Fig. 9a). Los estigmas son estructuras plumosas que nacen en el estilo y que son una extensión del ovario (Fig. 9b).

Oryza latifolia **(Pelón)**

La zona adaxial de la lámina foliar tiene el patrón característico de la superficie de la especie, exceptuando un tipo de tricoma unicelular y de una longitud *ca.* de 44 μm (Figs. 9c y 9d). El borde se caracteriza por la presencia de una hilera de tricomas espinosos de diferente tamaño (Fig. 9c).

En la zona abaxial de la lámina foliar, notamos que los bordes de la lámina son semejantes a los de Cañas (Figs. 8a y 9e). Los tricomas presentes en este borde miden entre 65 y 120 μm.

La lígula tiene el extremo distal truncado, mide *ca.* 2 mm y tiene tricomas espinosos que se tornan más abundantes conforme asciende hacia la parte distal (Figs. 9f y 10a).

Las aurículas tienen una longitud *ca.* de 3.5 mm y están decoradas con gran cantidad de tricomas cortos en la superficie y tricomas largos en los bordes (Figs. 10b y 10c).

La espiguilla es coriácea y mide *ca.* 3 mm. La lema y la pálea tienen sílice y lignina y cinco y tres venas respectivamente. Están presentes los tricomas espinosos. La espiguilla presenta seis anteras basifijas de *ca.* 1.5 mm y dos estigmas plumosos de *ca.* 1.5 mm de largo (Figs. 10 d-f).

La especie *O. latifolia* presenta en su lámina foliar un patrón cuticular formado de gran cantidad de bastoncillos cerosos.

***Oryza rufipogon* Griff**

La zona adaxial tiene gran cantidad de tricomas espinosos hirsutos, y su longitud varía entre los 40 y 97 μm (Fig. 11a). Esta especie presenta un patrón muy regular en su lamina foliar. En la zona adaxial la venación paralela se intercala con varios tipos de células, hilera de células de sílice de forma crenada que alterna con células que tienen una papila esferoide. Entre las células de sílice se intercalan tricomas espinosos abultados de *ca.* 100 μm (Fig 11a). Se observa otro tipo de tricoma de aspecto espinoso de *ca.* 97 um. Ambos tipos de tricomas se encuentran rodeados por papilas de cera, en los espinosos abultados las papilas son alargadas y en los espinosos erectos las papilas son bilobuladas y trilobuladas (Figs. 11a y 11b). El patrón epidérmico se repite hasta alcanzar la vena central. Entre las papilas de cera se encuentran los estomas, que miden de 10 a 15 μm de largo y están adornados por un grupo de cuatro o siete papilas que se localizan sobre sus células subsidiarias (Fig. 11c).

En el borde de la lámina foliar hay tricomas espinosos, algunos muy pequeños de *ca.* 10 μm y otros más grandes que miden *ca.* 200 μm (Fig. 11d). Cerca de este borde, pero solo en la zona adaxial aparecen estomas grandes de *ca.* 33 μm de largo y las células oclusivas y subsidiarias carecen de papilas cerosas (Fig. 11e).

En la zona abaxial de la lámina foliar se observan las venas paralelas (Fig. 11f) recubiertas por papilas en forma de lápida, que miden *ca.* 16 μm de largo por 12.5 μm de ancho, y se encuentran cubiertas de cera (Figs. 11f y 12a). El patrón de la lámina foliar en esta zona es semejante al descrito en la zona adaxial, pero en la abaxial es más regular y ordenado (Fig. 11f). Los tricomas espinosos hirsutos son menos frecuentes; aunque sus dimensiones son similares *ca.* 97 μm. Sin embargo, es muy evidente la decoración de las venas por un tipo de papila globular gigante de *ca.* 19 μm de diámetro, que sobresalen de entre las papilas pequeñas que son muy abundantes en toda la superficie de la lámina foliar (Fig. 12b).

Las aurículas de *O. rufipogon* miden *ca.* 4.1 mm de longitud y tiene forma falcoide, su superficie está cubierta de pelos espinosos pequeños y su borde tiene tricomas atenuados largos de casi 2 mm (Fig. 12c). La base de estos tricomas está rodeada por agrupaciones de células distribuidas en forma irregular (Fig. 12d).

La lígula es aguda y en su extremo distal bífida, mide *ca.* 11 a 45 mm y su epidermis está formada por gran cantidad de hileras de papilas muy pequeñas y tricomas espinosos abultados distribuidos en forma irregular y miden *ca.* 22 a 49 μm (Fig. 12e).

La espiguilla en su extremo distal, tiene una arista prominente que se origina en la lema y mide *ca.* 48 a 60 mm y la pálea tiene un apículo (Fig. 12f). La espiguilla mide *ca.* 9 mm y tiene seis anteras basifijas características del género. Cada antera mide *ca.* 2 mm. En esta espiguilla se observa la raquilla, que une las lemas fértiles con las estériles. Estas últimas miden *ca.* 2 mm de largo y son duras, debido a la abundancia de sílice y lignina (Fig. 13). En *O. rufipogon* el borde de las lemas estériles es irregular, tienen forma de ala (Figs. 14a y 14b). La lema y la pálea están formadas por hileras de papilas lignificadas, con una o dos proyecciones a manera de espinas (Fig. 14b). Entre esas estructuras aparecen

tricomas espinosos, de *ca.*147 a 425 μm (Fig 14b). En el interior de la pálea está el gineceo, formado por el ovario, con sus dos estigmas plumosos de *ca.* 1.2 μm, y nacen en el estilo, que es una prolongación del ovario (Fig. 14c).

El embrión se encuentra en el lado ventral de la espiguilla, junto a la lema y el resto de la cariópside lo constituye el endospermo amiláceo (Fig. 14d). El grano está compuesto por el ovario maduro, la raquilla, las lemas fértiles y estériles y por la arista. Las lemas fértiles (lema y pálea) forman la cáscara, que envuelve el grano, cuando éstas no están, se le denomina cariópside, la capa más externa es el pericarpo. En la base de la cariópside hay un punto de unión o inserción con la pálea, denominado "ojo" (Fig. 14e).

***Oryza glumaepatula* Steud**

La zona adaxial de la lámina foliar de esta especie, presenta los tres tipos de papilas de cera, el de forma de lápida mide *ca.* 10.4 μm de alto por 15.5 μm de ancho, las papilas alargadas miden *ca.* 12.25 μm de largo y las esferoides, que tienen un diámetro *ca.* de 3 μm y son las más numerosas (Fig. 15a).

El borde de la lámina foliar presenta una hilera de tricomas espinosos abultados y miden *ca.* 42.5 μm. El patrón epidérmico está formadodo por: cinco hileras de los tres tipos de papilas, predominando las papilas en forma de lápida, una hilera de células de sílice, dos hileras de papilas entre las que se intercalan tricomas espinosos abultados e hirsutos pequeños de *ca.* 32 μm. Este patrón se repite hasta cubrir toda la superficie adaxial de la lámina. Cada una de las hileras de sílice presenta una pequeña papila central y el conjunto muestra un aspecto de cremallera (Fig. 15a). Los estomas, cuya longitud *ca.* es de 16 μm, aparecen rodeados de cuatro a ocho papilas esferoides y alternan con papilas en forma de lápida (Fig. 15b y 15c).

En la zona abaxial de la lámina foliar se observa la venación paralela, la vena central está decorada con papilas globulares que miden *ca.* 146 μm en el eje horizontal y 138 μm en el eje vertical (Fig. 15d).

Del borde hacia la vena central el patrón de la zona abaxial es el siguiente: tres hileras de grupos de papilas bilobuladas, en las cuales las papilas de los extremos de cada grupo son pequeñas y aumentan su tamaño hasta alcanzar un máximo en la zona central del grupo, y entre cada grupo hay una pequeña área sin papilas. Aparecen tres hileras de estomas, cada uno rodeado por papilas esféricas e intercalados entre los estomas aparecen papilas más grandes bilobuladas. Se observa dos hileras de papilas y finalmente hay una hilera de células de sílice que alterna con tricomas espinosos abultados. A partir de esta hilera se repite el mismo patrón descrito anteriormente (Fig. 15e). En esta zona está presente un tipo de tricoma unicelular, que aparentemente tiene una estructura muy delicada pues se colapsa fácilmente (Fig. 15f).

Las aurículas son de forma rizoide, miden *ca.* 5.5 mm y en la superficie presenta tricomas bicelulares que miden *ca.* 5.5 μm de longitud (Fig. 16a y 16b). Los tricomas atenuados de los bordes son más grandes, miden *ca.* 1.60 mm (Fig. 16d) y su base está recubierta de células alargadas (Fig. 16c).

La lígula es aguda y en su extremo distal es bífida, mide *ca.* 50 mm y la superficie presenta el mismo patrón de la lámina foliar; sin embargo, lo más conspicuo de este patrón es la presencia de tricomas espinosos abultados, también aparece recubierta por papilas y gran cantidad de tricomas atenuados medianos y unicelulares que miden *ca.* 1 mm (Figs.16c y 16e).

La espiguilla mide *ca.* 10 mm, tiene seis anteras que miden *ca.* 3 mm, son basifijas y cada una de ellas tiene cuatro lóbulos (Fig. 16f), tiene una arista que se origina en la lema (Fig. 17a). Las lemas fértiles (la lema y la pálea) se encuentran recubiertas por hileras de papilas lignificadas que presentan una o dos

proyecciones (Fig. 17a), entre estas estructuras aparecen tricomas espinosos de ca. 2 mm de longitud (Figs. 17 a y b). Tiene dos estigmas plumosos unidos al ovario por el estilo (Fig. 17b). En esta espiguilla se observa la raquilla que une las lemas estériles con las fértiles (Fig. 17c). Las lemas estériles miden entre 2 y 3 mm y son coríaceas, debido a la presencia de lignina y de sílice; además, su borde es dentado y es bastante irregular (Fig. 17d).

Las anteras están formadas de células alargadas cubiertas de cera, en la micrografía observamos el detalle del extremo distal de la misma (Fig. 17e).

Los granos de polen son redondos, de ornamentación sencilla, monoporados y miden *ca.* 36 µm (Fig. 17f).

Oryza *grandiglumis* (Doell) Prod

La zona adaxial de la lámina foliar, presenta el patrón paralelo de la venación inconspicua (venas laterales) y entre ellas se observa diversos tipos de células características de este género (Figs. 18a y 18b).

En esta zona, se notan tres tipos de tricomas espinosos. En el borde existe un tricoma espinoso alargado que mide *ca.* 243 µm. En el resto de la superficie de la lámina foliar existen dos tipos de tricomas espinosos abultados, uno de estos más grande y mide *ca.* 48 µm y se encuentra intercalado en las hileras de células de sílice. El otro tipo de tricoma es pequeño e inclinado y mide ca. 17µm y está intercalado en las hileras de papilas bilobuladas y es más abundante que el anterior (Figs. 18a y 18b).

La lámina foliar en la zona adaxial presenta el siguiente patrón: hilera de células de sílice en la que se encuentran intercalados los tricomas espinosos abultados, hileras de papilas alargadas y bilobuladas, hileras de pequeños estomas que miden *ca.* 5.4 µm y se encuentran rodeados de papilas de cera,

de papilas bilobuladas, hileras de papilas que presentan un patrón de cera abundante, hileras de papilas bilobuladas en las que se observa intercalados tricomas pequeños inclinados, hileras de papilas bilobuladas, hileras de y nuevamente se repite el patrón (Fig. 18a).

En la zona abaxial y del borde hacia el interior de la lámina foliar, el patrón es el siguiente: hileras de tricomas espinosos alargados alternando con y pequeños tricomas espinosos abultados, hileras de papilas, hileras de de sílice en las que se intercalan tricomas espinosos abultados que tienen tamaño, hileras de papilas, hileras de células de sílice donde se intercalados los tricomas espinosos abultados, la descripción hecha mente sólo corresponde al borde de la zona abaxial. Continuando hacia central el patrón celular es el siguiente: hileras de papilas que intercalan estomas que se encuentran rodeados de papilas, una hilera de células de intercalada con tricomas espinosos abultados, hileras de papilas esferoides se encuentran muy bien delineadas, hileras de células de sílice, hilera de alargadas intercaladas con tricomas de estructura delicada que se con facilidad, hileras de estomas, hileras de papilas en forma de lápida y mente se repite el patrón (Figs. 18c-e).

La lámina foliar está constituída por una capa de cera cuticular, formada por cantidad de bastoncillos cerosos, que se distribuyen formando una capa muy (Figs.18e y 18f).

Separando la lámina foliar de la vaina se observa las aurículas y la lígula. aurículas son curvadas envolventes y miden *ca.* 5 mm, rodean la lámina foliar presentan numerosos tricomas espinosos, que miden *ca.* 35 µm; sus bordes tricomas atenuados grandes de *ca.* 2 mm de largo y su base está rodeada células alargadas (Figs. 19a y 19b).

La lígula es truncada en el extremo distal y puede medir *ca.* de 3 a 6 mm y está cubierta de tricomas espinosos pequeños y tricomas atenuados (Fig. 19c).

La espiguilla, tiene las lemas estériles casi del mismo tamaño que las lemas fértiles (lema y pálea), es oblonga y mide *ca.* 10 mm. Tiene una arista y en la pálea se evidencia el apículo. Se observa la raquilla, que une las lemas fértiles con las estériles, en ella se evidencia una corona de espinas, localizada entre la raquilla y las lemas fértiles (Figs. 19d-f) La raquilla está cubierta por pequeños tricomas espinosos. Las lemas estériles son lisas, en la base notamos la presencia de estomas y el borde es dentado (Figs. 20a y 20b). Las lemas fértiles (lema y pálea) presentan una estructura celular que asemeja un cedazo finamente tejido y están compuestas por hileras de estructuras lignifacadas, con una o dos proyecciones, a manera de espinas y entre estas estructuras se observan tricomas espinosos, son coriáceas debido a la presencia de lignina y sílice (Fig. 20c). La espiguilla tiene seis anteras basifijas que miden *ca.* 4 a 5 mm, cada una de ellas está formada por cuatro lóbulos (Fig. 20d). El ovario está formado por dos estigmas plumosos, constituidos por células cortas de varias formas (Figs. 20e y 20f).

El grano de polen es el característico para el género *Oryza* (Figs. 21a y 21b).

La cariópside está cubierta por dos gruesas lemas (cáscara) lignificadas. El embrión se localiza junto a la lema y el resto de la cariópside lo ocupa el endospermo

Todas las micrografías de las muestras analizadas, de las especies *O. sativa* var CR- 5272, *O. glumaepatula*, *O. rufipogon*, *O. latifolia* y *O. grandiglumis* fueron comparadas con las muestras respectivas, de plantas de cada especie que habían sido previamente identificadas. Se observaron con el microscopio electrónico de barrido S- 2360N, estas muestras no se sometieron a ningún

proceso químico y tampoco se les tomó micrografías. Fueron comparadas directamente y se puede afirmar que las muestras analizadas corresponden a las especies previamente idendificadas y que las lemas de *O. grandiglumis* de Brasil y de Costa Rica presentaron una diferencia en el patrón epidérmico de las lemas estériles (Figs 21c y 21d), pero después de observar nuevas semillas se encontró que el patrón es similar, lo que varía es el tamaño y grosor de las lemas estériles.

O. grandiglumis de Costa Rica tiene las lemas estériles coriáceas, lanceoladas, dentadas y con algunas espinas y células prominentes en la superficie y cubren del 60 al 70% de las lemas fértiles; las lemas estériles de *O. grandiglumis* de Brasil, son lanceoladas, grandes, gruesas y con espinas, cubren del 90 al 95% del tamaño de las lemas fértiles, algunas presentan el patrón epidérmico de sus lemas fértiles, otras el patrón epidérmico de las lemas estériles de la especie de Costa Rica (ver apéndice 5).

Los cuadros 2, 3 y 4 resumen las características ultraestructurales de las tres especies analizadas, destacándose así las similitudes y diferencias.

CUADRO 2
Comparación de las aurículas de las especies costarricenses de *Oryza*: forma, tamaño y tricomas

Especie	Forma			Longitud	Longitud y distribucion de tricomas	
	Rizoide	Envolvente	Rectangular	(mm)	Bordes	Superficie
O. sativa	X			3 (pequeñas)	Atenuados 1-2 mm	Espinosos 45-70 µm
O. rufipogon	X			4 (medianas)	Atenuados *ca.*2 mm	Espinosos *ca.*75 µm
O. glumaepatula	X			5.5 (grandes)	Atenuados *ca.*2 mm	Bicelulares *ca.*120 µm
O. grandiglumis		X		5 (grandes)	Atenuados *ca.*3 mm	Espinosos *ca.*60 µm
O. latifolia (Cañas)			X	4 (medianas)	Atenuados *ca.*1.5 mm	Atenuados *ca.*1.5 mm
O. latifolia (Carara)		X		3.5 (medianas)	Atenuados *ca.*1.5 mm	Espinosos *ca.*50 µm
O. latifolia (Pelón)		X		5 (grandes)	Atenuados *ca.*1.6 mm	Espinosos *ca.*50 µm

Comparación de las lígulas de las especies costarricenses de *Oryza*: forma, tamaño y tricomas

Especie	Forma del extremo distal			Longitud	Tricomas	
	Bífido	Agudo	Truncado	(mm)	Extremo distal	Superficie
O. sativa	X			13-45	No	Tricomas espinosos abultados 70 µm
O. rufipogon	X			11-45	No	Tricomas espinosos abuldados 20-48 µm
O. glumaepatula	X			*ca.* 50	No	Atenuados *ca.* 100 µm y espinosos 30-75µm
O. grandiglumis			X	*ca.* 3.5	Atenuados *ca.*2mm.	Espinosos *ca.*26 µm
O. latifolia (Cañas)			X	*ca.* 3-6	Atenuados *ca.* 1mm.	Espinosos *ca.* 47 µm
O. latifolia (Carara)		X		*ca.* 3.5	Atenuados *ca.* 1.5mm.	Espinosos *ca.* 50 µm
O. latifolia (Pelón)			X	4	Atenuados *ca.* 1 mm	Espinosos *ca.* 50 µm

CUADRO 4

Comparación morfológica de las espiguillas de las especies costarricenses de *Oryza:* forma, tamaño y tricomas

Especies de *Oryza*	Lemas estériles		Lemas fértiles			
	Forma	Tricomas	Antera	Estigma	Tricomas	Arista
O. sativa	Lanceolada	no	*ca.* 2 mm	*ca.* 1mm	Pocos peq.	Sin arista
O. rufipogon	Serrada	no	*ca.* 1 mm	*ca.* 2 mm	Abundantes	48 mm
O. glumaepatula	Serrada	En los bordes	3-7 mm	*ca.* 2 mm	Abundantes[a]	82 mm
O. grandiglumis	Lanceolada	En los bordes	*ca.*3,5mm	*ca.* 2 mm	Abundantes[b]	30 mm
O. latifolia (Cañas)	Lanceolada	En los bordes	*ca.*1 mm	*ca.* 2 mm	Moderados	25 mm
O. latifolia (Carara)	Lanceolada	En los bordes	*ca.*1 mm	*ca.* 1mm	Moderados	25 mm
O. latifolia (Pelón)	Lanceolada	En los bordes	*ca.*1,5mm	*ca.* 1,5m	Moderados	Sin arista

a. Localizados en lema y pálea.
b. Espinas entre la raquilla y las lemas fértiles.

DISCUSION

Los estudios morfológicos de las especies proveen la base para la identificación y las relaciones taxonómicas y evolutivas entre ellas. La superficie de las plantas presenta rasgos topográficos complejos, por ejemplo, la morfología de la semilla es uno de los caracteres más consistentes y confiables en la taxonomía de las especies (Clark *et al.* 1975, Hoagland & Paul 1978, Pohl 1980).

Las características ultraestructurales, resultan de gran ayuda en el reconocimiento de especies estrechamente relacionadas. Estudios ultraestructurales realizados en gramíneas por Hoagland & Paul en 1978 y Clark *et al.* en 1975, han sido de gran ayuda para detallar caracteres morfológicos y establecer la relación entre las especies.

En este estudio en particular el microscopio electrónico de barrido fue una herramienta indispensable para determinar las diferencias y semejanzas de las especies analizadas, debido a que algunas especies presentan caracteres muy similares y la observación con un microscopio de luz o un estereoscopio, se ve limitada por la resolución y aumentos que ofrecen.

