

## ANATOMÍA FOLIAR, MORFOLOGÍA Y PLOIDIA EN FESTUCAS DE HOJAS ESTRECHAS DE LOS GRUPOS *rubra* Y *ovina*

LEAF ANATOMY, MORPHOLOGY AND PLOIDY OF FINE FESCUES IN *rubra* AND *ovina* GROUPS

J.A. OLIVEIRA-PRENDES<sup>1</sup> Y M.A. FERNANDEZ-CASADO<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Departamento de Biología de Organismos y Sistemas. Área de Producción Vegetal. Universidad de Oviedo. C/ Gonzalo Gutiérrez Quirós s/n. 33600 Mieres (España). [oliveira@uniovi.es](mailto:oliveira@uniovi.es). <sup>2</sup>Departamento de Biología de Organismos y Sistemas. Área de Botánica. Universidad de Oviedo. C/ Catedrático Rodrigo Uría s/n. 33006 Oviedo (España).

### RESUMEN

El objetivo de este estudio fue la caracterización mediante anatomía foliar, morfología y ploidía de 15 accesiones de *Festuca rubra* L., y nueve de *Festuca ovina* L., recogidas en el Norte de España, junto con el cultivar 'Wilma' (*F. nigrescens* subsp. *nigrescens*) y el cultivar 'Ridu/Triana' (*F. stricta* subsp. *trachyphylla*). De las 15 accesiones del grupo *rubra*, siete se identificaron como *F. heteromalla*, dos como *F. trichophylla* subsp. *asperifolia*, dos como *F. nigrescens* subsp. *microphylla* y cuatro como *F. rubra* subsp. *pruinosa*. De las nueve accesiones del grupo *ovina*, seis podrían corresponder a una especie aún no descrita, dos a una especie afín a *F. summilusitana* y una a *F. rivas-martinezii*. En todas las accesiones del grupo *rubra* caracterizadas en este trabajo, las vainas de las hojas fueron pubescentes y estuvieron soldadas casi hasta el extremo de las mismas, el número de macizos de esclerénquima fue mayor de tres, sin acúleos abaxiales y con o sin rizomas. En el caso de las accesiones del grupo *ovina*, las vainas fueron glabras y en algún caso pubescentes, más o menos abiertas, con un anillo de esclerénquima continuo o con tres macizos de esclerénquima, con o sin acúleos abaxiales y ausencia de rizomas.

**Palabras clave:** césped, recursos genéticos, secciones foliares.

### SUMMARY

The objective of the present study was to characterize leaf anatomy, morphology and ploidy of 15 *Festuca rubra* and nine *Festuca ovina* accessions collected from northern Spain, along with the cultivar 'Wilma' (*F. nigrescens* subsp. *nigrescens*) and the cultivar 'Ridu/Triana' (*F. stricta* subsp. *trachyphylla*). Within the 15 *Festuca* group *rubra* accessions, seven were identified as *F. heteromalla*; two as *F. trichophylla* subsp. *asperifolia*; two as *F. nigrescens* subsp. *microphylla* and four as *F. rubra* subsp. *pruinosa*. Within the nine *F.* group *ovina* accessions, six could be an unknown species, two one species related to *F. summilusitana* and one *F. rivas-martinezii*. In all of the *F. rubra* accessions evaluated the sheaths of the young tiller leaves were fused almost to the top and with hairs, the number of sclerenchyma bundles was greater than three, without abaxial protrusions and with or without rhizomes. In the *F. ovina* accessions, sheaths were open, with or without hairs, with continuous sclerenchyma or with three sclerenchyma bundles with or without abaxial protrusions and absence of rhizomes.

**Key words:** genetic resources, leaf sections, turfgrass.

## INTRODUCCIÓN

Aunque la taxonomía de las festucas de hoja estrecha o festucas finas es a menudo difícil, la mayoría de las especies usadas en céspedes se pueden dividir en dos grandes grupos: *Festuca* grupo *rubra* y *Festuca* grupo *ovina* (Huff y Palazzo, 1998). Las diferencias medibles entre estos dos grupos se pueden basar en la anatomía de la hoja, morfología de la vaina y la fluorescencia de la raíces (Hubbard, 1984; Wilkinson y Stace, 1991).

La clasificación de especies del género *Festuca* basada únicamente en caracteres de anatomía foliar y morfológicos es complicada por la variabilidad en la morfología de ciertos caracteres (Šmarda *et al.*, 2005). El nivel de ploidia y la determinación del número de cromosomas son muy importantes para la determinación taxonómica dentro de dicho género (Wilkinson y Stace, 1991).

Las festucas de hoja estrecha de interés comercial se clasifican en cinco tipos: la festuca roja o rubra rastrera o reptante (*Festuca rubra* subsp. *rubra*), la festuca roja semirastrera o semireptante (*F. rubra* subsp. *trichophylla*), la festuca roja encespada (*F. rubra* subsp. *commutata* = *F. nigrescens* subsp. *nigrescens*), la festuca ovina de hojas duras o duriuscula (*F. stricta* subsp. *trachyphylla*) y la festuca ovina (*Festuca ovina* subsp. *tennuiifolia*).

Las festucas rojas rastreras producen rizomas y céspedes menos densos que las

encespedantes, con una mayor tolerancia a la sequía y a situaciones de sombreo. Las festucas del grupo *ovina* se suelen usar habitualmente en restauración paisajística y en céspedes de bajo mantenimiento (poco crecimiento), con una buena tolerancia a la sequía (Turgeon, 2005).

El objetivo de este trabajo fue caracterizar accesiones de festucas de los grupos *rubra* y *ovina* recogidas en el Norte de España en base a caracteres de anatomía foliar, morfológicos y de ploidía. La identificación de estas especies podría ser útil como paso previo antes de la evaluación en programas de mejora de céspedes.

## MATERIAL Y MÉTODOS

### Material vegetal

Las semillas de 15 accesiones de *Festuca* del grupo *rubra* y nueve de *Festuca* del grupo *ovina* se recogieron en diferentes localidades de Asturias y zonas limítrofes en el año 2000. Cada una de estas entradas se recogieron como semilla en al menos 50 plantas situadas en una zona lo más homogénea posible de 100-1000 m<sup>2</sup>. El origen y el número del inventario de dichas accesiones se muestran en la Tabla I.

Las accesiones se recogieron en zonas no cultivadas agrícolamente, como bordes de rutas, caminos, zonas abandonadas, acantilados, etc. Las semillas una vez limpiadas,

Tabla 1. Número y origen de 15 accesiones de *Festuca rubra* (Fr) y nueve de *Festuca ovina* (Fo)

Número	Provincia	Localidad	Habitat	Lat	Long	Alt(m)
1(1259)Fo	Asturias	Niserias	Camino	43°20'N	04°45'O	400
2(1305)Fr	Asturias	Folgueiras	Borde ruta	43°25'N	07°10' O	300
3(1302)Fr	Asturias	Armada	Baldío	43°07'N	05°51'O	1100
4(1301)Fr	Asturias	Villanueva de Oscos	Borde ruta	43°18'N	06°59'O	650
5(1254)Fo	Asturias	Grandas de Salime	Baldío	43°15'N	06°55'O	300
7(1303)Fr	León	Puerto de Tarna	Baldío	43°07'N	05°14'O	1490
8(1304)Fr	Asturias	Tanes	Camino	43°15'N	05°25'O	495
9(1300)Fo	Asturias	Pesoz	Baldío	43°16'N	06°52'O	350
11(1306)Fr	Asturias	Alto de Cobertoria	Baldío	43°10'N	05°58'O	1179
13(1307)Fr	Asturias	Paramios	Baldío	43°22'N	07°01'O	500
14(1311)Fr	León	Carande	Baldío	42°50'N	04°50'O	1000
15(1309)Fr	León	Acebedo	Baldío	43°03'N	05°07'O	1180
16(1310)Fr	Asturias	Sta. Eulalia de Oscos	Baldío	43°15'N	07°01'O	560
18(1262)Fo	Cantabria	La Fuente	Baldío	43°15'N	04°30'O	650
19(1314)Fr	Asturias	Penarronda	Acantilado	43°32'N	06°59'O	3
20(1313)Fr	Asturias	Navia	Playa	43°33'N	06°43'O	6
21(1308)Fr	León	La Uña	Baldío	43°03'N	05°07'O	1250
22(1255)Fo	Asturias	Villanueva de Oscos	Borde ruta	43°18'N	06°59'O	650
24(1263)Fo	Asturias	Merodio	Baldío	43°19'N	04°45'O	400
25(1257)Fo	Cantabria	Lebeña	Camino	43°15'N	04°35'O	210
26(1256)Fo	Cantabria	Pto. de San Glorio	Borde ruta	43°05'N	04°45'O	460
27(1312)Fr	Asturias	Playa de Pormenande	Acantilado	43°32'N	06°49'O	3
28(1258)Fo	Cantabria	Pto. de San Glorio	Borde ruta	43°05'N	04°45'O	1600
29(1316)Fr	Lugo	Faro de Ribadeo	Acantilado	43°33'N	07°02'O	9