El patrón epidérmico de la lámina foliar del género *Oryza*, que describió Grob en l896, (citado por Metcalfe 1960) y por Hoagland & Paul (1978), concuerda con el observado en las especies estudiadas; el patrón cuticular está caracterizado por la presencia de hileras de células de sílice de forma crenada, células cortas que se encuentran predominantemente sobre las venas, estomas de forma romboidal, con papilas de cera sobre las células subsidiarias que cuando el poro está cerrado, le confieren forma de roseta. También encontramos en la lámina tricomas atenuados y espinosos, y gran cantidad de papilas de cera de varias formas distribuidas con un patrón muy regular.

Aunque, el patrón epidérmico en la lámina, es semejante para todas las especies, cada una de ellas presentó, por lo menos, un tipo de tricoma en la lámina que las diferencia. En *O. sativa*, var. CR- 5272, encontramos el tricoma atenuado, en las superficies adaxial y abaxial de la lámina. En sus bordes están presentes los tricomas del tipo espinoso delgado y alargado, según la clasificación de tricomas presentada por Payne (1978). La especie *O. rufipogon* tiene abundantes tricomas hirsutos y en sus bordes una hilera de tricomas espinos abultados, de acuerdo a lo descrito por Metcalfe en 1960. *O. glumaepatula* presenta tricomas espinosos y tricomas hirsutos, similares a los de *O. rufipogon*, pero en menor cantidad que en este último. *O. latifolia* presenta en sus bordes una hilera de tricomas espinosos en forma de gancho, alternando uno espinoso alargado y uno espinoso abultado, similares a los descritos por Montiel en 1972, en *Chaetium bromiodes* (subfamilia Panicoideae). *O. grandiglumis* presenta en su borde tres hileras de tricomas del tipo espinoso abultado, alternando unos de tamaño muy pequeño que pueden medir 17 μm y otros más grandes de *ca.* 243 μm.

Con respecto a los tricomas espinosos abultados presentes en la lámina foliar, nuestros resultados no concuerdan con las observaciones de Hoagland & Paul (1978), en un estudio ultraestructural realizado en cuatro variedades de *O. sativa*: *Starbonnet*, *Bluebelle*, *Labelle*, LA-110, *Mochi-Gammi* y en el arroz Rojo, debido a que observaron estos tricomas, en la superficie abaxial y no en la adaxial. En este trabajo se observó los tricomas espinosos en ambas superficies de la lámina.

Según la clasificación para los patrones morfológicos de cera cuticular de la lámina foliar de las gramíneas, realizada por DeBary en 1972, (citado por Hoagland & Paul 1978), el patrón morfológico que corresponde a la lámina foliar de las especies *O. sativa* var CR-5272, *O. rufipogon*, *O. glumaepatula*, *O. latifolia* y *O. grandiglumis* es el de forma de bastoncillos

Estudios al microscopio electrónico de transmisión han revelado que estos patrones se mantienen constantes en cada planta de una especie dada, pero varían para producir diferencias significativas entre especies (Juniper 1957, Juniper *et al.* 1958, Eglinton 1967). En este análisis, las cinco especies estudiadas presentaron un patrón de cera cuticular semejante en el patrón básico, pero *O. grandiglumis* presenta un patrón más denso que el de las otras cuatro especies. Según Hoagland & Paul (1978) esta característica cuticular podría afectar la penetración de pesticidas.

Las aurículas son estructuras características de la subfamilia Oryzoideae (Pohl 1978); la forma de éstas constituyó en el presente estudio otra característica importante para el reconocimiento de las especies incluidas. La forma de esta estructura presentó mayor similitud en los dos grupos, de acuerdo al genoma. Son semejantes en *O. sativa* var. CR-5272, *O. rufipogon* y *O. glumaepatula*, aunque sólo esta última especie presenta tricomas bicelulares en la superficie de las aurículas. El grupo formado por *O. latifolia* (Pelón y Carara) y *O. grandiglumis*, también presentan una similitud en la forma de las aurículas. En *O. latifolia* (Cañas) las aurículas tienen forma rectangular, diferentes a las de los otros dos ecotipos analizados. Detalles en el cuadro 2.

La lígula, estructura membranosa, descrita por Colomb en 1887, (citado por Metcalfe 1960), presenta una forma similar en las especies *O. sativa* var. CR-5272, *O. rufipogon* y *O. glumaepatula*, ocurriendo lo mismo en las especies *O. latifolia* y *O. grandiglumis*. Pero en *O. latifolia* Carara, la lígula tiene forma clínica, diferente a la descrita para los grupos citados. Detalle en el cuadro 3.

Metcalfe (1960) y Hoagland & Paul (1978) mencionan que la morfología de la espiguilla en las especies de *Oryza* es similar. En el análisis ultraestructural realizado, nuestras observaciones concuerdan con lo observado por Hoagland & Paul (1978) para estas estructuras. Las lemas estériles pueden ser lanceoladas y dentadas o en forma de ala con los bordes dentados o lisos y en la base de las

mismas, se observó estomas carentes de papilas, similares a los descritos por Clark & Gould (1975) en las páleas de *Dichanthelium dichotomum*, *D. angustifolium*, *D. oligosanthes* y *D. ravenelii*.

Las lemas fértiles, tienen cinco venas en la lema y tres en la pálea y se encuentran recubiertas de papilas de sílice, distribuidas en forma regular, y presentan varias proyecciones en su extremo distal y son de aspecto rígido y áspero. En un microanálisis de rayos-X, realizado por Clark & Gould en 1975, se demostró que estas papilas, también presentes en la pálea de *Panicum*, *Dichanthelium* y *Echinochloa* (familia Poaceae) contenían una alta concentración de sílice. Estas papilas, son comparables a los "cuerpos de sílice", descritos por Sant en 1973. En este trabajo se observó que las lemas fértiles presentan una estructura lignificada y con espinas.

Con respecto a los componentes del flósculo (Pohl 1980), se observó el gineceo constituido por un pistilo, con un lóculo, ovario oblongo y súpero con dos estilos y dos estigmas plumosos (Samuel 1988) formados por papilas alargadas, como se observó en este análisis. Al estambre lo constituyen el filamento y la antera que tiene cuatro lóbulos cubiertos de células alargadas con cera cuticular, como se pudo demostrar en el presente análisis. En cada especie estudiada encontramos seis estambres y de acuerdo a la inserción del filamento en la antera, son llamados basifijos (Samuel 1988). Lo que varía en la espiguilla es el tamaño, la longitud de las anteras y de los estigmas, que en las especies silvestres son de mayor tamaño. También la cantidad de espinas de las lemas fértiles y la presencia o ausencia de arista y la forma de las lemas estériles, que pueden presentar espinas, tanto en sus bordes, como en la superficie o pueden carecer de ellas.

En *O. sativa* los tricomas espinosos sobre la superficie de las lemas fértiles, son escasos y pequeños, mientras que en las otras especies se observaron abundantes y de mayor tamaño.

El grano de polen es de forma esferoidal y concuerda con la clasificación dada por Erdtman (citado por Montiel y Kozuka 1994) y análisis realizados al microscopio electrónico de barrido por Moore *et al.* (1983, 1991) confirman los resultados obtenidos en este estudio, ya que el grano de polen del género *Oryza* es monoporado y la forma y decoración de la exina es sencilla. De acuerdo a Montiel y Kozuka (1994) no existen diferencias significativas entre las especies del género *Oryza*, resultados que concuerdan con los obtenidos en este análisis.

El fruto de esta especie es una cariópside, está compuesto por el ovario maduro, la lema y la pálea, la raquilla, las lemas estériles y la arista cuando se encuentra presente. De las especies analizadas las que no tienen arista son: *O. sativa* var. CR-5272 y uno de los "ecotipos " de *O. latifolia.* El embrión está unido al endospermo. La lema y la pálea, con sus estructuras asociadas (referidas en espiguilla), contituyen la cáscara. El embrión se encuentra en el lado ventral de la espiguilla, junto a la lema. El resto de la cariópside lo ocupa el endospermo amiláceo (Metcalfe 1960, León 1987). Estas características son generales para las especies analizadas Varia la cantidad y tamaño de las espinas presentes en cada una de ellas, en el caso de *O. sativa* var CR-5272 la cariópside tiene espinas cortas y son escasas. Las otras especies descritas presentan espinas largas y muy abundantes. Otra característica que varía en estas especies, es el tamaño de la cariópside, siendo de mayor tamaño en *O. sativa* var CR-5272, *O. rufipogon*, *O. glumaepatula* y *O. grandiglumis*, mientras que en *O. latifolia* son pequeñas (7 mm), resultados que concuendan con los Vaughan (1994).

De acuerdo a las características descritas en este estudio, las especies analizadas se han colocado en dos grupos: uno formado por las especies *O. sativa* var CR-5272, *O. rufipogon* y *O. glumaepatula* y el otro grupo formado por las especies *O. latifolia* y *O. grandiglumis.* Según Kihara (1963) (citado por Vaughan 1994), el primer grupo es diploide y de genoma AA, el segundo es

tetraploide y de genoma CCDD. Las especies de genoma similar presentan mayor semejanza en sus características morfológicas.

Los resultados presentados en este estudio, concuerdan con la clasificación realizada por Tateoka (1962, 1965) quien clasifica a estas especies por su origen y las características morfológicas que presentan. En el Complejo *O. sativa* se incluye al primer grupo (especies diploides y de genoma AA) y al segundo grupo (especies tetraploides y de genoma CCDD) en el Complejo *O. latifolia*.

Estudios taxonómicos y evolutivos sobre el origen de *O. sativa* (Oka 1988), suministran suficiente evidencia para creer que el arroz cultivado asiático (*O. sativa*) puede haberse originado de *O. rufipogon* y en el análisis realizado a estas especies se puede afirmar que *O. sativa* y *O. rufipogon* tienen varias características en común (cuadros 2, 3 y 4).

Durante algún tiempo, *O. glumaepatula* fue confundida en América con *O. rufipogon*, por la similitud de características y según Vaughan (l988) se le conoció como la forma americana de *O. rufipogon*. Pero Morishima (1993), mediante análisis moleculares esclareció la identidad de la especie *O. glumaepatula*, confirmando su presencia para América. De acuerdo al estudio realizado *O. glumaepatula* y *O. rufipogon* presentan características ultraestructurales comunes (forma de la lígula y aurículas, tricomas hirsutos, forma de las lemas estériles), pero no puede decirse que sea la misma especie ya que también a este nivel presentan características que las distinguen (cuadros dos, tres y cuatro).

Dentro de las especies analizadas aquella que presentó mayor variabilidad intraespecífica fue *O. latifolia*. Se analizaron tres ecotipos, provenientes de tres áreas geográficas distintas y según Samuel (l988), en un proceso evolutivo y de especiación puede ocurrir una divergencia gradual en un sistema poblacional o especie homogénea primaria en dos o más sistemas poblacionales distintos. Su divergencia está generalmente relacionada con la adaptación a distintas áreas

geográficas o climas, o a hábitat ecológicos claramente definidos. Esto conlleva a una difereciación genética reflejada tanto en la morfología como en la fisiología. En consecuencia, pueden encontrarse variaciones poblacionales divergentes, dependiendo del gradiente ambiental y podría ser posible que lo expuesto anteriormente sea lo que ocurre en *O. latifolia*.

O. grandiglumis mostró diferencia en la estructura de las lemas estériles al ser comparada con la estructura respectiva de la especie proveniente de Brasil; en la costarricense las lemas estériles son coriáceas, lanceoladas, de bordes dentados y con algunas espinas en la superficie, pueden abarcar el 70% del tamaño de las lemas fértiles, mientras que en la de Brasil, también son lanceoladas, pero de mayor tamaño (aproximadamente el 90% del tamaño de las lemas fértiles) y presentan el mismo patrón epidérmico de las lemas fértiles, parece que esta especie presenta cuatro lemas fértiles. Para aclarar la confusión presentada con la especie brasileña y la costarricense, se compararon nuevas muestras y creyendo que podría ser la especie *Oryza alta*, se analizaron también semillas de ésta. Se determinó que no era la especie antes citada, debido a que morfología ultraestructural de ambas es muy diferente. Por el contrario, se comprobó que la morfología ultraestructural de las lemas estériles de la especie costarricense es muy similar a la de la especie brasileña. (ver anexo 5)

El microscopio electrónico de barrido ha sido utilizado para realizar estudios de la superficie de las hojas, flores, semillas, tallos, frutos y raíces (Echlin 1968, Heywood 1969, Clark & Gould 1975, Hoagland & Paul 1978, Montiel & Kozuka 1994, Moreira & Arnáez 1994, Moreira 1998). Proporciona gran profundidad de foco y una alta resolución, además permite la observación de las muestras a diferentes ángulos y a altas magnificaciones. Determina la forma correcta de las estructuras y el detalle de la muestra observada, lo que permite observar detalles ultraestructurales que ayudan en el reconocimiento de especies estrechamente relacionadas (Hoagland & Paul 1978) y en este análisis permitió identificar ultraestructuralmente a las especies estudiadas, caracterizando individualmente a

las especies por medio de la morfología de estructuras como tricomas, papilas, patrón epidérmico, patrón cuticular, lígula, aurículas, espiguilla y cariópside, detallando la forma y estructuras presentes en cada una de las muestras analizadas.

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

Todas las especies presentan en la lámina foliar papilas cerosas, tricomas espinosos abultados, estomas rodeados de papilas y células de sílice crenadas.

La única especie que presenta tricomas atenuados largos en la lámina foliar es *O. sativa* var. CR-5272.

La única especie que presenta gran cantidad de tricomas hirsutos en la lámina foliar es *O. rufipogon*.

La característica morfológica ultraestructural de mayor valor taxonómico fueron los tricomas, por su gran variablilidad en forma, tamaño y distribución en todas las estructuras analizadas.

Las especies diploides de genoma AA, *O. sativa* var. CR-5272, *O. rufipogon y O. glumaepatula* tienen aurículas rizoides y la lígula es bífida.

Las especies tetraploides de genoma CCDD, *O. latifolia* y *O. grandiglumis* presentan lígula truncada y en el extremo distal de la lígula hay tricomas atenuados. Las aurículas son envolventes.

Sólo el ecotipo Carara de *O. latifolia* presenta la lígula en forma cónica.

O. rufipogon y *O. glumaepatula* comparten mayor semejanza en las estructuras analizadas.

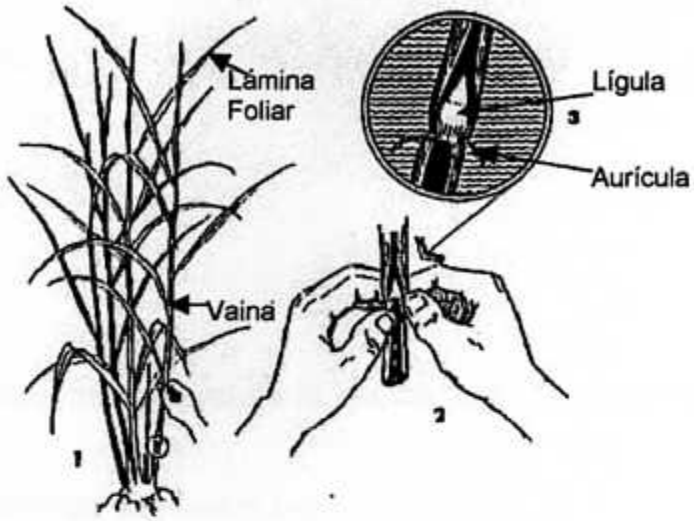
Sólo el ecotipo Cañas de *O. latifolia* tiene las aurículas de forma rectangular

Se podría decir que en Costa Rica están presentes las especies silvestres: *O. glumaepatula, O. rufipogon, O. latifolia* y *O. grandiglumis.*

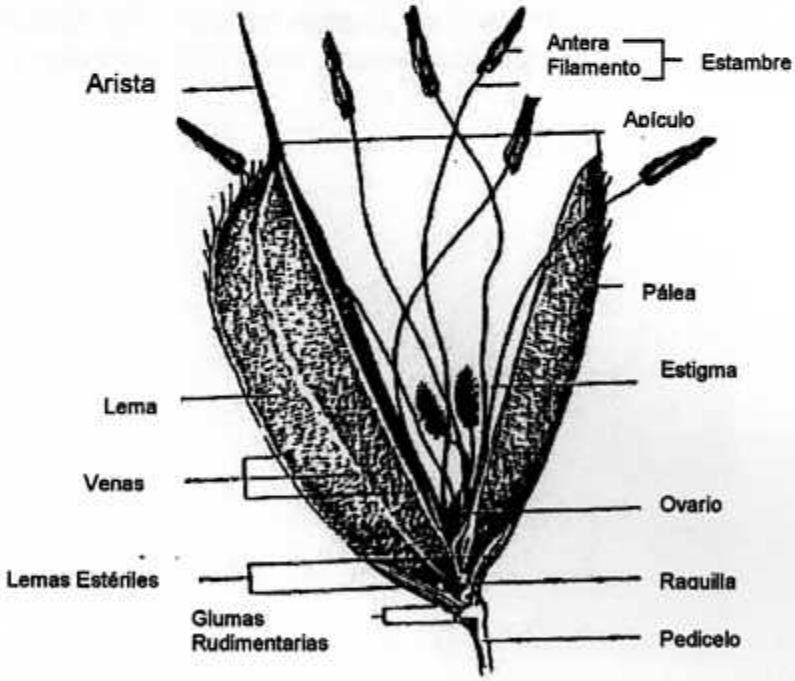
O. latifolia presentó mayor variabilidad intraespecífica.

Se recomienda realizar estudios moleculares a estas especies, tomando como base este estudio morfológico ultraestructural para corroborar la identificación taxonómica. Además, se debe analizar las restantes poblaciones de *O. latifolia* presentes en el país, para determinar la variabilidad presente.