se secaron con gel de sílice y se conservaron en envases herméticos en una cámara frigorífica (código FAO del Banco de semillas del Área de Producción Vegetal de la Universidad de Oviedo: ESPI03) entre 0-4°C.

Las semillas de cada accesión y de dos cultivares comerciales usados como controles (*F. nigrescens* subsp. *nigrescens* "Wilma" y *F. stricta* subsp. *trachyphylla* "Ridu/Triana") se sembraron en bandejas de 60 alveolos (30 x 50 x 4,7 cm), 61 mL de volumen por alveolo (Projar, Quart de Poblet, Valencia, España), conteniendo un sustrato de turba y vermiculita (3:1, v/v) en un invernadero de cubierta

de policarbonato del Campus de Mieres, permaneciendo tres meses en dichas bandejas. Tras ese periodo de tiempo, las plantas individuales se trasplantaron en macetas cuadradas TEKU-Tainer de 9,5 cm de alto y 9 de lado conteniendo la misma mezcla de sustrato usada para la germinación de las semillas, y se dejaron en el invernadero ocho semanas más hasta su caracterización morfológica, de anatomía foliar y ploidía en laboratorio.

### Anatomía foliar y morfología

En cada accesión, se analizaron al menos dos hojas provenientes de dos plantas

diferentes (una hoja por planta).

Para el análisis de los caracteres anatómicos foliares se efectuaron secciones transversales de los limbos, a mano alzada con cuchillas (*Gillette superplatinum*), directamente sobre el material fresco o previa ebullición en agua con material seco, con el objeto de ablandarlo y que recuperase su forma original. Con el fin de seguir un método que permita efectuar estudios comparativos, se ha elegido, siempre que ha sido posible, la última hoja envainante de una innovación (vástago) en la mitad inferior de su limbo, según las indicaciones de Hackel (1882), Saint-Yves (1927) y Portal (1999).

Posteriormente, parte de los cortes fueron sometidos a la tinción policromática para material vegetal Fasga (Tolivia y Tolivia, 1987) y otros fueron montados en Lactofenol para su mejor conservación. Se tomaron microfotografías de las muestras mediante microscopía óptica con un *Zeiss Fotomicroscopio II* con una cámara fotográfica *Nikon D 40* incorporada y 40 aumentos.

Los caracteres estudiados fueron los siguientes: pubescencia o no de vainas, presencia o ausencia de rizomas, presencia o ausencia de acúleos (protuberancias epidérmicas que dan aspereza a la hoja) abaxiales (envés) de las hojas, forma de la sección foliar (contorno de la hoja), anchura o espesor foliar (mm), diámetro foliar (mm), número

de nervios (haces vasculares), número de costillas adaxiales (haz) y número de macizos abaxiales de esclerénquima.

Para la delimitación de los taxones se utilizaron las claves de Hubbard (1984), Kerguelén y Plonka (1989) y Portal (1999).