FIGURAS



Planta de Arroz



Espiguilla de Arroz

Figura 1

Micrografías de la epidermis adaxial de la lámina foliar de *O. sativa* Var. CR-5272.

a. Se observa los tricomas atenuados (ta).
b. Tricomas espinosos alargados (tea), en el borde de la lámina, de *ca.* 100 μm.
c. Se observan células de sílice, un tricoma atenuado (ta), papilas (pe) y tricomas espinosos abultados (teab).
d. Detalle de las papilas alargadas (pa), hileras de células de sílice (cs), se nota su aspecto crenado con una papila en el centro.
e. Estomas (e) rodeados de papilas alargadas (pa).
f. Detalle del estoma (e). Se observa el patrón de cera cuticular en forma de bastoncillos (pc), papilas esferoides (pe), el poro estomático (pest) las células oclusivas (co) y las células subsidiarias (csu)

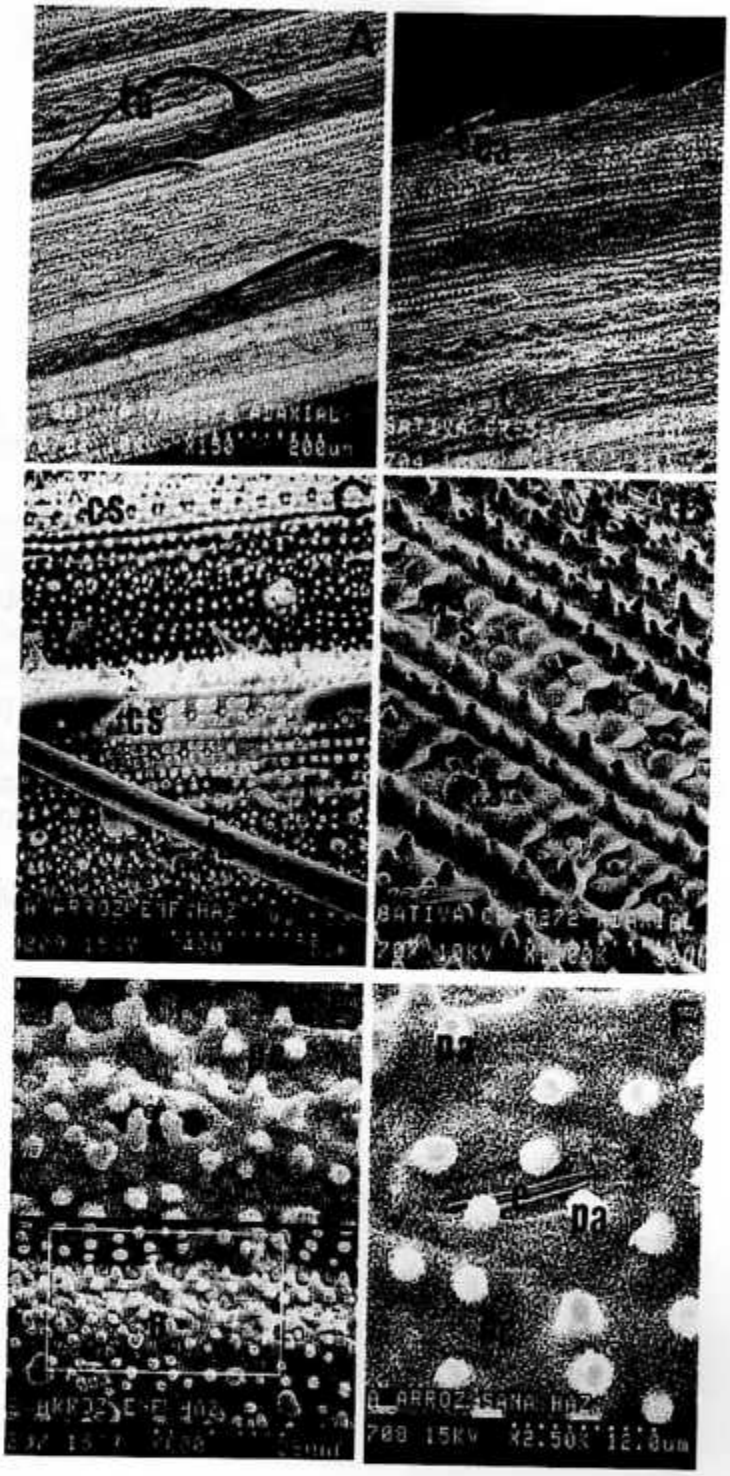

A
B
C
CS
CS
D
D2
D2
F
700 15KV X2.50K 12.0um

Figura 2

Micrografías de la zona abaxial de la lámina foliar, la lígula y la aurícula de *O. sativa* Var. CR-5272.

a. Zona intercostal de la lámina. Se observa un tricoma atenuado (ta).
b. Zona costal, se aprecia tricomas espinosos abultados (teab) e hileras de células de sílice (cs).
c. Detalle de las células de sílice (cs), papilas esferoides (pe) y estomas (e) rodeados de papilas esferoides (pe).
d. La lígula (l) tiene forma aguda y es bífida en su extremo distal. Se observa abundantes tricomas en su superficie.
e. Las aurículas (a) son en forma de rizo, con gran cantididad de tricomas atenuados largos (ta) en sus bordes.
f. Detalle de la epidermis de una aurícula. Se evidencian tricomas espinosos alargados (tea) y largos atenuados (ta).

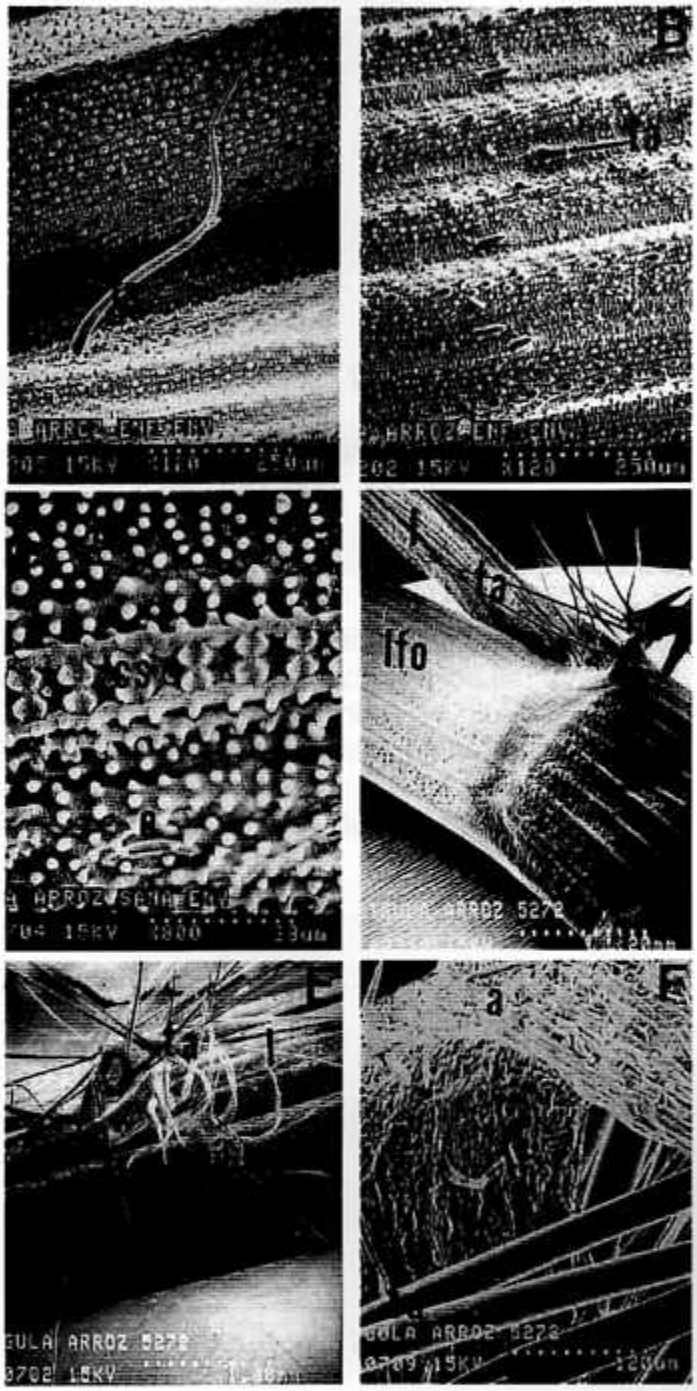

B
ta
ta
lfo
a
E

Figura 3

Micrografías de la espiguilla de *O. sativa* Var. CR-5272.

a. Espiguilla mostrando las lemas estériles (le), lemas fértiles (lf), ovario (o), los dos estigmas plumosos (ep), dos anteras (an) y sus filamentos (f).
b. Detalle de las lemas fértiles (lf), se observa los tricomas espinosos (te) y las papilas lignificadas (pl).
c. Antera (an) mostrando sus cuatros lóbulos (lb).
d. Detalle de las papilas (pap) que componen los estigmas plumosos (ep).
e. Zona basal de la espiguilla, mostrando las glumas rudimentarias (gr), parte de las lemas estériles (le), raquilla (r) y una sección de las lemas fértiles (lf).
f. Grano de polen (gp) monoporado y de ornamentación sencilla.

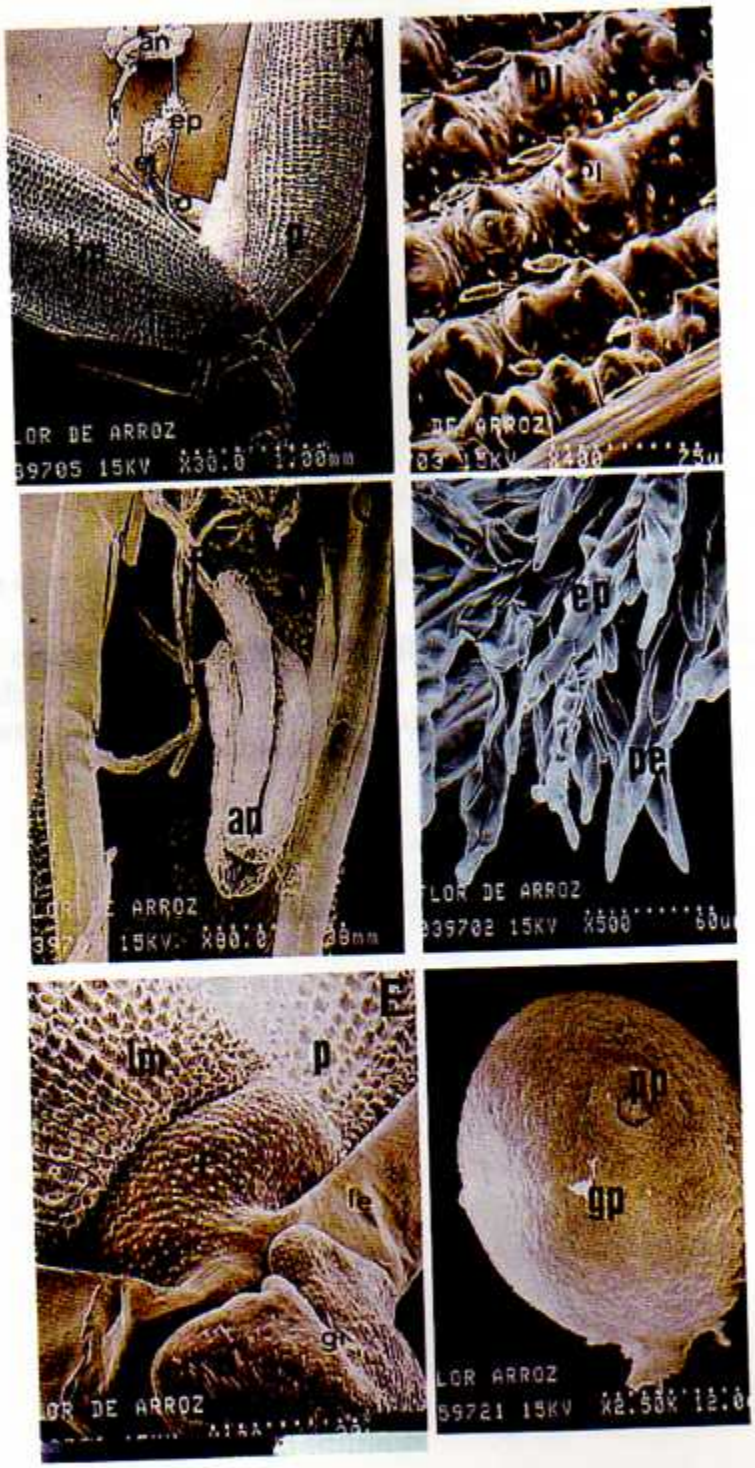

an
ep
p
LOR DE ARROZ
39705 15KV
pl
pl
ap
ep
pe
LOR DE ARROZ
39702 15KV
lm
p
fe
gt
LOR DE ARROZ
gp
gp
LOR ARROZ
59721 15KV

Figura 4

Micrografías de la cariópside de *O. sativa* Var. CR-5272.

Detalle de la epidermis formada por un tejido endurecido, debido al contenido de sílice y lignina. Entre ambas lemas se observa el grano de arroz (ga). Nótese la lema (lm) y la pálea (p)

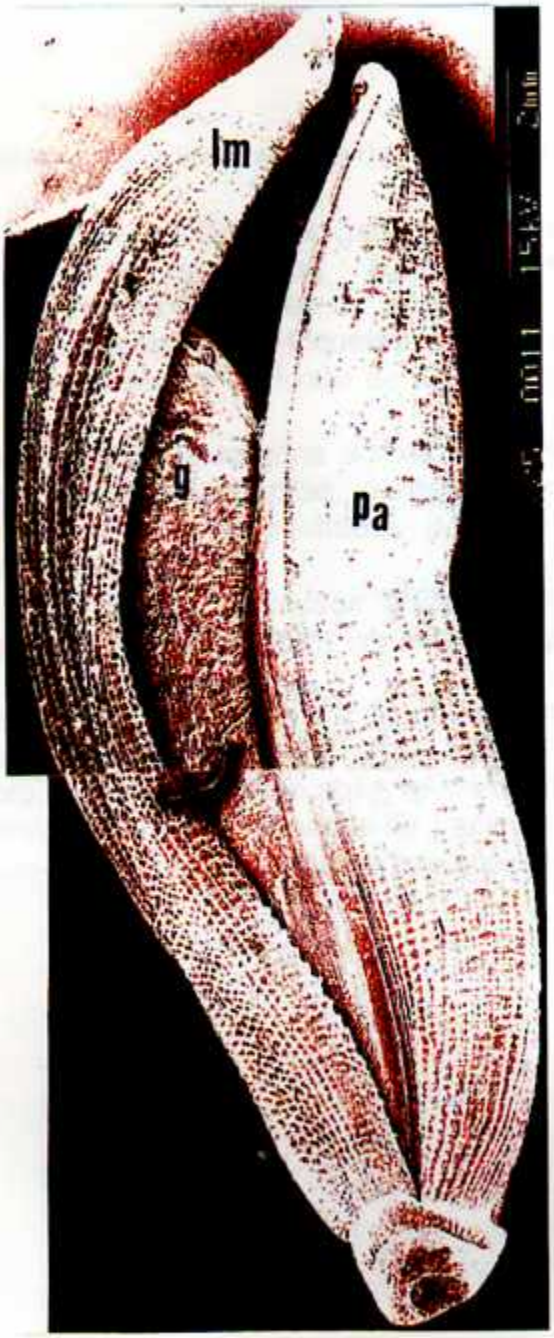

lm
g
pa

Figura 5

Micrografías de la zona adaxial de la lámina foliar de *O. latifolia* (Cañas).

a. Detalle de las papilas de cera alargadas (pa). La lámina foliar está constituida por gran cantidad de papilas. Nótese los estomas (e) rodeados de papilas (pa) (forma de roseta),
b. Se observa la venación paralela, los tricomas espinosos abultados (teab). Estos tricomas se observan en forma de aleta de tiburón (Vista lateral)
c. Detalle que muestra el patrón de la zona adaxial: hileras de papilas (pa), de estomas (e) rodeados de papilas, de células de sílice (cs), alternando con tricomas espinosos abultados (teab) y un tricoma espinoso pequeño (tp) de 16 μm.
d. Detalle de uno de los tricomas espinosos abultados (teab) (Vista frontal). Nótese las papilas alargadas (pa), las bilobuladas (pab) y las células de sílice (cs).
e. Detalle del borde de la lámina, formado por tricomas ganchudos (tg), alternan uno pequeño y otro mayor.
f. Estoma (e) con el poro cerrado, donde se observa las células oclusivas (co) y las células subsidiarias (csu), rodeadas de papilas de cera (pa). Nótese el patrón de cera cuticular, en forma de bastoncillos.

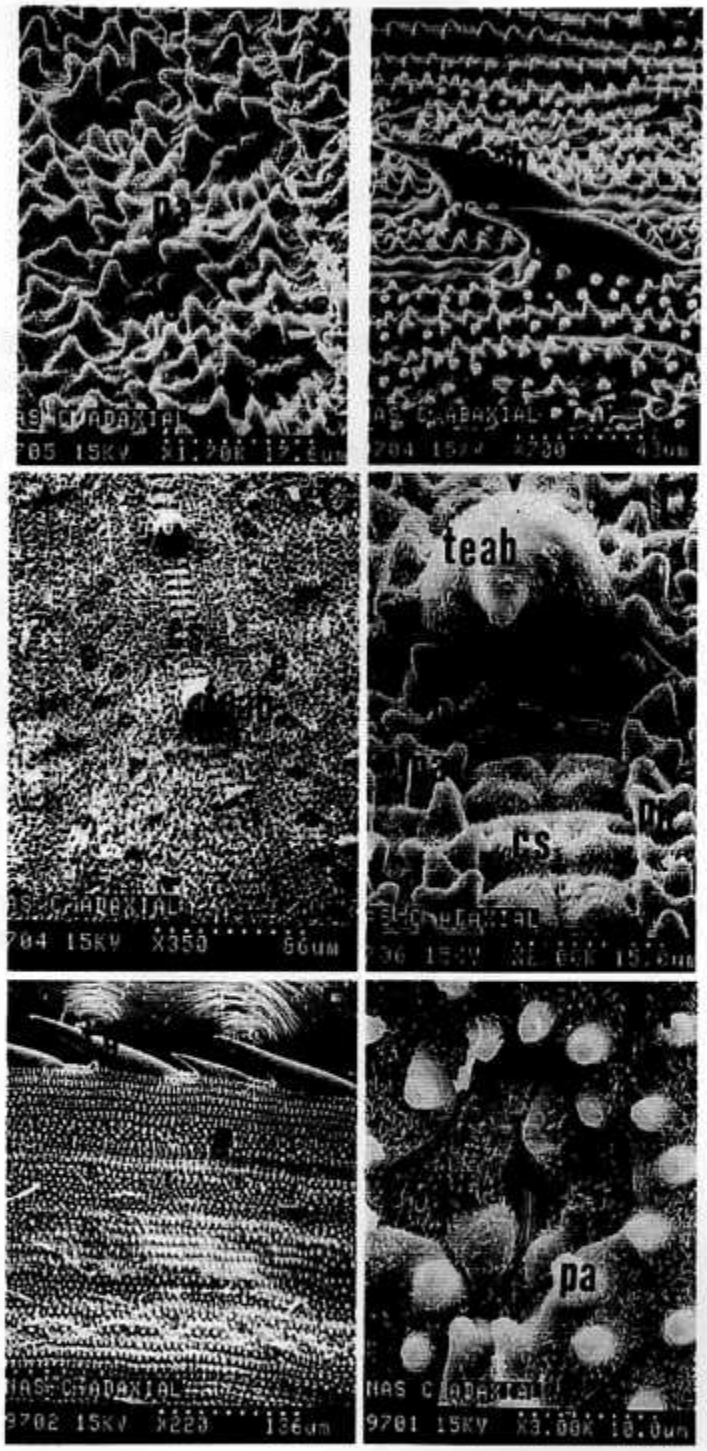

teab
cs
pa

Figura 6

Micrografías de la zona abaxial de la lámina foliar, las aurículas y la lígula de *O. latifolia* (Cañas).

a. Se aprecian hileras de células de sílice (cs) con tricomas espinosos abultados (teab).
b. Detalle de la Fig. 6a, el borde abaxial de la lámina formado por tricomas ganchudos (tg) de *ca.* 136 µm y dos hileras de tricomas espinosos abultados (teab).
c. Vista posterior del tricoma espinoso abultado (teab). Nótese: las papilas alargadas (pa), papilas bilobuladas (pb), papilas trilobuladas (pt) y papilas tetralobuladas (pte). Se nota un estoma (e).
d. Vena central (vc) libre de papilas. En los bordes se nota la presencia de papilas esferoides (pe) y en forma de lápida (plap).
e. Aurícula (a) de forma rectangular, cubierta de tricomas atenuados largos (ta).
f. Lígula (l) truncada. En su borde distal hay abundantes tricomas atenuados largos (ta).

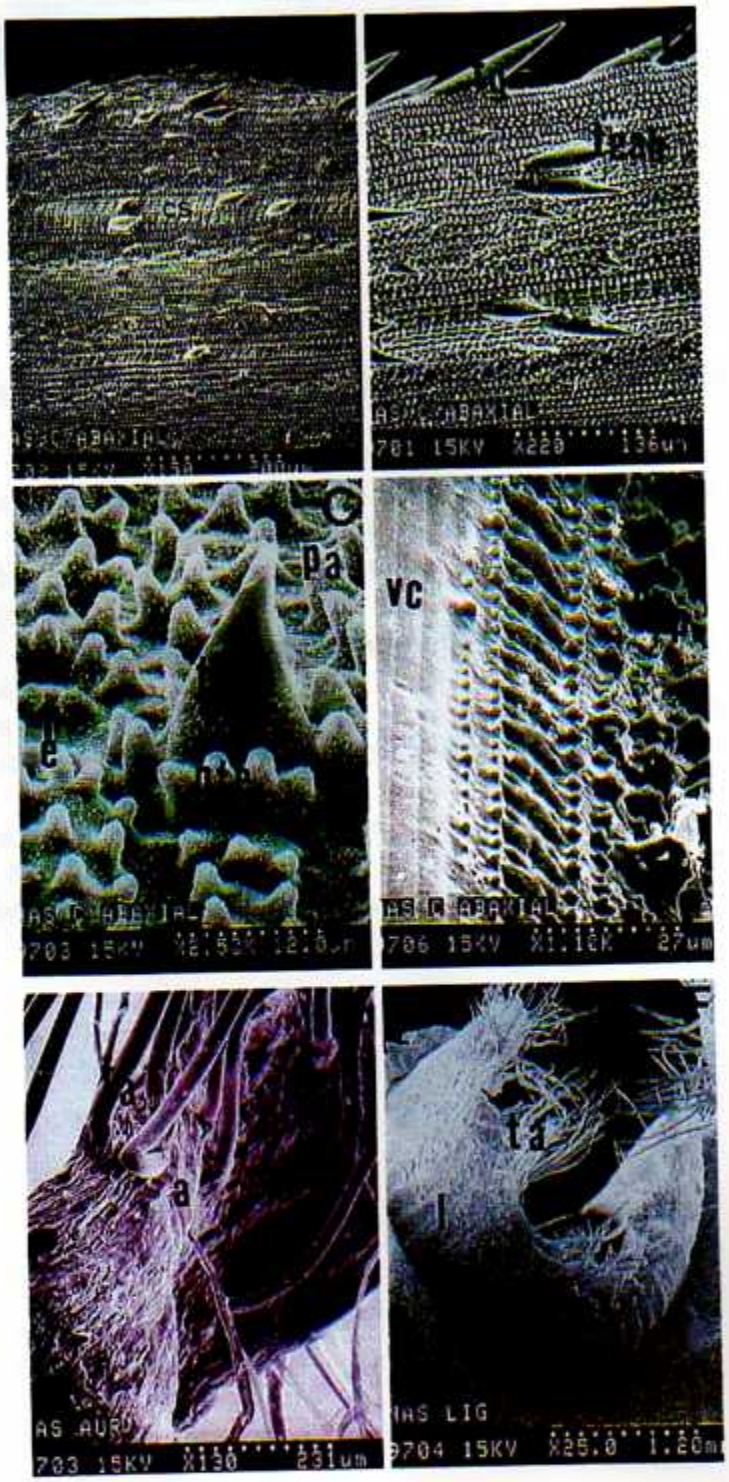

pa
vc
e
a
ta
AS AUR
703 15KV X130 231um
AS LIG
9704 15KV X25.0 1.20m

Figura 7

Micrografías de la espiguilla de *O. latifolia* (Cañas) y zona adaxial de la lámina foliar de *O. latifolia* (Carara).

a. Espiguilla de papilas lignificadas (pl) con espinas (esp) en la lema (lm) y la pálea (p). Las lemas estériles (le) son lanceoladas y con espinas en el borde. Entre las lemas fértiles (lf) se visualizan los estigmas plumosos (ep).
b. Detalle de los estomas (e) presentes en la zona basal de las lemas estériles (le).
c. Se observa las anteras (an) basifijas y los dos estigmas plumosos (ep).
d. La cariópside es deprimida, con papilas lignificadas (pl) y con espinas (esp).
e. La zona adaxial de la lámina foliar con papilas de cera y tricomas espinosos abultados (teab) y un tricoma espinoso pequeño (tp).
f. Borde adaxial con una hilera de tricomas espinosos (te).

ep
le
OR CANAS
9709 15KV X30.0 1.00mm
e
le
le
an
ep
OR CANAS
le
Im
n
JTO Y SAMILLA CANAS
9710 15KV X30.0 1.00mm
te
de
RAMCADAJAL
01 15KV X350

Figura 8

Micrografías de la zona abaxial de la lámina foliar, aurículas, lígula y cariópside de *O. latifolia* (Carara).

a. Se observa la vena central (vc) adornada con algunas papilas.
b. Detalle del borde de la zona abaxial, donde se observa una hilera periférica de tricomas espinosos (te) y el patrón característico de la epidermis de esta especie.
c. Se observa las aurículas (a) curvas y envolventes con gran cantidad de tricomas atenuados (ta) en sus bordes.
d. Se observa la lígula (l) cónica y cubierta de tricomas espinosos (te) y tricomas atenuados (ta).
e. Detalle del extremo distal de la lígula (l).
f. Extremo distal de la cariópside con el apículo (ap), la base de la arista (ar) y gran cantidad de espinas (esp).

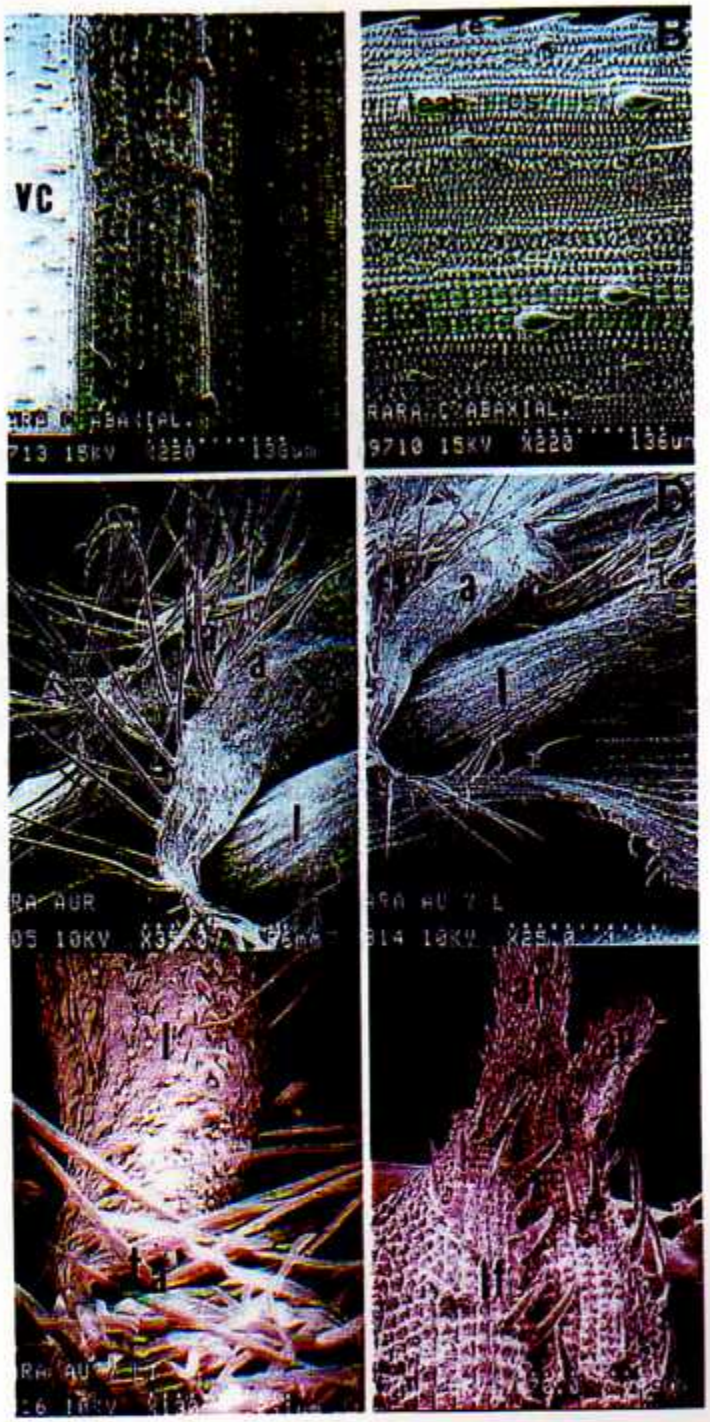

VC
B
D
a
l
tr

Figura 9

Micrografías del ovario y los estigmas de *O. latifolia* (Carara) y la superficie adaxial, abaxial y la lígula de *O. latifolia* (Pelón).

a. Se observa el detalle de las células que componen el ovario (o), los dos estilos (et) y estigmas plumosos (ep).
b. Detalle de las papilas (pap) que componen los estigmas plumosos (ep).
c. Borde adaxial de la lámina foliar de *O. latifolia* (Pelón).
d. Patrón característico de la epidermis foliar.
e. Detalle del borde abaxial, compuesto por tres hileras de tricomas espinosos abultados (teab).
f. Lígula (l) con el extremo distal truncado de *ca.* 3 mm. Presenta gran cantidad de pequeños tricomas (te) en su superficie y otros atenuados (ta) en el extremo distal.

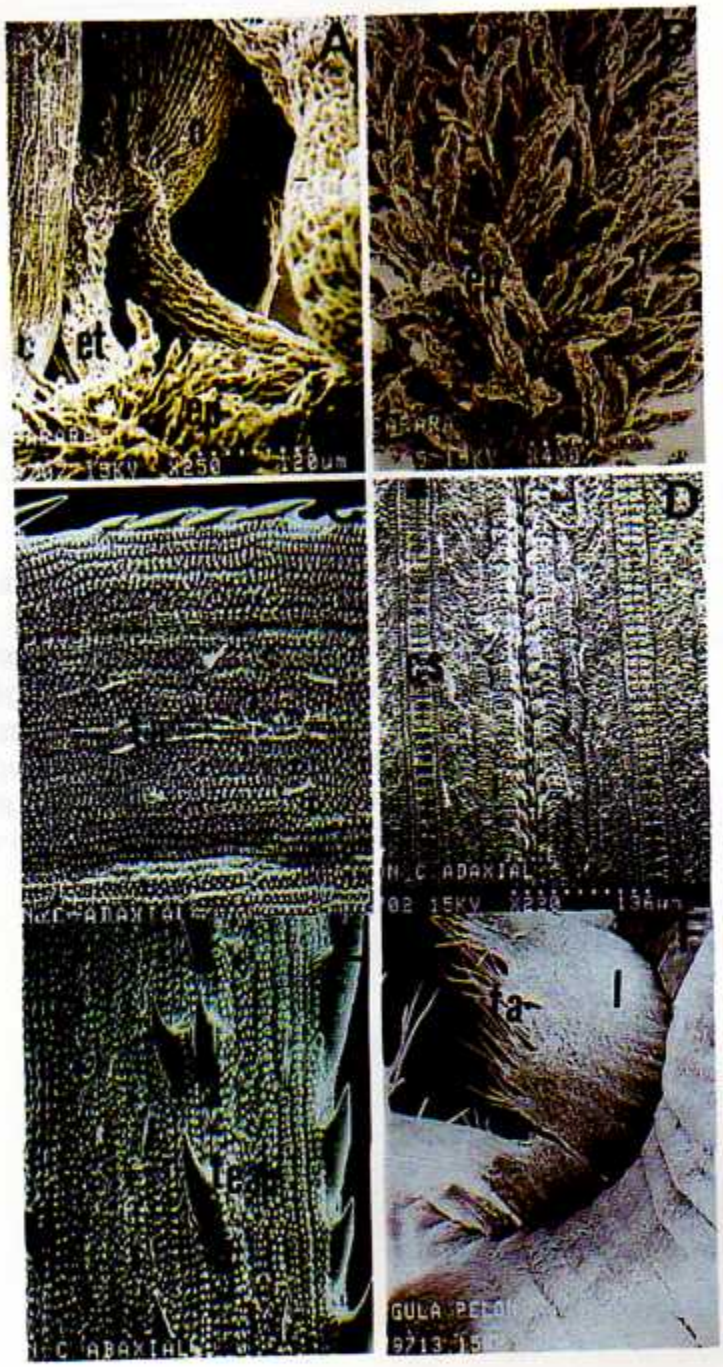

A
B
C
D
E
et
ar
ta
GULA PELAG

Figura 10

Micrografías de la lígula, las aurículas y la espiguilla de *O. latifolia* (Pelón).

a. Detalle de los tricomas espinosos (te) de la superficie de la lígula (l) y del extremo distal truncado con tricomas atenuados cortos (ta).
b. Se observa las aurículas (a) curvas y envolventes y la lígula (l) truncada.
c. Detalle de las aurículas (a). Presenta tricomas atenuados (ta) en sus bordes.
d. Espiguilla mostrando las lemas estériles (le) lanceoladas, las lemas fértiles (lf) lignificadas, mostrando espinas (esp) evidentes. También aparecen tres anteras (an) y los estigmas de aspecto plumoso (ep).
e. Detalle del ovario (o) y los estigmas (ep).
f. La espiguilla, se observa las lemas fértiles (lf), los filamentos de las anteras (f) y los estilos (et) que unen los estigmas con el ovario.

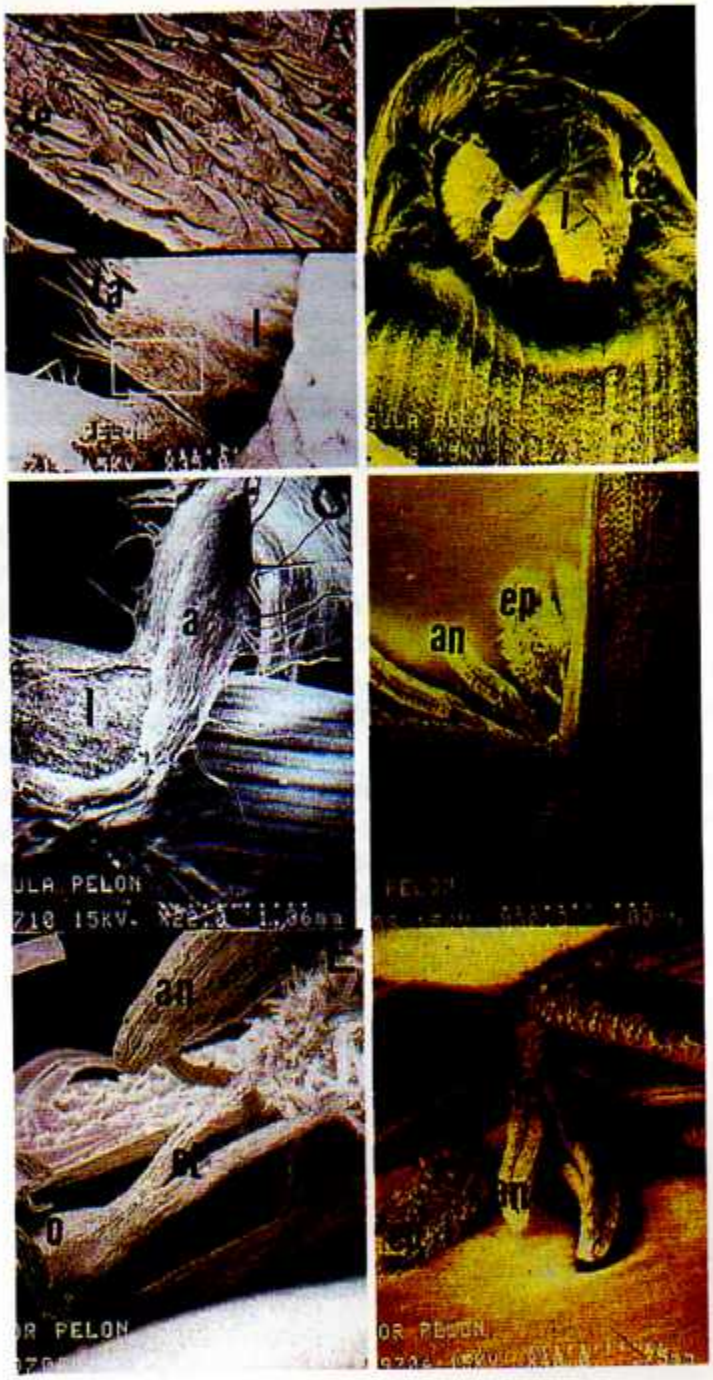

ep
an
an
PELON
PELON

Figura 11

Micrografías que muestran el detalle de las zonas adaxial y abaxial de la lámina foliar de *O. rufipogon*.

a. Se aprecian los tricomas hirsutos (th), característica distintiva de esta especie.
b. Detalle de las papilas alargadas (pa), con un tricoma hirsuto (th) y un tricoma espino abultado (teab).
c. Detalle del patrón de cera en forma de bastoncillos y un estoma (e) rodeado de papilas cerosas alargadas (pa).
d. Observamos un detalle de las células de sílice (cs) en forma de cremayera y el borde adaxial formado por tricomas espinosos (te) de varios tamaños.
e. Nótese los estomas (e) carentes de papilas en sus células guarda.
f. Patrón característico de la zona abaxial. Con poca cantidad de tricomas hirsutos (th). Se nota la venación paralela (v). Las venas están cubiertas con papilas globulares.

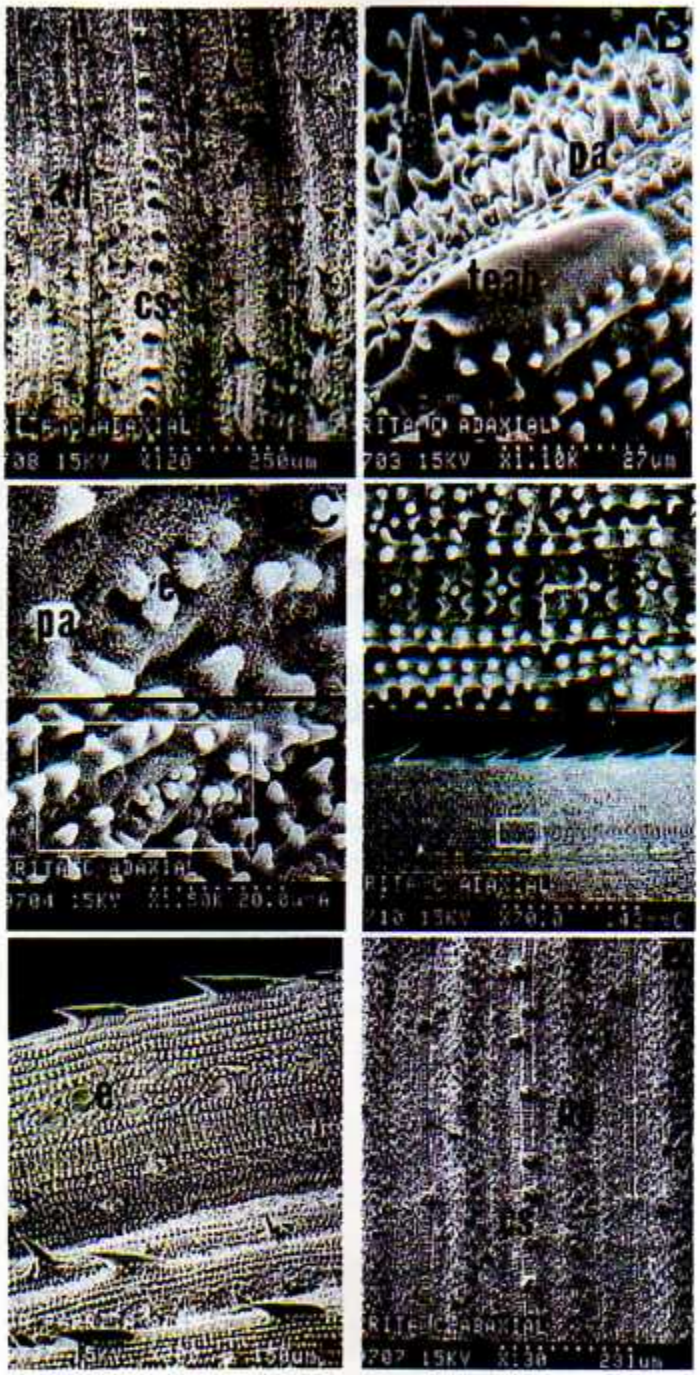

cs
B
pa
teab
C
pa
e
e
cs

Figura 12

Micrografías de la zonas abaxial de la lámina foliar, las aurículas, la lígula y la espiguilla de *O. rufipogon*.

a. Detalle de la cera de las papilas globulares grandes (pgg).
b. Vena central (vc) cubierta por papilas globulares grandes (pgg) y papilas bilobuladas pequeñas (pb).
c. Auríulas (a) rizoides, en sus bordes se observan tricomas largos atenuados (ta).
d. Células alargadas (ca) recubriendo la base de los tricomas largos (ta).
e. La lígula (l) es aguda, su extremo distal es bífido y mide *ca.* 45 mm. Esta cubierta de hileras de papilas muy pequeñas y tricomas espinosos abultados (teab) pequeños.
f. Extremo distal de la espiguilla, con una antera (an), la base de la arista (ar) con abundantes tricomas espinosos (esp) y el apículo (ap).