### **Ploidía**

El recuento de los cromosomas mitóticos se realizó en los ápices de raíces, tomados en plántulas que tenían 4-5 vástagos, usando el método de Tjio y Levan (1950). La determinación del número de cromosomas se realizó en al menos dos individuos de cada una de las 19 accesiones.

La recogida de las raíces se realizó a las 10 horas de la mañana, cortando los ápices de 1 cm de longitud aproximadamente, con unas pinzas, seleccionando 4-5 raíces que estuvieran blancas. Estas raíces se introdujeron en tubos pequeños de plástico llenos de agua destilada, para seguidamente introducirlos en un vaso de precipitado con hielo, dejándolos 24 horas en la nevera. La fijación del material en mitosis se realizó utilizando la solución Carnoy 3:1 (tres partes en volumen de alcohol etílico de 96° y una parte de ácido acético glacial) y conservado en nevera hasta su uso.

Antes de la tinción con orceína acética, se lavaron las raíces en agua destilada en un vidrio de reloj. Se secaron con papel ab-

sorbente colocándolas en un portaobjetos con nueve partes de orceína acética y una parte de ácido clorhídrico 1N, cubriéndolas totalmente. Se calentaron durante cinco minutos con un mechero de alcohol, dejándolas reposar 15 minutos. Se volvieron a calentar cinco minutos y reposar 15 minutos. Las raíces se pasaron a un portaobjetos en el que se cortaron los ápices y se añadió una gota de ácido acético glacial al 45%, cubriéndolas y aplastándolas con un cubre objetos.

Los cromosomas se fotografiaron en metafase mitótica usando una cámara réflex de lente simple unida a un microscopio óptico Olympus (BX-51) con 1250 aumentos.

## RESULTADOS Y DISCUSION

### Anatomía foliar y morfología

Los caracteres morfológicos y de las secciones transversales foliares de las accesiones se resumen en las Tablas 2 y 3.

Las festucas del grupo *rubra* presentaron todas vainas soldadas hasta el ápice y pubescentes, esclerénquima en macizos no decurrentes, sin acúleos (hojas lisas), salvo los números 7 y 8.

Con el fin de identificar los diferentes taxones de *Festuca* grupo *rubra* (Tabla 2) se consideró inicialmente la presencia o ausencia de rizomas. Dos taxones no presentaron rizomas: *F. nigrescens* subsp. *nigrescens* (cultivar control "Wilma"), con un diámetro

foliar medio mayor de 0,7 mm; y *F. nigrescens* subsp. *microphylla* con un diámetro foliar medio menor de 0,7 mm. Los números 16 y 21 pertenecen a esta especie.

Las plantas con rizomas y secciones foliares poligonales y carenadas pertenecen al taxón *F. heteromalla* (Números: 2, 3, 4, 11, 13, 14 y 15). Las plantas con rizomas y en las que la sección foliar no es carenada, pero con acúleos en la superficie del envés se identificaron como *F. trichophylla* subsp. *asperifolia* (Números: 7 y 8). Las plantas que no presentaron acúleos en la superficie del envés se identificaron como *F. rubra* subsp. *pruinosa* (Números: 19, 20, 27 y 29).

En las festucas del grupo *rubra*, el número de cromosomas fue de  $2n=6x=42$ , para todas las accesiones y el cultivar comercial 'Wilma'. Estas características son típicas de las festucas del grupo *rubra* cespitosas y semirastreras o semireptantes (Turgeon, 2005).