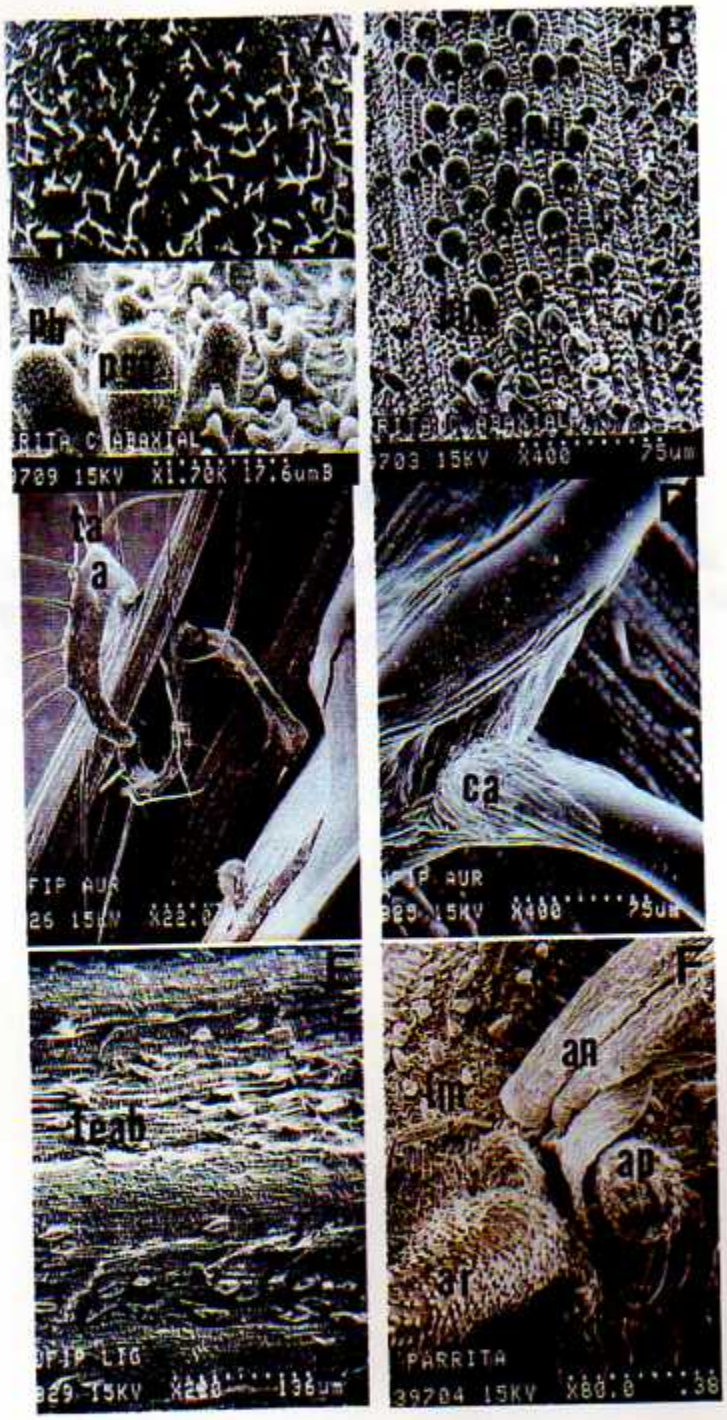

A
B
pb
ca
a
ca
F
ar
PARRITA
39704 15KV X80.0 38

Figura 13

Micrografías de la espiguilla de *O. rufipogon*.

Se observa las lemas estériles (le) serradas. Las lemas fértiles, la lema (lm) y la pálea (p) lignificadas y cubiertas de espinas (esp). Se nota una antera (an), el apículo (ap), la raquilla (r) y el pedicelo (pd).

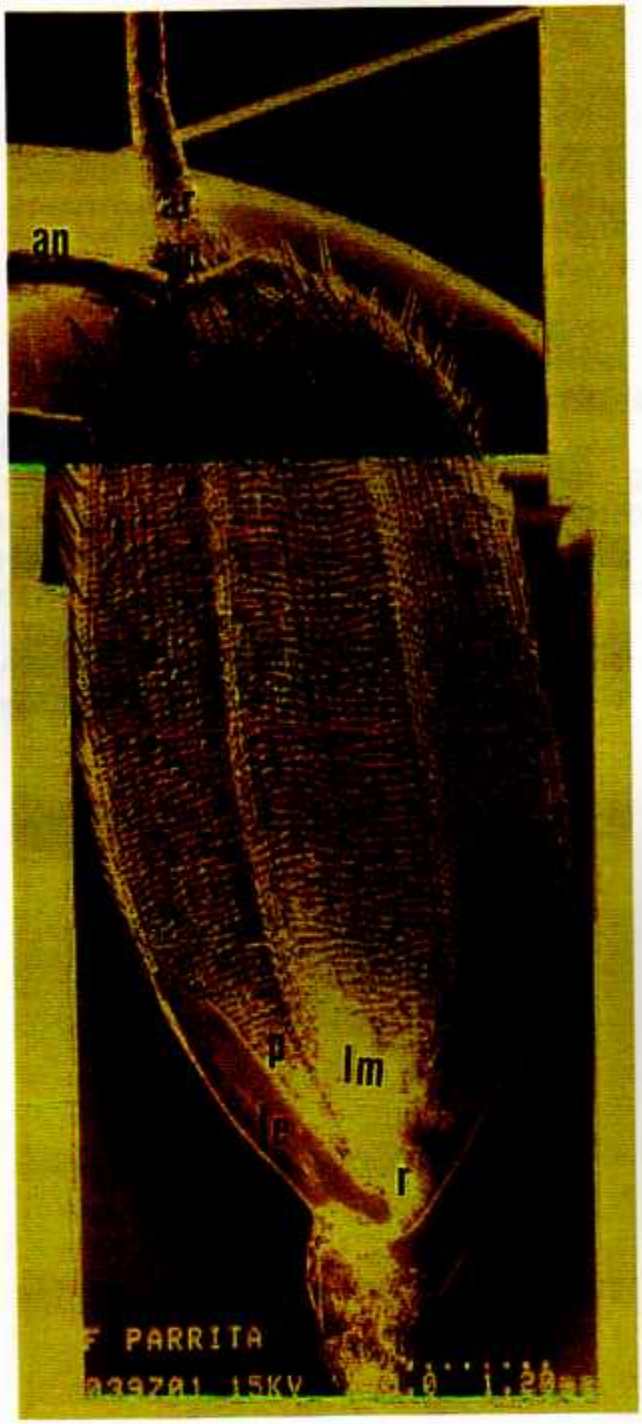

an
p
lm
lp
r
PARRITA
039701 15KV

Figura 14

Micrografías de las lemas y la cariópside de *O. rufipogon*.

a. Base de la espiguilla: se observa las lemas estériles (le), la raquilla (r) y parte de las lemas fértiles (lf).
b. Detalle de la pálea (p) con sus espinas (esp) y papilas lignificadas (pl) con una o dos proyeccciones. Se nota el aspecto coríaceo y los bordes irregulares de las lemas estériles (le).
c. Se observa dos estigmas plumosos (ep) que salen de la pálea (p).
d. Detalle de la base de la cariópside donde se visualiza el ojo (oj), el punto de inserción con la pálea. También se observa el embrión (em).
e. Cariópside (ga).

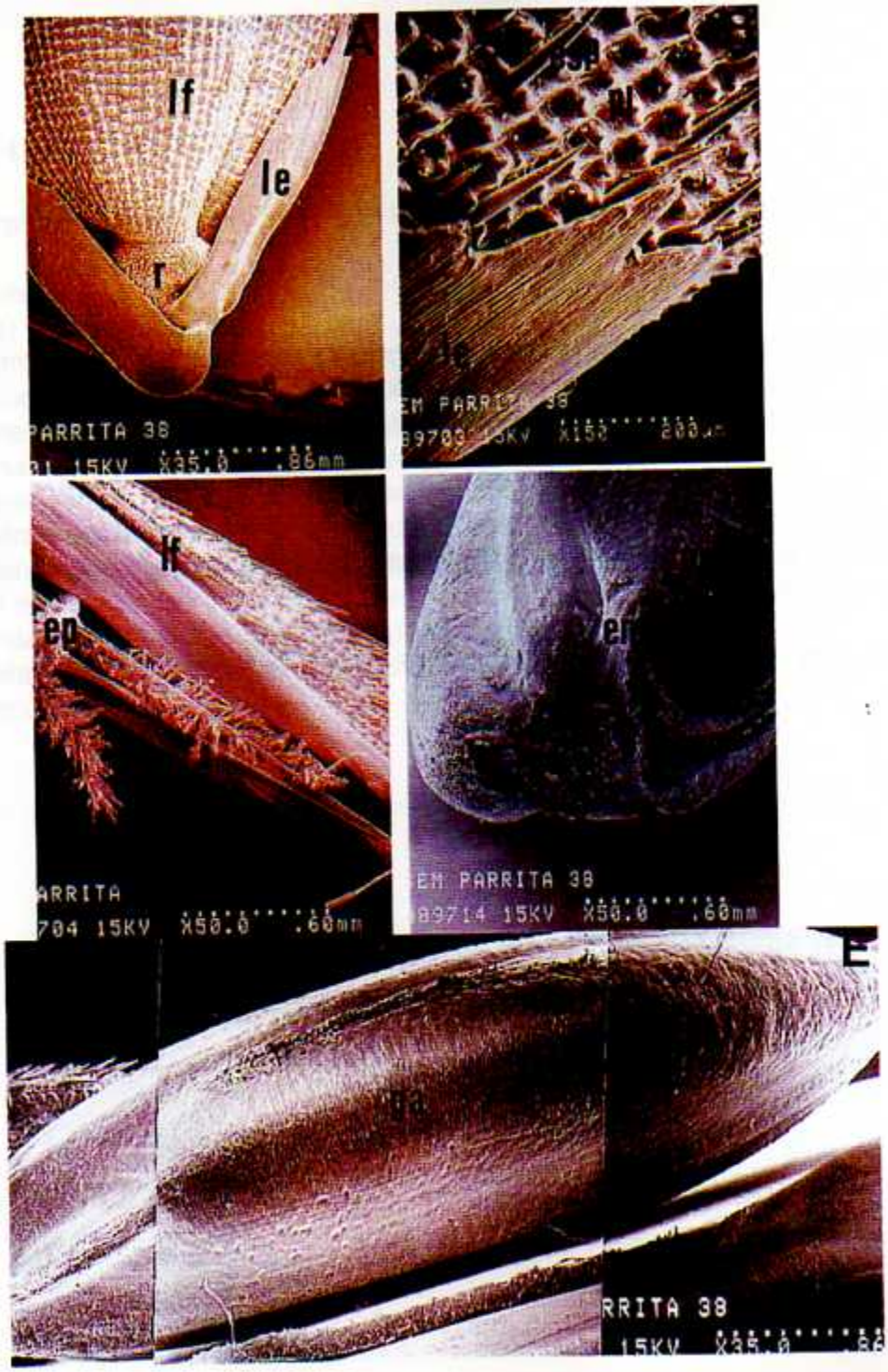

A
lf
le
t
PARRITA 38
15KV X35.0 .86mm
B
EM PARRITA 38
X150 200µm
lf
eq
ARRITA
704 15KV X50.0 .60mm
EM PARRITA 38
89714 15KV X50.0 .60mm
E
RRITA 38
15KV X35.0

Figura 15

Micrografías de las superficies de la lámina foliar de *O. glumaepatula*.

a. Muestra tres tipos morfológicos de papilas: En lápida (plap), alargadas (pa) y esferoides (pe).
b. Patrón celular de la zona adaxial, en su borde se aprecia una hilera de tricomas espinosos de base abultada (teab) y del mismo tamaño.
c. Muestra el patrón paralelo de la venación y el patrón epidérmico y se observan pocos tricomas hirsutos pequeños (th).
d. Vena central (vc) con abundantes papilas globulares grandes (pgg).
e. Patrón epidérmico de la superficie abaxial, en su borde se aprecia dos hileras de tricomas espinosos abultados (teab), se observa los estomas (e) rodeados de papilas y se aprecian en forma de rosetas, también se evidencia una hilera de células de sílice (cs) y grupos de papilas.
f. Detalle de un tricoma pequeño unicelular de estructura muy fina (recuadro).

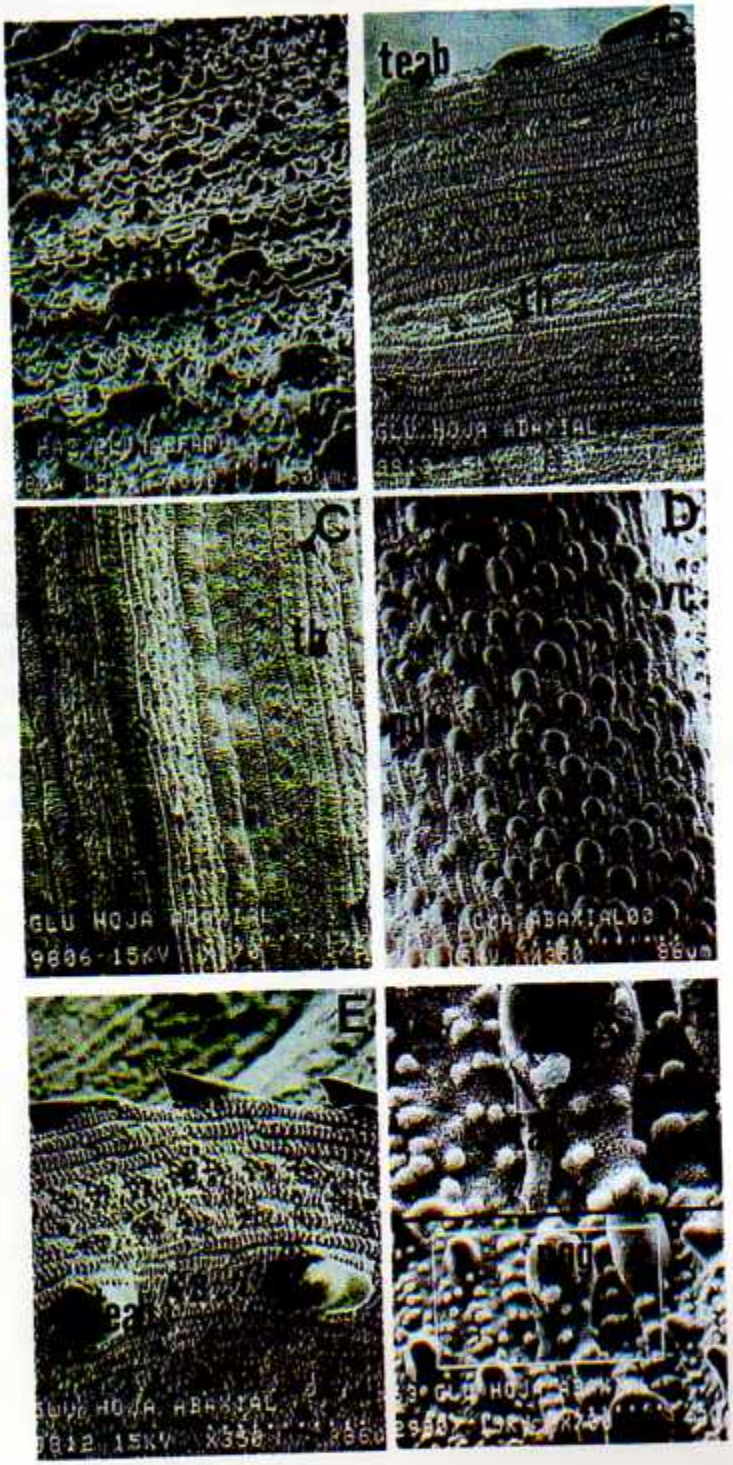

teab
B
GLU HOJA ADAXIAL
C
D
GLU HOJA ADAXIAL
9806-15KV
E
HOJA ABAXIAL
7812 15KV X350

Figura 16

Micrografías de las aurícula, la lígula y la antera de *O. glumaepatula*.

a. Aurículas (a) angostas en forma de rizo con tricomas largos atenuados (ta) en sus bordes.
b. Tricomas bicelulares (tb) de la superficie de la aurícula (a).
c. Células alargadas (ca) que envuelven la base de los tricomas atenuados (ta) largos de la aurícula (a).
d. Lígula (l) aguda y bífida, presenta un patrón epidérmico similar al de la lámina foliar.
e. Detalle de los tricomas tricomas atenuados (ta) pequeños de la lígula.
f. Zona distal de la antera (an). Se observa sus cuatro lóbulos.

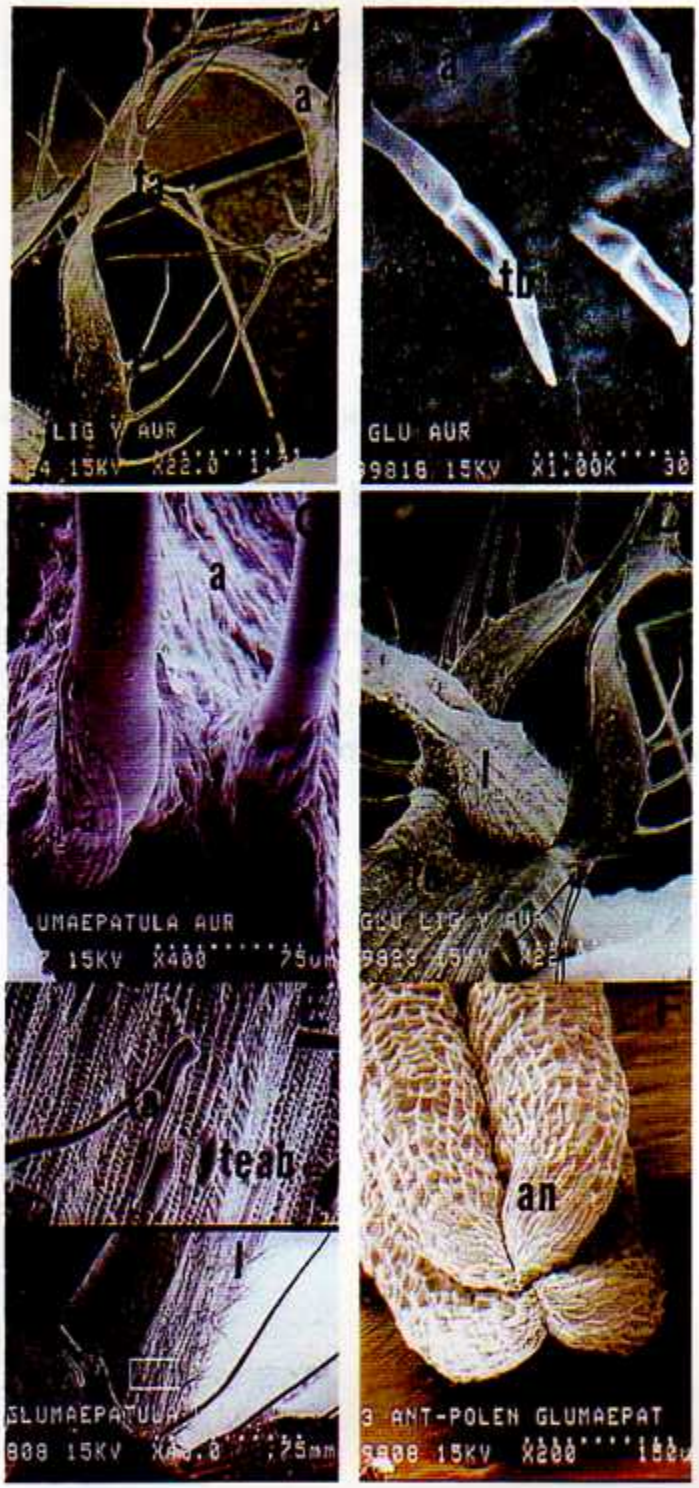

a
tb
LIG Y AUR
15KV X22.0
a
tb
GLU AUR
9818 15KV X1.00K
a
UMAEPATULA AUR
15KV X400
l
GLU LIG Y AUR
teab
l
GLUMAEPATULA
808 15KV
an
3 ANT-POLEN GLUMAEPAT
9808 15KV X200

Figura 17

Micrografías de la espiguilla de *O. glumaepatula*.

a. Lema (lm) y la pálea (p) lignificadas y la base de la arista (a). Presenta abundantes espinas (esp).
b. Observamos el extremo distal de una lema estéril (le), se observa el borde serrado y dentado, se nota un estigma plumoso (ep) y parte de una de las lemas fértiles (lf) con abundantes espinas (esp).
c. Se observa la raquilla (r), estructura que une las lemas.
d. Detalle de una lema estéril (le) con el borde dentado.
e. Detalle de las células del extremo distal de la antera (an), están cubiertas de cera.
f. Granos de polen (gp) monoporados.

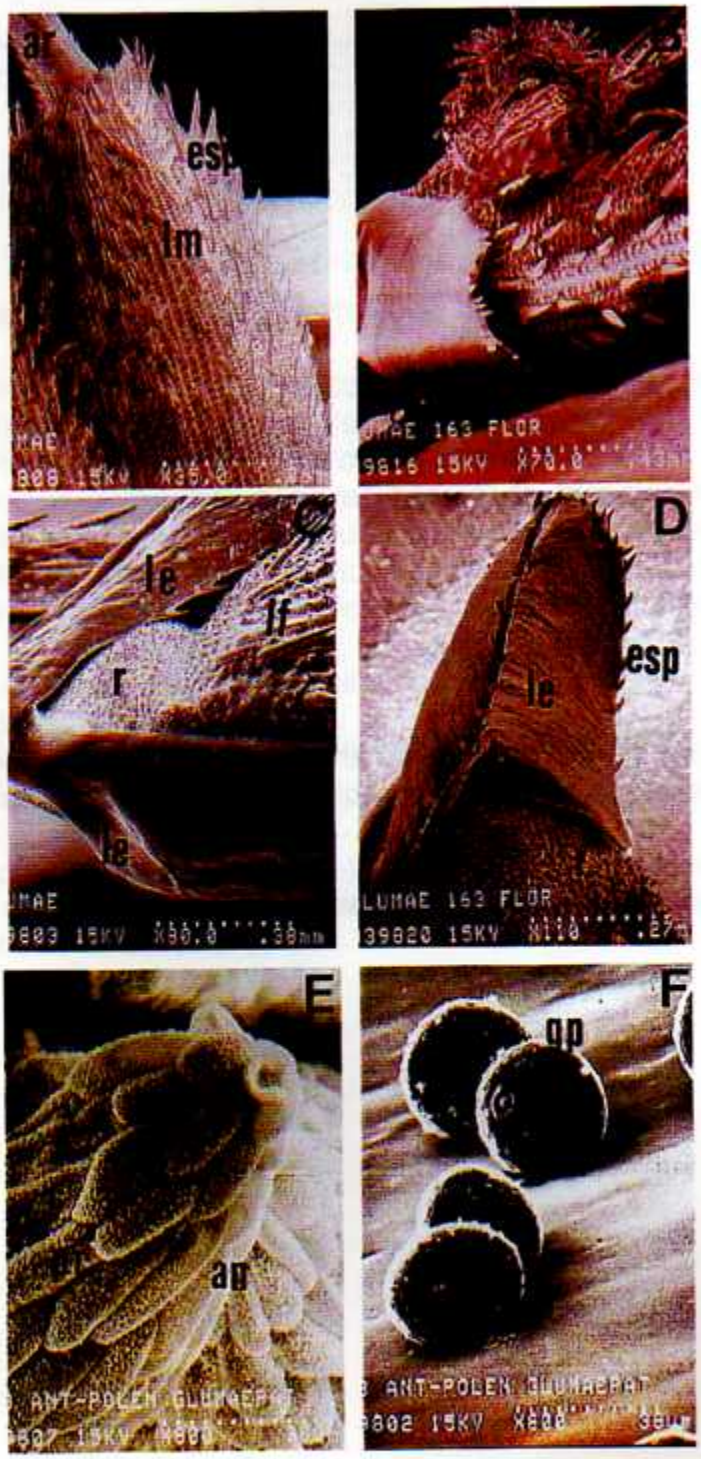

ar
esp
lm
le
lf
r
le
D
esp
le
E
ap
F
gp

Figura 18

Micrografías de las superficies de la lámina foliar de *O. grandiglumis.*

a. Patrón carácterístico de la epidermis, hay tricomas espinosos abultados (teab) y una hilera de tricomas espinosos (te) más pequeños. Se observa un patrón de cera cuticular denso.
b. Borde adaxial de la lámina, con tres hileras de tricomas espinosos alargados (tea) y otros espinosos abultados (teab) muy pequeños.
c. Borde abaxial con tres hileras de tricomas ganchudos (tg), espinosos abultados (teab) de diferentes tamaños y tricomas espinosos alargados (tea).
d. Se observa una distribución epidérmica bastante regular, se aprecia la distribución de las papilas en grupos.
e. Nótese los diferentes tipos de papilas (papilas esferoides (pe), papilas globulares (pg) y papilas alargadas (pa)) que cubren la lámina foliar de esta especie
f. Tricoma espinoso abultado (teab), con papilas esferoides (pe) pequeñas a ambos lados. Las células de sílice (cs) están recubiertas por gran cantidad de cera cuticular.

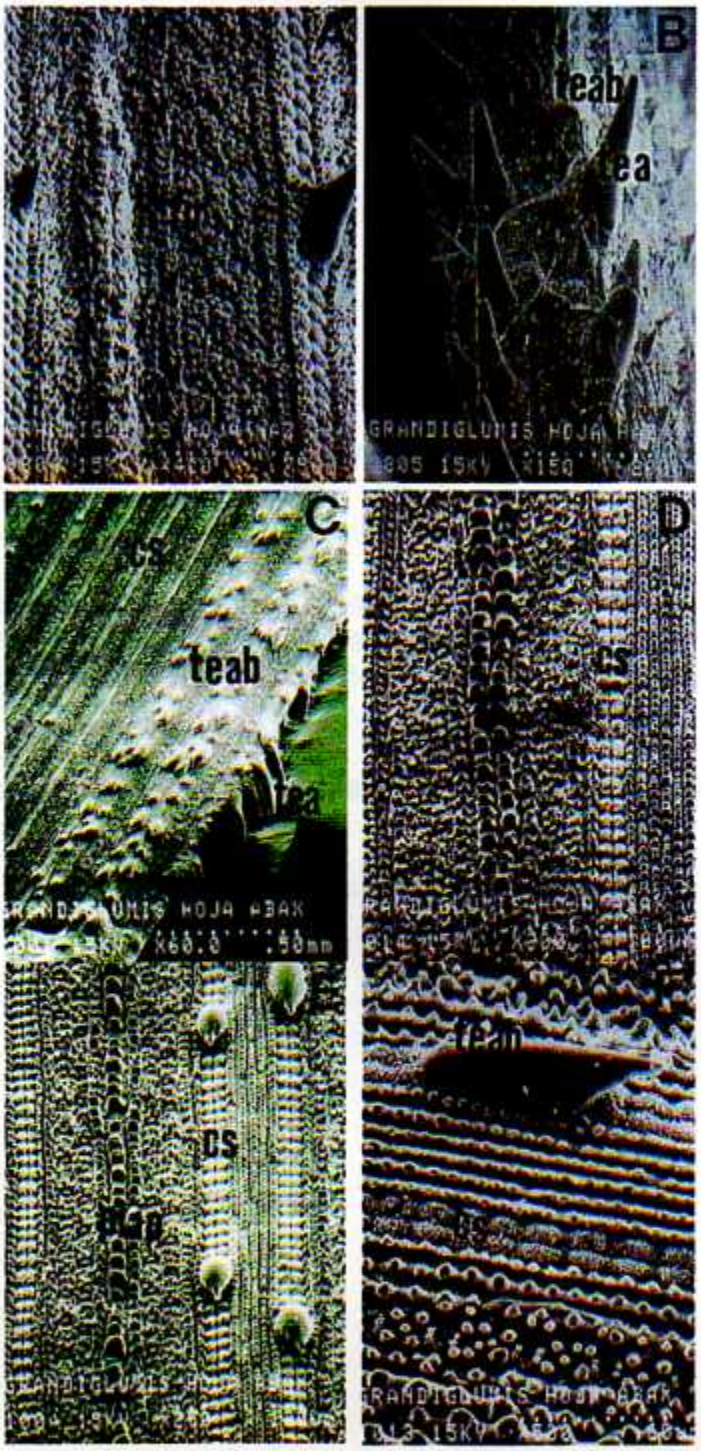

A
B
teab
tea
GRANDIGLUMIS HOJA
C
cs
teab
tea
X60.0
.50mm
cs
D
cs
teab

Figura 19

Micrografías de la lígula, aurículas y espiguillas de *O. grandiglumis*.

a. Aurículas (a) curvas y envolventes con abundantes tricomas pequeños y atenuados (ta) largos en el borde.
b. Células alargadas (ca) que envuelven los tricomas atenuados (ta) de las aurículas.
c. Lígula (l) de extremo distal truncado, mide *ca*. 3 mm, tiene abundantes tricomas, tanto cortos como atenuados (ta).
d. Espiguilla mostrando las lemas fértiles (lf) con abundantes espinas (esp). Las lemas estériles (le) son lanceoladas, dentadas y con pocas espinas en la superficie.
e. El apículo (ap), extremo terminal de la espiguilla, con gran cantidad de tricomas espinosos (esp).
f. Corona de espinas ubicadas entre las lemas y la raquilla.

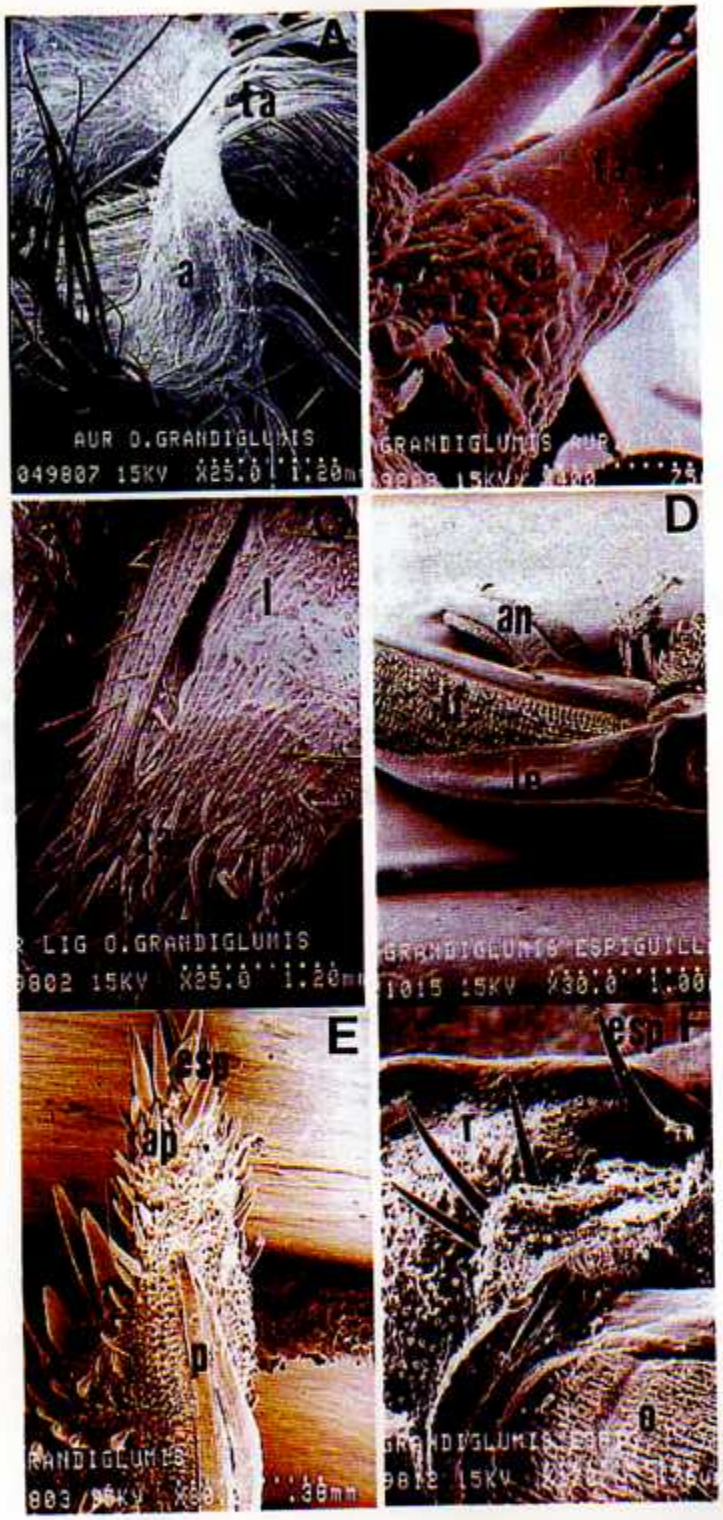

A
fa
a
AUR O.GRANDIGLUMIS
049807 15KV X25.0 1.20m
GRANDIGLUMIS
l
LIG O.GRANDIGLUMIS
9802 15KV X25.0 1.20m
D
an
GRANDIGLUMIS ESPIGUILL
1015 15KV X30.0 1.00
E
esp
rab
p
.30mm
esp
r
9812 15KV

Figura 20

Micrografías de las espiguillas de *O. grandiglumis.*

a. Estomas (e) de la base de las lemas estériles (le).
b. Se observa las lemas estériles (le) de forma lanceolada y borde dentado y una parte de las lemas fértiles (lf) abiertas.
c. Espinas (esp) de las lemas fértiles (lf).
d. Anteras (an) basifijas formadas por cuatro lóbulos.
e. Ovario (o) globular, donde nacen los dos estilos (et).
f. Detalle de las papilas (pap) que forman los estigmas.

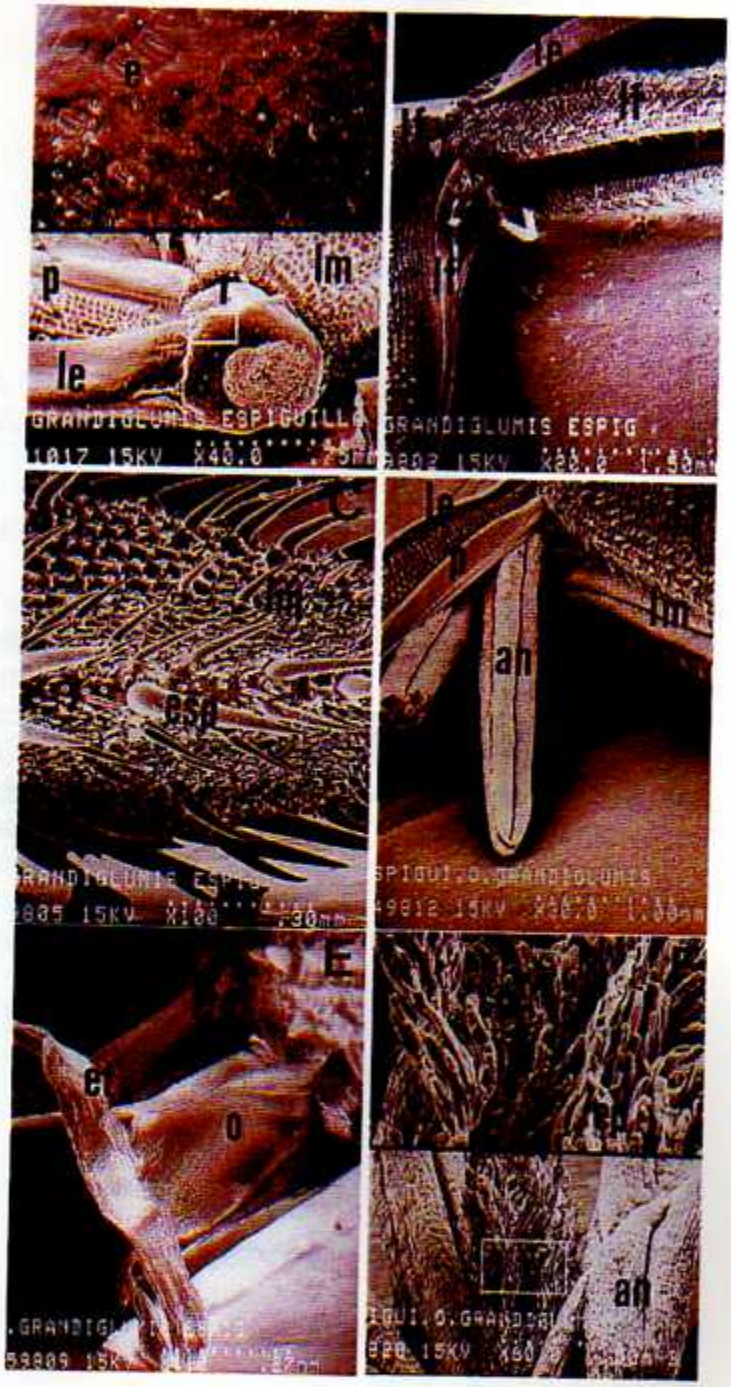
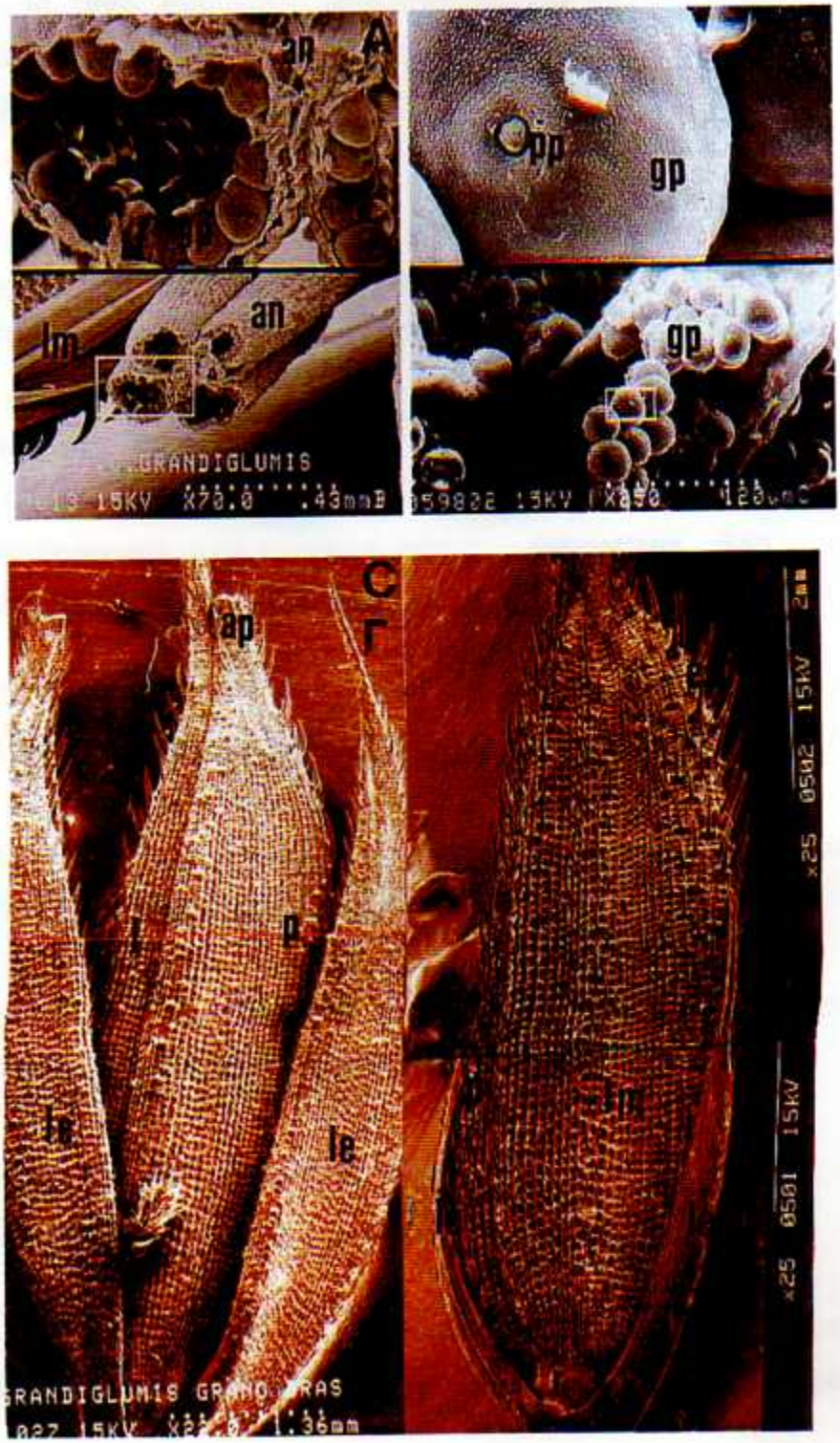

p
lm
le
GRANDIGLUMIS ESPIGUILLA
GRANDIGLUMIS ESPIG
C
lm
eso
le
lm
an
E
e
o
an

Figura 21

Micrografías de las anteras y del grano de polen de *O. grandiglumis* y de la espiguilla de *O. grandiglumis* de Brasil y la cariópside de *O. grandiglumis* de Costa Rica.

a. Sección de una antera (an) mostrando la distribución de los granos de polen (gp).
b. Detalle de la ornamentación sencilla de la exina (ex) y el poro (pp) del grano de polen.
c. Espiguilla de la especie brasileña. Las lemas estériles (le) son del mismo tamaño de las lemas fértiles (lf) y tienen el mismo patrón epidérmico.
d. Espiguilla de la especie costarricense. Las lemas estériles (le) cubren *ca.* la mitad de las lemas fértiles (lf), pero el patrón epidérmico es coriáceo, con bordes dentados y con algunas espinas en la superficie.