En el caso de las accesiones de *Festuca* grupo *ovina* (Tabla 3), ninguna presentó rizomas, pudiéndose diferenciar un grupo mayoritario con esclerénquima continuo, vainas abiertas y glabras, con presencia de acúleos, con sección foliar en forma elíptica y una costilla. Este grupo está formado por las accesiones: 1, 18, 22, 24, 25 y 26 con ploidía  $2n=8x=56$ . Debido a que sus caracteres anatómicos y morfológicos no coinciden con

**Tabla 2. Caracteres principales en los cinco taxones identificados dentro del grupo *rubra*. Dos plantas por accesión. Los valores mínimo y máximo se ponen entre paréntesis**

	<i>F. heteromalla</i>	<i>F. trichophylla</i> subsp. <i>asperifolia</i>	<i>F. rubra</i> subsp.	<i>F. nigrescens</i> subsp. <i>microphylla</i>	<i>F. nigrescens</i> subsp. <i>nigrescens</i>
Accesiones	2, 3, 4, 11, 13,	7, 8	19, 20, 27, 29	16, 21	cv. Wilma
Pubescencia vaina	+	+	+	+	+
Rizomas	presencia	presencia	presencia	ausencia	ausencia
Acúleos abaxiales	ausencia	presencia	ausencia	ausencia	ausencia
Sección foliar	Carenada	Poligonal	Elíptica	Poligonal	Poligonal
Anchura hoja (mm)	0,36 (11,1)	0,31 (1,8)	0,39 (8,4)	0,30 (6,0)	0,32 (0,31-0,33)
Diametro foliar (mm)	0,90 (19,9)	0,71 (5,8)	0,74 (8,9)	0,63 (0,9)	0,74 (0,73-0,75)
Nº de nervios	7-8	5-6	5-7	5	5
Nº de costillas	4-6	3	3	3	3
Nº de macizos de esclerenquima abaxial	6-8	5	5-8	7	7
Nº de cromosomas	42	42	42	42	42

**Tabla 3. Caracteres principales en los cuatro taxones identificados dentro del grupo *ovina*. Dos plantas por accesión. Los valores mínimo y máximo se ponen entre paréntesis**

	Especie no descrita	<i>F. summilusitana</i>	<i>F. rivas-martinezii</i>	<i>F. stricta</i> subsp. <i>trachyphylla</i>
Accesiones	1,18,22,24,25,26	5,9	28	cv. Ridu/Triana
Pubescencia Vaina	-	+	-	+
Rizomas	ausencia	ausencia	ausencia	ausencia
Acúleos abaxiales	presencia	presencia	ausencia	presencia
Sección foliar	Oboval-Elíptica	Oboval	Oboval	Oboval-Elíptica
Anchura hoja (mm)	0,40 (15,7)	0,38 (18,5)	0,36 (0,33-0,39)	0,39 (0,38-0,40)
Diametro foliar (mm)	0,78 (12,7)	0,67 (22,7)	1,0 (0,90-1,10)	0,85 (0,79-0,92)
Nº de nervios	5-7	5-6	7	7
Nº de costillas adaxiales	1	1	5	3
Nº de macizos de esclerenquima abaxial	-	-	3	3
Nº de cromosomas (2n)	56	70	28	42

otras especies descritas hasta la fecha (Díaz *et al.*, 1994) se podrían corresponder a una especie aún no descrita y que merecería la pena estudiar con más profundidad.

Las accesiones 5 y 9 presentaron vainas abiertas, pubescentes y el resto de características de anatomía foliar y morfología igual que el grupo anterior de accesiones, con un nº de cromosomas de 70 ( $2n=10x$ ). Según Ferrero Lomas (1999) el taxón *F. summilusitana* engloba dos citotipos, fenotípicamente muy semejantes, uno hexaploide de distribución gredense y otro decaploide distribuido por los macizos montañosos del occidente peninsular, habiendo diferencias en la apertura de la vaina, el número de nervios y de costillas adaxiales entre ambos. Debido a que existe una gran variabilidad en ese taxón (De la Fuente y Ortúñez, 2000) y la ploidía  $10x$  encontrada en las accesiones 5 y 9, éstas se podrían clasificar como una especie afín a *F. summilusitana*.

Por otra parte, la accesión 28 presentó vainas abiertas y glabras con sección foliar en forma elíptica, ausencia de acúleos, tres macizos de esclerénquima y cinco costillas. Su número de cromosomas fue de 28 ( $2n=4x$ ). Dicha accesión se clasificó como *F. rivas-martinezii* (Ferrero Lomas, 1999).