A
an
lm
an
GRANDIGLUMIS
15KV
Opp
gp
gp
C
ap
p
le
le
GRANDIGLUMIS
1.36mm
15KV
x25
2mm
15KV
x25

LITERATURA CITADA

Akimoto, M. 1998. Population genetic structure of wild rice *Oryza glumaepatula* Steud distributed in the Amazon fload area influenced by-history traits. Molec. Ecol., 7 (pre impresión).

Chang, T. T. 1976. Manual on genetic conservation of rice germplasm for evaluation and utilization. International Rice Research Institute, Manila, Filipinas 77 p.

Charpantier, F. 1988. Aspectos Agroclimáticos y zonificación del cultivo del arroz (*Oryza sativa* L.). Secretaría Ejecutiva de Planificación sectorial agropecuaria y de recursos naturales renovables. San José, Costa Rica. 23p.

Clark, C. A. & Gould, F. W. 1975. Some epidermal characteristics of paleas of *Dichanthelium, Panicum* and *Echinochloa*. Amer. J. Bot. 62(7):743-748.

Clark, L. 1998. Curso especial de gramíneas. Escuela de Biología, Universidad de Costa Rica. 75p.

Contín, A. 1979. Cultivo del arroz. Manual de producción. 2ª edición. Editorial Limusa, S. A. México. P 1-48.

Duistermaat, H. 1987. A revision of *Oryza* (Gramineae) in Malaysia and Australia. Blumea 32:157-193.

Echlin, P. 1968. The use of the scanning reflection electron microscope in the study of plant and microbial material. J. R. Microsc. Soc. 88:407-418.

Eglinton, G. & Hamilton, R. 1967. Leaf cuticular waxes. Science 156:1322-1335.

González, J; Rosero, M. & Arregocés, O. 1985. Morfología de la planta de arroz En: Arroz: Investigación y producción. Eds. Tascón, E. & García, E. PNUD/CIAT.

Heinreich, E. A ; Medrano, F. G. & Rapusas, H. R. 1985. Genetic evaluation for insect resistance in rice. International Rice Research Institute (IIRI), Los Baños, Filipinas.

Herrera, D. & Jiménez, M. 1992. El comercio internacional de granos básicos en Centroamérica. Instituto Interamericano de Cooperación para la agricultura (IICA). OEA, Coronado, San José, Costa Rica. 196p.

Heywood, V. H. 1969. Scanning electron microscopy in the study of plant materials. Micron. 1:1-14.

Hoagland, R. E. & Paul, R. N. 1978. Comparative SEM study of red rice and several commerical rice (*Oryza sativa*) varieties. Issue 26(6) Nov. :619-625.

IICA. 1993. Agriculture in the Americas at the begining of the 1990s., Vol:1. Instituto Interamericano de Cooperación para la Agricultura (IICA), OEA, Coronado, San José, Costa Rica 79p.

Jena, K.K. & Kochert, G. 1991. Restriction fragment length polymorphisms analysis of CCDD genome species of the genus *Oryza* L. Plant Molecular Biology 16:831-834.

Juniper, B. E. 1957. The effect of pre-emergent treatment of peas with trichloroacetic acid on the submicroscopic structure of the leaf surface. New Phytol. 58:1-5.

Juniper, B. E. & Bradley, D. E. 1958. The carbon replica technique in the study of the ultrastructure of leaf surfaces. J. Ultrastruct. Res. 21:16-27.

Karnovsky, M. J. 1965. A formadehyde-glutaraldehyde fixative of high osmolarity for use in electron microscopy. J. Cell Biol. 27: 137A.

León J. 1987. Botánica de los cultivos tropicales. Editorial del Instituto Interamericano de Cooperación para la Agricultura (IICA). Segunda Edición. Coronado San José, Costa Rica, pp 120-126

Memorias del Primer Congreso Arrocero Nacional. Julio 1998, San José, Costa Rica.

Metcalfe, C.R. 1960. Anatomy of the Monocotyledons I. Gramineae. Oxford at the Clarendon Press. Royal Botanic Gardens, Rew pp 340-343.

Montiel, M. B. 1972. Determinación taxonómica de la especie *Chaetium bromoides* (Presl) Benth. Basada en el estudio anatómico. Rev. Bil. Trop. 20(1):45-79.

Montiel, M. B. 1994. Introducción a la flora de Costa Rica. Editorial de la Universidad de Costa Rica, Tercera Edición. San Pedro de Montes de Oca. San José, Costa Rica. Pp 189-194.

Montiel, M. B. & Kozuka, Y. 1994. Los pólenes de gramíneas y su relación con alergias en el Neotrópico: el caso de Costa Rica. Rev. Biol. Trop. 42(Supl.1):1-83.

Morishima, H. 1994. Background information about *Oryza* species in tropical America. *In*: Investigations of plant genetic resources in the American basin

with emphasis on the genus *Oryza:* Report of 1992 / 93 Amazon Project; Monbusho International Scientific Res. Prog.

Morishima, H. & Martins, P. 1993. Investigations of plant genetic resources in the Amazon Basin with the emphasis on the genus *Oryza*. Report of 1992/1993 Amazon Proyect. The Mombusho International Scientific Research Program. Japan Research Suppor Foundation of the Staate of Sao Paulo, Brasil. 96p.

Morishima, H.; Sano Y. & Hiko-Ichi O. 1992. Evolutionary studies in cultivated rice and it's wild relatives. Oxford surrves in Evol. Biol. 8:135-184.

Moore, P. D., Webb, J. A. 1983. An illustrated guide to pollen analysis. Hodder and Stoughton, Londres.

Moore, P.D. , Webb, J. A. , Collison, M. E. 1991. Pollen analysis. Blackwell Scientific, Oxford, Inglaterra.

Moreira, I. 1998. Estudio ultraestructural de las estructuras reproductoras del Cristóbal (*Platymiscium pinnatum*). Datos sin publicar.

Moreira, I. , Arnáez, E. 1994. Morfología de las estructuras reproductoras y germinación de nueve especies forestales nativas de Costa Rica. Rev. Biol. Trop. 42(Supl. 2):73-82.

Ocampo, R. A. 1985. Incidencia de plantas indeseables en el cultivo del arroz (*Oryza sativa*) en el cantón de Aguirre y Parrita. Tesis de Licenciatura. Facultad de Agronomía. Universidad de Costa Rica. San Pedro de Montes de Oca, San José, Costa Rica. 102p.

Oka, H. 1961. Report of trip for investigation of rice in Latin America. (mimeo.)

Oka, H. I. 1988. Origin of cultivated rice. Blavier / Sci. Soc. Press. Amsterdam / Tokio.

Payne, W. W. 1978. A glossary of plant hair terminology. Brittonia 30:230-255.

Pohl, W. R. 1978. How to know the grasses. Tercera edición. Bubuque, Iowa: Wm. C. Brown Co.

Pohl, W. R. 1980. Flora costaricensis, Family N° 15, Gramineae. Edición W. Burger, Fieldiana Botany. 680 p.

Ronald, P.C. 1997. Making rice disease-resistant. Scient. Amer. Nov.

Samuel, B. J. 1988. Sistemática Vegetal. Traducido de la Segunda Edición en inglés. Fuentes Impresores, S. A. México. 536 p.

Sanint, L. 1996. Impact of rice research in Latin American and the Caribean during the last three decades. Impact of rice research IRRI-TRDI, Bangkok, Thailand.

Second, G. 1985. Evolutionary relation ships in the *sativa* group of *Oryza* based on isozyme date. Genet. Sel. Evol. 17:89-114.

Stant, M. Y. 1973. Scanning electron microscop silica bodies and other epidermal features in *basis* (*Tradescantia*) leaf. Bot. J. Linn. Soc. 233-244.

Swaminathan, M.S. 1986. Plant research and world agriculture. Plant Mol. Biol. Rep. 4:1-17.

Tateoka, T. 1962a. Taxonomic studies of *Oryza* I. *O. latifolia* Complex. Bot. Mag. Tokyo 75:418-427.

Tateoka, T. 1962b. Taxonomic sutudies of *Oryza* II. Several species Complex. Bot. Mag. Tokyo 75:455-461.

Tateoka, T. 1965. *Porteresia*, a new genus of Gramineae. Bull Natl. Sci. Mus. Tokyo. 8:405-406F. 1,2.

Vaughan, D. A. 1989. The genus *Oryza* L. current status of taxonomy. IRPS. 138:1-21. IRRI, Manila Filipinas.

Vaughan, D. A. 1994. The wild relatives of rice. A genetic resources Hand Book. International Rice Research Institute (IRRI). Manila, Filipinas. 130p.

Watson, L. & Gibbs, A. J. 1974. Taxonomic patterns in the host ranges of viruses among grasses, ang suggestions on generic sampling for host-range studies. Ann appl. Biol. 77:23-32.

Zamora, A., González P., Lobo J. A., Quesada, C., Muñoz, C., Gámez, L., Espinoza, A.M. 1999. Wild rice (Poaceae: *Oryza*) species of Costa Rica diversity, distribution and potencial use as a source of genes for rice improvement. (en preparación).

ANEXOS

Anexo 1

Clave de tricomas para la identificación de las especies de *Oryza* de Costa Rica

1. Lámina foliar con tricomas hirsutos 2
1. Lámina foliar con tricomas atenuados y sin tricomas hirsutos ..... *O. sativa* (Fig. 1a)

2. Tricomas hirsutos pequeños *ca.* 30 μm y escasos..... 3
2. Tricomas hirsutos grandes (de 40-97 μm) y abundantes ..... *O. rufipogon* (Fig. 11a)

3. Borde abaxial de la lámina foliar con 3 hileras de tricomas espinosos alargados y espinosos abultados de diferentes tamaños ..... *O. grandiglumis* (Fig. 18c)
3. Borde abaxial de la lámina foliar con 2 hileras de tricomas espinosos abultados de *ca.* el mismo tamaño. ..... *O. glumaepatula* (Fig. 18e)

Anexo 2

Clave de la lígula para identificar las especies de *Oryza* de Costa Rica

1. Lígual bífida sin tricomas atenuados en el extremo distal 2
1. Lígula truncada con tricomas atenuados en el extremo distal..... 4

2. Superficie de la lígula con tricomas atenuados de 100 µm ..... *O. glumaepatula* (Fig. 16e)
2. Superficie de la lígula sin tricomas atenuados 3

3. Tricomas espinosos abultados en la superficie de la lígula ..... *O. rufipogon* de *ca.* 22-49 µm
3. Tricomas espinosos abultados en la superficie de la lígula ..... *O. sativa* de *ca.* 70 µm (Fig. 2d)

4. Tricomas atenuados en el extremo distal de *ca.* 2 mm ..... *O. grandiglumis* (Fig. 19c)
4. Tricomas atenuados en el extremo distal de *ca.* 1 mm ..... *O. latifolia* (Fig. 9f)

Anexo 3

Clave de la espiguilla para identificar las especies de *Oryza* de Costa Rica

1. Espinas de las lemas fértiles abundantes y largas 2
1. Espinas de las lemas fértiles escasas y pequeñas ..... *O. sativa* (Fig. 3a)

2. Con corona de espinas entre la raquilla y las lemas fértiles ..... *O. grandiglumis* (Fig. 21f)
2. Sin corona de espinas entre la raquilla y las lemas fértiles 3

3. Lemas estériles lanceoladas, pequeñas y dentadas ..... *O. latifolia* (Fig. 7a)
3. Lemas fértiles no lanceoladas 4

4. Lemas estériles en forma de ala, de bordes irregulares y dentada ..... *O. glumaepatula* (Fig. 17b)
4. Lemas estériles en forma de ala, de bordes irregulares no dentadas ..... *O. rufipogon* (Fig. 14a y 14b)

Anexo 4

Clave sinóptica para identificar las especies de *Oryza* de Costa Rica

Simbología

1. *Oryza sativa* L. var. CR-5272
2. *Oryza rufipogon* Griff
3. *Oryza glumaepatula* Steud
4. *Oryza grandiglumis* (Doell) Prod
5. *Oryza latifolia* Desv (Cañas)
6. *Oryza latifolia* Desv (Carara)
7. *Oryza latifolia* Desv (Pelón)

1. Tricomas de la lámina foliar.

   a. Tricomas espinosos abultados 1,2,3,4,5,6,7.
   b. Tricomas atenuados de *ca.* 492 µm 1.
   c. Tricomas espinosos alargados en el borde 1,4.
   d. Tricomas hirsutos abundantes y de *ca.* 40-97 µm 2.
   e. Tricomas hirsutos pequeños y escasos de *ca.* 20 µm 1,3.
   f. Tricomas espinosos abultados, pequeños de *ca.* 20 µm 4,6.
   g. Tricomas espinosos ganchudos de varios tamaños, en el borde 5,7,2
   h. Tres hileras de tricomas en el borde abaxial, una hilera de espinosos ganchudos y dos de tricomas espinosos abultados 5,7
   i. Borde adaxial con una hilera de tricomas espinosos pequeños 6
   j. Borde abaxial con 3 hileras de tricomas, una de tricomas espinosos pequeños, la que sigue de tricomas espinosos abultados pequeños *ca.* 25µm y la tercera de tricomas espinosos abultados de *ca.* 75µm 6
   k. Borde adaxial de la lámina con una hilera de tricomas espinosos abultados de *ca.* 75 µm 3
   l. Borde abaxial de la lámina con dos hileras de tricomas espinosos abultados de *ca.* 75 µm 3
   m. Borde adaxial de la lámina con varias hileras de tricomas espinosos alargados y tricomas espinosos abultados de varios tamaños *ca.* 20-75µm 4
   n. Borde abaxial de la lámina foliar con tres hileras de tricomas, conteniendo cada una tricomas de varios tamaños, la hilera del borde

como m. y las otras dos hileras formadas por tricomas espinosos abultados de varios tamaños *ca.* 20-75 µm 4

2. Papilas cerosas de la lámina foliar.

   a. Papilas esferoides 1,2,3,4,5,6,7
   b. Papilas alargadas 1,2,3,4,5,6,7
   c. Papilas multilobuladas 1,2,3,4,5,6,7
   d. Papilas en forma de lápida 1,2,3,4,5,6,7.

3. Células de sílice de la lámina foliar.

   a. Células de sílice alternando con una célula con una papila cerosa esferoide 1,2,3,4,5,6,7
   b. Células de sílice en forma crenada 1,2,3,4,5,6,7.

4. Patrón cuticular de la lámina foliar.

   a. Patrón cuticular en forma de bastoncillos 1,2,3,4,5,6,7
   b. Patrón cuticular en forma de bastoncillos, muy denso 4

5. Estomas de la lámina foliar.

   a. Estomas rodeados por papilas formando una roceta 1,2,3,4,5,6,7
   b. Estomas sin papilas (desnudos) en el borde adaxial 2

6. Decoración de las venas centrales.

   a. Venas centrales sin o con pocas papilas 5,6,7
   b. Venas centrales con papilas globulares 2,3
   c. Venas centrales con papilas de diferentes formas 1,4

7. Forma de las aurículas.

   a. Rizoides 1,2,3
   b. Envolventes 4,6,7
   c. Rectangulares 5

8. Tricomas de las aurículas.

   a. Con tricomas atenuados largos en los bordes 1,2,3,4,5,6,7

b. Con tricomas atenuados largos en toda la estructura 5
c. Con tricomas espinosos pequeños en la superficie 1,2,4,6,7
d. Con tricomas espinosos bicelulares en la superficie 3
e. Base de los tricomas atenuados largos cubierta por células de varios tamaños 1,2,3,4,5,6,7

9. Forma de la lígula.

a. Bífida en el extremo distal 1,2,3
b. Cónica 6
c. Truncada en el extremo distal 4,5,7

10. Tricomas de la lígula.

a. Tricomas atenuados pequeños de *ca.* 100 μm en la superficie 3
b. Tricomas espinosos abultados de varios tamaños *ca.* 20-75μm 1,2,3,4, 5,6,7.
c. Tricomas atenuados largos en el extremo distal 4,5,6,7

11. Características de las lemas estériles de la espiguilla.

a. Lemas estériles aladas y pequeñas 2,3
b. Lemas estériles aladas y dentadas 3
c. Lemas estériles lanceoladas lisas 1
d. Lemas estériles lanceoladas pequeñas, dentadas y con espinas en la superficie 5,6,7
e. Lemas estériles lanceoladas grandes (50-80 % tamaño de lemas fértiles), dentadas, corrugadas y con espinas en la superficie 4
f. Estomas presentes en la base de las lemas estériles 1,2,3,4,5,6,7.

12. Características de las lemas fértiles.

a. Lemas fértiles con espinas pequeñas y escasas 1
b. Lemas fértiles con abundantes espinas de varios tamaños 2,3,4,5,6,7
c. Lemas fértiles con papilas de sílice con proyecciones a manera de espinas 1,2,3,4,5,6,7
d. Lema con cinco venas 1,2,3,4,5,6,7
e. Pálea con tres venas 1,2,3,4,5,6,7
f. Lema con apículo 1,7
g. Lema con arista 2,3,4,5,6
h. Lema sin arista 1,7
i. Pálea con apículo 1,2,3,4,5,6,7

13. Características de las anteras.

    a. Anteras en número de seis, basifijas y con cuatro lóbulos 1,2,3,4,5,6,7
    b. Células de las anteras cubiertas de cera 1,2,3,4,5,6,7

14. Características del gineceo.

    a. Ovario oblongo 1,2,3,4,5,6,7
    b. Dos estigmas plumosos 1,2,3,4,5,6,7

15. Características del grano de polen.

    a. Grano de polen esferoide y de *ca.* 36 µm de diámetro 1,2,3,4,5,6,7
    b. Exina del grano de polen de ornamentación sencilla 1,2,3,4,5,6,7
    c. Grano de polen monoporado 1,2,3,4,5,6,7.

Anexo 5

Comparación ultraestructural de las cariópsides de *O. grandiglumis* de Costa Rica y Brasil y *O. alta* de Brasil y Surinan

La especie *O. grandiglumis* de Costa Rica y de Brasil mostraron diferencias en el tamaño y la morfología de las lemas estériles de la espiguilla. En la especie *O. grandiglumis* encontrada en Brasil, el patrón epidérmico se observa muy similar al de las lemas fértiles y las cubre casi por completo (Fig. 21b), contrario a lo que se observa en *O. grandiglumis* encontrada en Costa Rica (Fig. 21c).

Para corroborar lo observado se analizaron cariópsides provenientes de ambos países. También se observaron cariópsides de *O. alta*, originarias de Surinan y Brasil. Esta especie es endémica de América y no se ha encontrado en Costa Rica. Esto se hizo con el fin de descartar la posibilidad de que la especie descrita en este trabajo como *O. grandiglumis*, pudiera corresponder a *O. alta*.

En las muestras analizadas se observó que la cariópside de *O. alta* presenta muy pocas espinas en las lemas fértiles, sus lemas estériles son pequeñas, miden ca. 2 mm, son casi lisas, con pocas espinas en la superficie, contrario a lo observado en la cariópside de *O. grandiglumis* presente en Costa Rica (Anexo 5: Figs. 1, 2).

En las cariópsides de *O. grandiglumis* de la especie de Brasil, se observó que la lema y la pálea presentan similitud al patrón epidérmico de la especie *O. grandiglumis* que se ha descrito para Costa Rica. También se encontró que otras presentan un patrón algo similar al de las lemas fértiles (Anexo 5: Figs. 3, 4, 5 y 6).