En las festucas del grupo *ovina*, tanto por los caracteres de anatomía foliar, morfológicos y número de cromosomas, ninguna

de las accesiones estudiadas se podría incluir en ninguno de los dos grupos comerciales de festucas ovinas.

## CONCLUSIONES

Mediante caracteres de anatomía foliar, morfología y ploidía se estudiaron 15 accesiones de *Festuca rubra* L., y nueve de *Festuca ovina* L., recogidas en el Norte de España. De las 15 accesiones del grupo *rubra*, siete se identificaron como *F. heteromalla*, dos como *F. trichophylla* subsp. *asperifolia*, dos como *F. nigrescens* subsp. *microphylla* y cuatro como *F. rubra* subsp. *pruinosa*. De las nueve accesiones del grupo *ovina*, seis podrían corresponder a una especie aún no descrita, dos a una especie afín a *F. summilusitana* y una a *F. rivas-martinezii*.

## AGRADECIMIENTOS

Este trabajo se ha podido realizar gracias al apoyo de los profesores del Área de Botánica D<sup>a</sup> María Isabel Gutiérrez Villarias, D. Juan Homet García-Cernuda y D. Tomás Emilio Díaz González. También se agradece la ayuda y colaboración de las estudiantes de la Escuela Politécnica de Mieres, Vanesa Fernández Campos y Zaida Fernández López en la realización del trabajo de laboratorio.



## REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

DE LA FUENTE V. Y ORTUÑO E. (2000) Nueva especie de *Festuca* L. sección *Festuca* (*Poaceae*) en la Península Ibérica. *Lazarroa*, 21, 3-6.

DÍAZ T.E. FERNÁNDEZ J.A. NAVA H.S. Y FERNÁNDEZ M.A. (1994) Catálogo de la flora vascular de Asturias. *Itinera Geobotánica*, 8, 529-600.

FERRERO LOMAS L.M<sup>a</sup>. (1999) *Citogenética, evolución y biogeografía de las secciones Festuca L. (Intravaginales) y Eския Willk., del género Festuca L. (Poaceae) en la Península Ibérica*. Tesis doctoral. Madrid, España: Facultad de Ciencias, Universidad Autónoma de Madrid.

HACKEL E. (1882) *Monographia Festucarum europaeorum*. Berlin, Germany: Kassel. T. Fisher.

HUBBARD C.E. (1984) *Grasses: a guide to their structure, identification, uses and distribution in the British Isles*. London, U.K.: Penguin Books.

HUFF D.R. Y PALAZZO A.J. (1998) Fine fescue species determination by laser flow cytometry. *Crop Sci*, 38, 445-450.

KERGUÉLEN M. Y PLONKA F. (1989) Les *Festuca* de la Flore de France (Corse comprise). *Bull Soc Bot Centre-Ouest*, 10, 1-368.

PORTAL R. (1999) *Festuca de France*. Vals-près-Le Puy, France: R. Portal.

SAINT-YVES A. (1927) Tentamen. Claves analyticae festucarum veteris orbis (subgen. *Eu-Festucarum*). *Revue Bretonne de Botanique Pure et Appliquée*, 2, 1-124.

ŠMARDÁ P. MÜLLER J. VRÁNA J. Y KOČI K. (2005) Ploidy level variability of some Central European fescues (*Festuca* subg. *Festuca*, *Poaceae*). *Biologia Bratislava*, 60 (1), 25-36.

TJIO J.H. Y LEVAN A. (1950) The use of oxiquinoleina in chromosome analysis. *Anales de la Estación Experimental de Aula Dei*, 2, 21-64

TOLIVIA D. Y TOLIVIA J. (1987) Fasga: a new polychromatic method for simultaneous and differential staining of plant tissues. *Journal of Microscopy*, 148(1), 113-117.

TURGEON A.J. (2005) *Turfgrass management*. New Jersey, USA.: Pearson Prentice Hall.

WILKINSON M.J. Y STACE C.A. (1991) A new taxonomic treatment of the *Festuca ovina* L. aggregate (*Poaceae*) in the British Isles. *Bot J Linn Soc*, 106, 347-397.