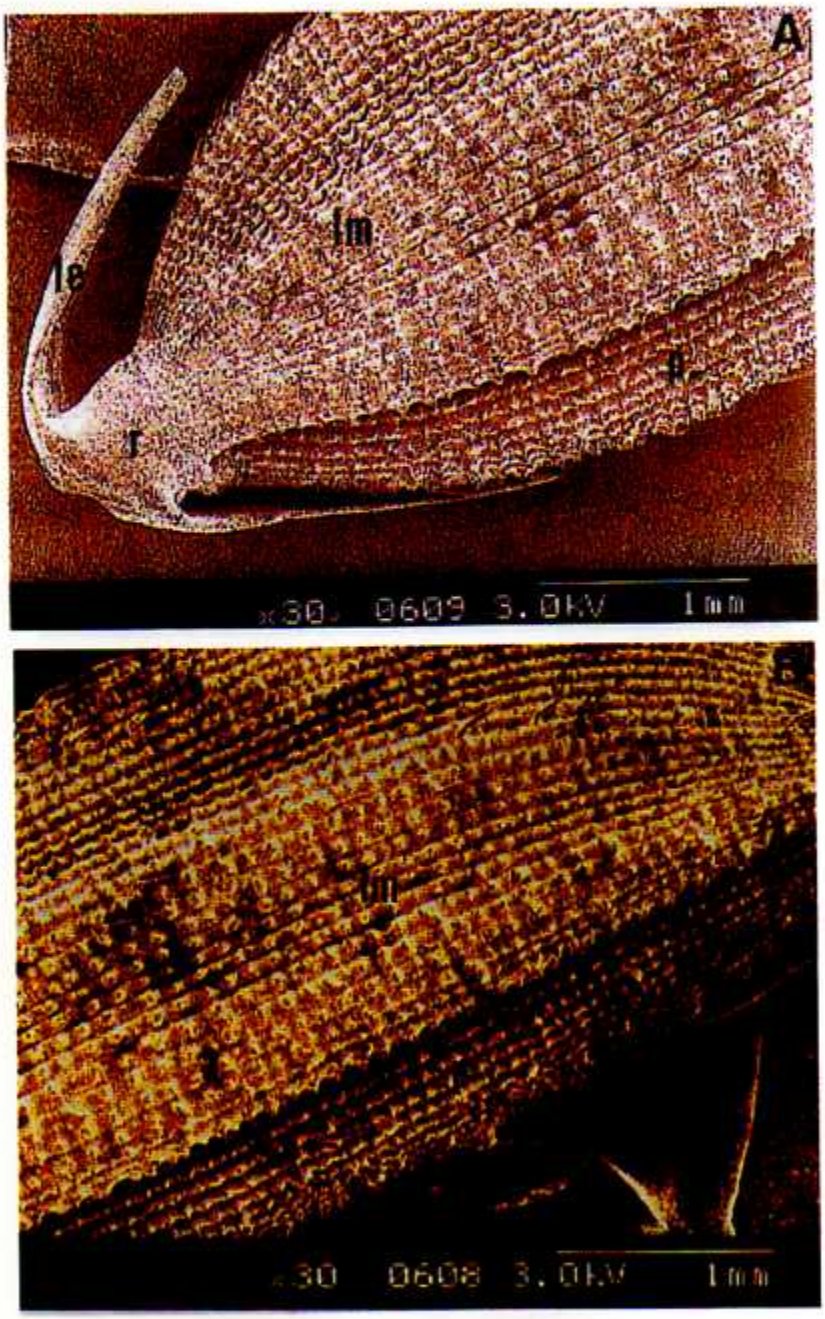


Fig. 1. Cariópside de *O. alta* proveniente de Surinam

a. Se observan las lemas fértiles y las estériles

b. Notamos las lemas estériles con pocas espinas

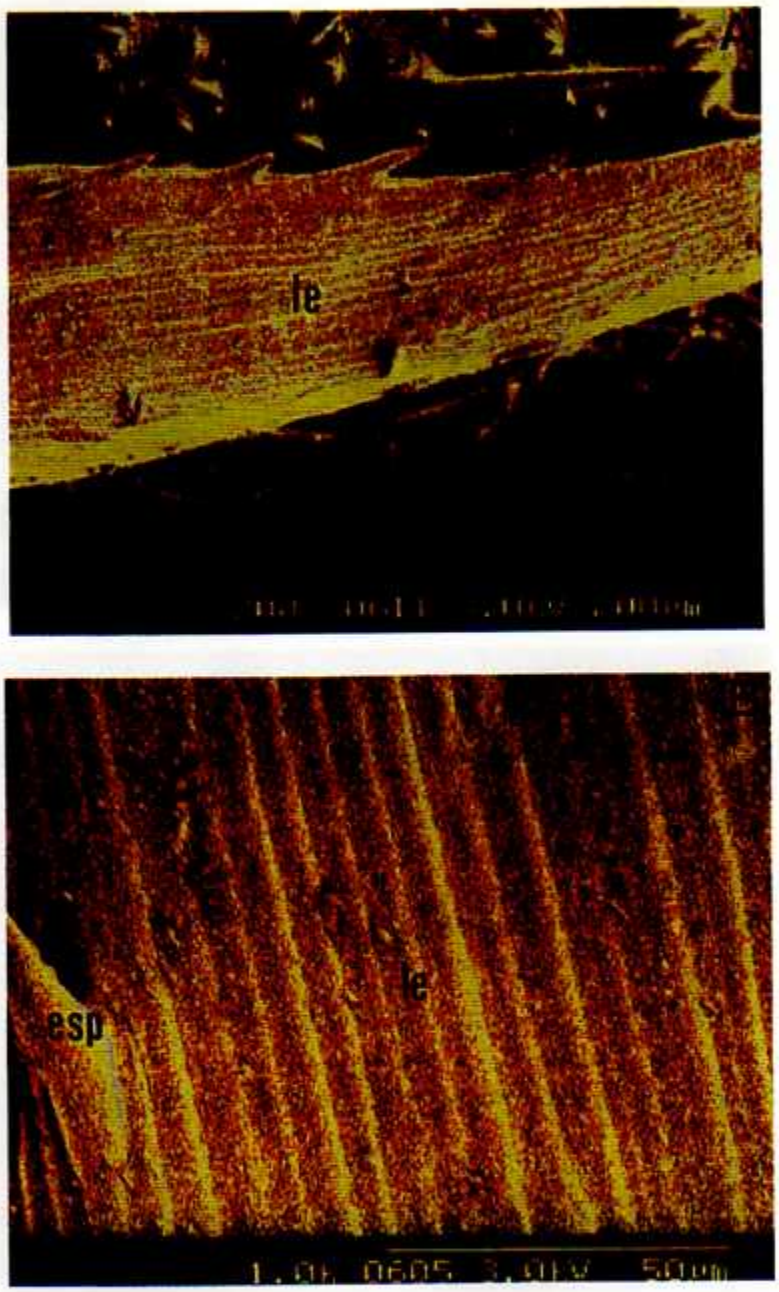


Fig. 2. Cariópside de *O. alta* proveniente de Brasil

a. Se observan las lemas fértiles y las lemas estériles

b. Las lemas estériles son lisas y con pocas espinas

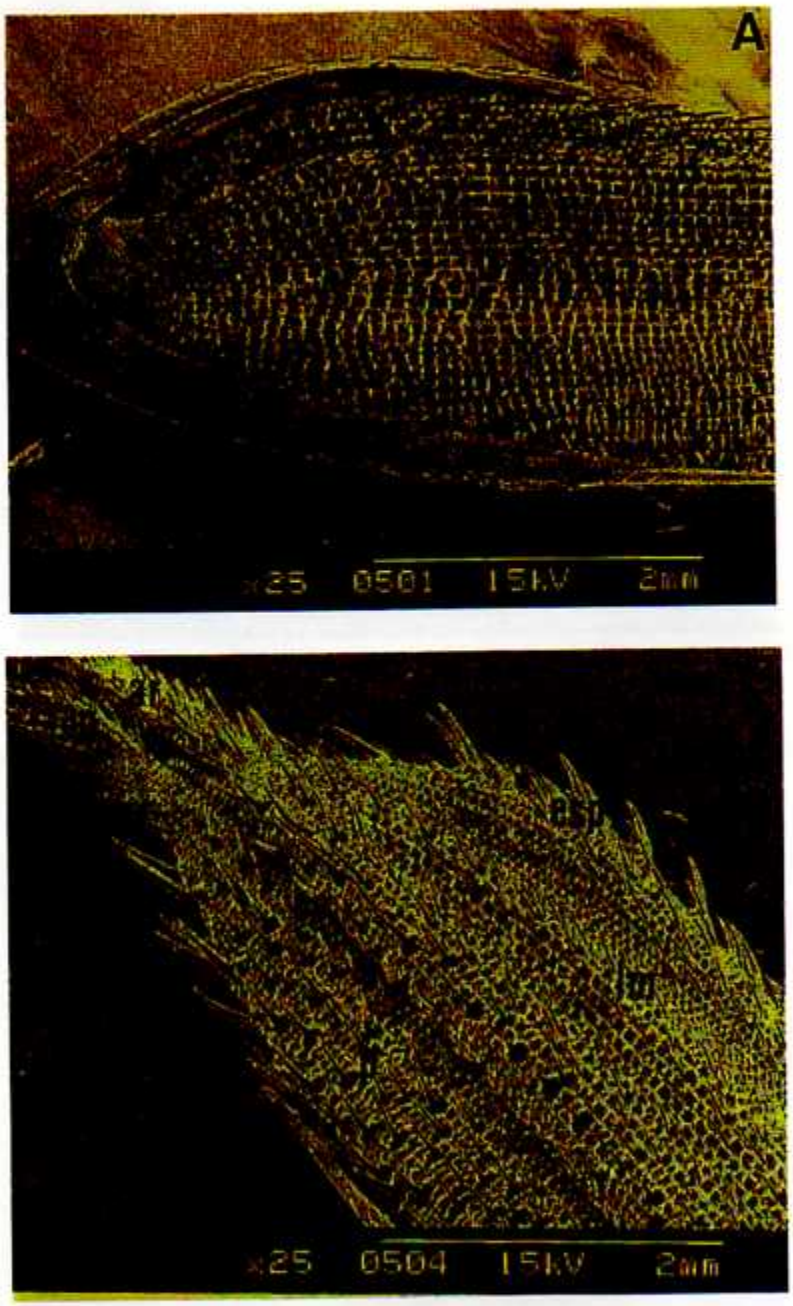
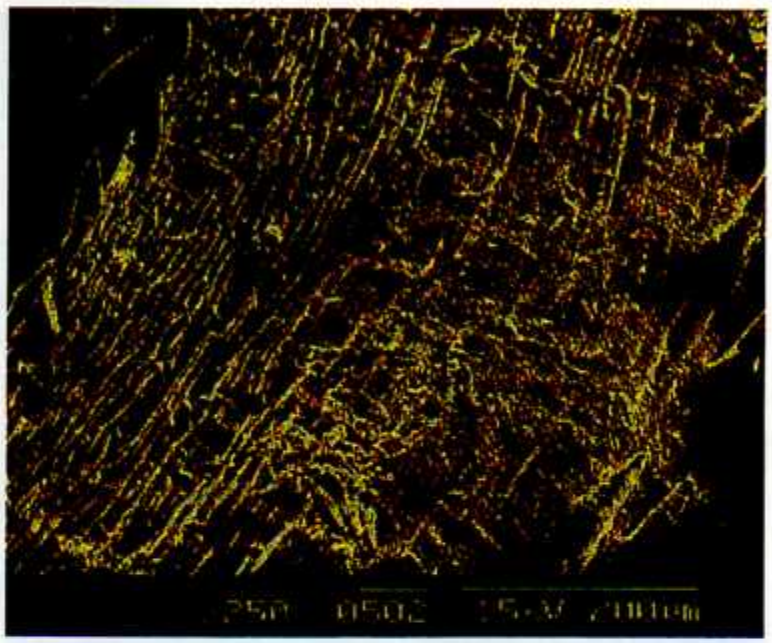


Fig. 3. Cariópside de *O. grandiglumis* proveniente de Costa Rica

a. Se observan las lemas fértiles y las lemas estériles.

b. Las lemas fértiles tienen gran cantidad de espinas.



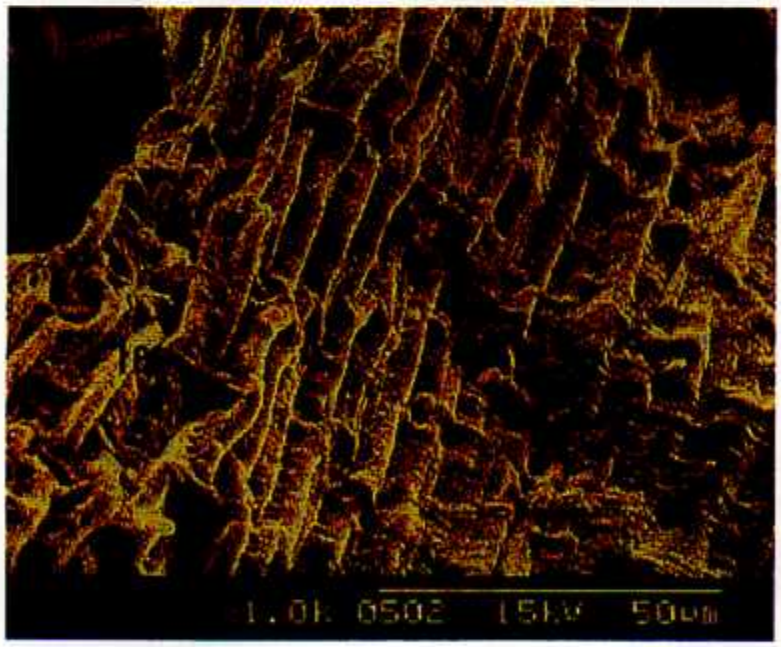


Fig. 4. Cariópside de *O. grandiglumis* de Costa Rica

a. Lemas estériles con espinas y células verrugoso.

b. Detalle de la micrografía anterior.

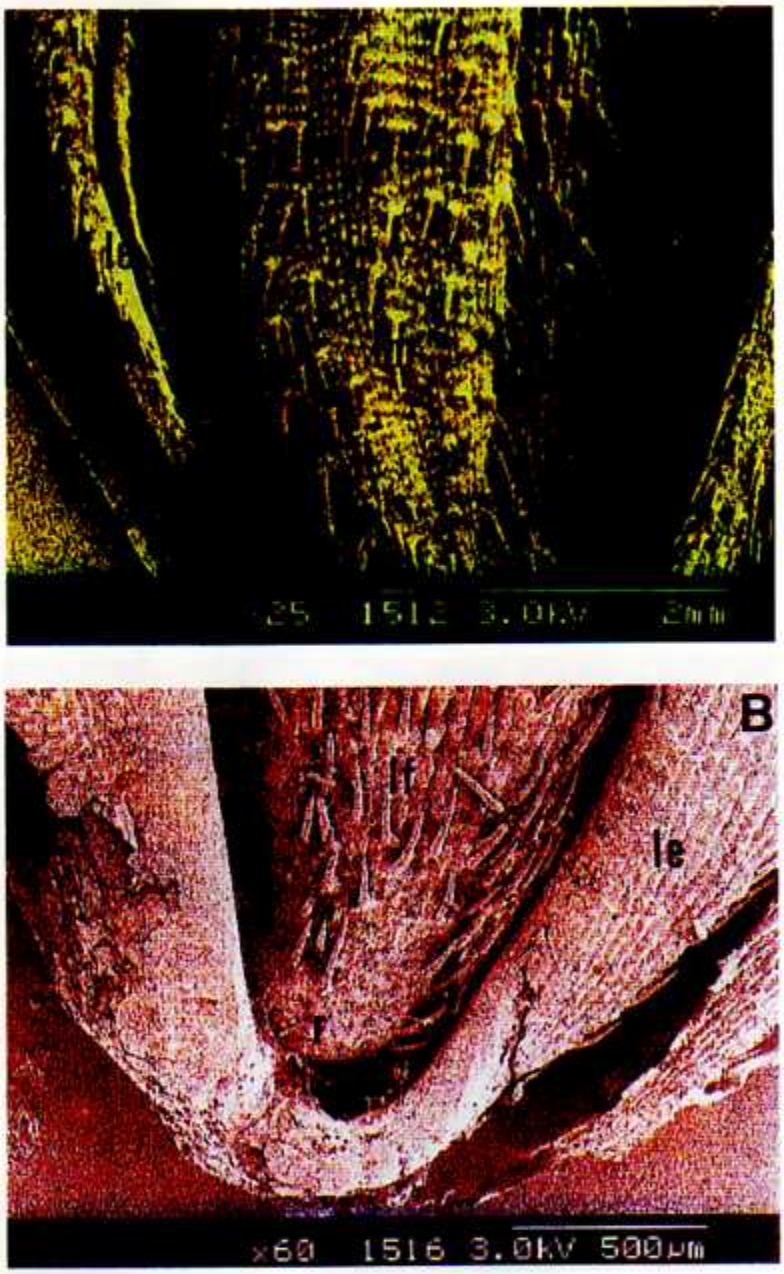
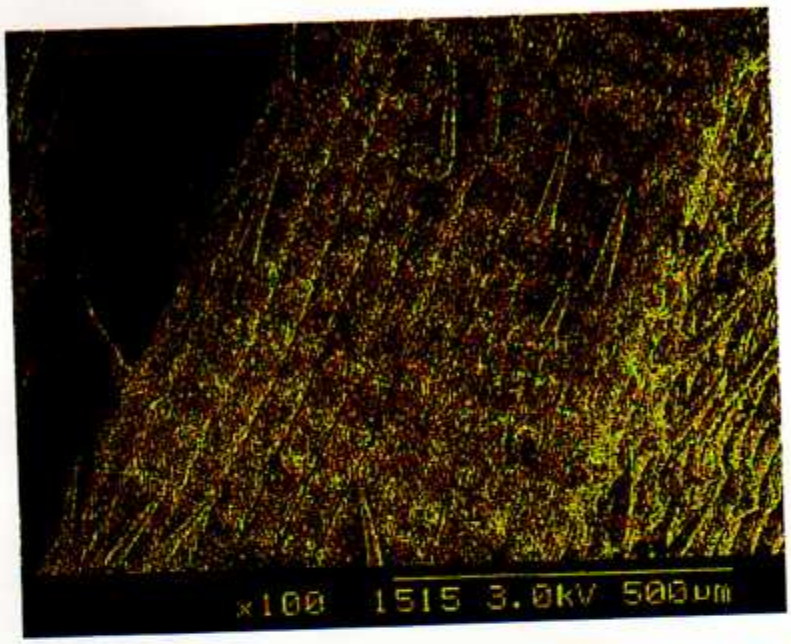


Fig. 5. Cariópside de *O. grandiglumis* de Brasil.

a. Extremo distal de la cariópside.

b. Extremo basal de la cariópside.



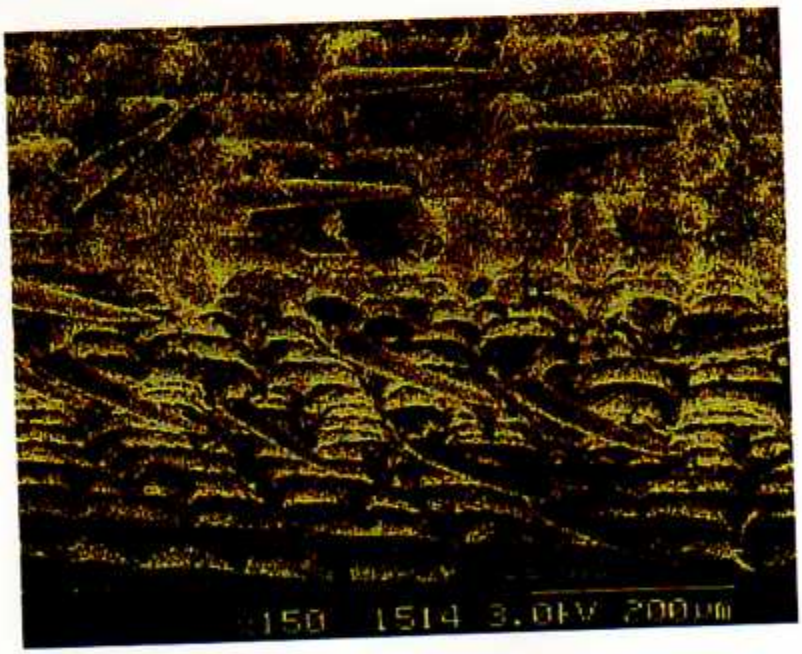


Fig. 6. Cariópside de *O. grandiglumis* de Brasil

a. Lemas estériles con espinas y células verrugosas.

b. Se observa la zona posterior de la lema estéril.