

SISTEMA REPRODUCTIVO Y ESTRUCTURA GENÉTICA DE POBLACIONES DE *Bromus auleticus* TRINIUS EX – NEES (*POACEAE*). ESTUDIO MEDIANTE ISOENZIMAS

Rivas M¹.

Recibido: 30/04/01 Aceptado:09/08/01

RESUMEN

El sistema de reproducción y la estructura genética de las poblaciones son factores claves para la conservación de los recursos genéticos, el fitomejoramiento, el mantenimiento varietal y la producción de semillas. *Bromus auleticus* es una gramínea perenne nativa de Uruguay, Brasil austral y Argentina, de reconocido valor forrajero. La domesticación de la especie es reciente, estando en etapas iniciales la difusión del cultivo de la misma. Los estudios previos sobre el sistema reproductivo de la especie no han sido concluyentes debido a que los análisis de diversidad se realizaron con caracteres fenotípicos, sujetos a influencias ambientales. En este trabajo se analiza la variación isoenzimática para peroxidases y esterases en progenies y plantas de una población natural de *Bromus auleticus*. Los índices de polimorfismo de las bandas indican que la población presenta diversidad genética. Se encuentran diferencias significativas entre las progenies de la población, aunque esta variación no es superior a la encontrada entre las plantas de las progenies. Las plantas dentro de cada progenie son genéticamente diferentes, dando descendencias variables. El grado de similitud entre individuos no depende de la progenie ni de la planta de la cual provienen. Los resultados del trabajo sustentan que la población estudiada presenta una estructura genética típica de especies algamas, con diversidad genética dentro de la población, no estructurada en líneas o familias.

PALABRAS CLAVE: *Bromus auleticus*, diversidad genética intrapoblacional, sistema de reproducción, isoenzimas.

SUMMARY

BREEDING SYSTEM AND GENETIC STRUCTURE OF POPULATIONS OF *Bromus auleticus* TRINIUS EX-NEES (*POACEAE*). ISOENZIMATIC ANALYSIS

Breeding systems and genetic structure of populations are key factors for the conservation of genetic resources, plant breeding, varietal maintenance and seed production. *Bromus auleticus* is a perennial grass, native of Uruguay, southern Brazil and Argentina, with a high forage value. The domestication of the species has occurred quite recently, as well as the initial diffusion of the crop. The previous studies on the breeding system have not been conclusive, because diversity analysis were done on phenotypic characters, which are subject to environmental influences. In this work, was analyzed the isoenzymatic variation for peroxidases and esterases in progenies and plants of a natural population of *Bromus auleticus*. The polymorphic indexes of the bands indicated that the population has genetic diversity. Significant differences between the progenies of the population were found, although this variation was not larger than the variation found between plants within progenies. Plants within progenies were genetically different, giving variable descendants. The degree of similitude between individuals did not depend on the progeny nor on the plant which they came from. The results of this work support the theory that the population under study has a typical genetic structure of an outbreeding species, with genetic diversity within the population, not structured in lines or families.

KEY WORDS: *Bromus auleticus*, genetic diversity within populations, breeding system, isoenzymes.

¹Recursos Fitogenéticos, Departamento de Biología Vegetal.
Facultad de Agronomía, Montevideo, Uruguay. Avda. Garzón 780.
E mail: mrivas@fagro.edu.uy

INTRODUCCIÓN

Bromus auleticus Trinius ex – Nees es una gramínea perenne de ciclo invernal, que ocurre en los campos de Uruguay, Brasil austral, y en La Pampa y la Mesopotamia de Argentina (Rosengurt *et al.*, 1970; Burkart, 1969; Longhi, 1977). El reconocimiento del valor forrajero de la especie es de larga data en Uruguay y la región (Rosengurt, 1946; Millot, 1969; Valls, 1980). La productividad y calidad del forraje de bromus, la floración simultánea, la calidad de las semillas, la alta persistencia en los campos y la resistencia al stress hídrico, son las principales características que han conducido a la domesticación y mejoramiento genético de la especie (Allegrí y Formoso, 1984; Millot, 1999; Olmos, 1993; Moraes y Oliveira, 1990). Durante el año 2001, el cultivar Potrillo de la Facultad de Agronomía de Uruguay comienza a ser comercializado para la instalación de praderas y siembras en cobertura.

La diversidad de ecotipos adaptados a diferentes condiciones ambientales constituye la base genética para el fitomejoramiento. En Uruguay, la existencia de un mosaico de suelos de distinta profundidad y desarrollados sobre distintos sustratos geológicos, sumada a la ubicación del país en una zona de transición entre condiciones subtropicales y templadas, son condicionantes importantes para que se haya desarrollado una importante diversidad de la especie (Freyre y Methol, 1982; Armand-Ugón, 1984; Carriquiry y Majó, 1991; Rivas y Franco, 1994). La ocurrencia de erosión genética en la especie, provocando la pérdida de poblaciones y genotipos, se debe a la utilización inadecuada de las pasturas (Millot *et al.*, 1987). Esta situación ha conducido a establecer proyectos de colecta y conservación de germoplasma, así como a proponer esquemas de utilización de las pasturas que permitan la conservación *in situ* de *B. auleticus*.

Para la conservación de la diversidad genética de la especie y para los programas de mejoramiento genético, mantenimiento varietal y producción de semillas, es imprescindible conocer el sistema reproductivo y la estructura genética de las poblaciones (Jain, 1975). Las especies del género *Bromus* no presentan apomixis, existiendo especies autógamas y alógamas (Armstrong, 1991). El comportamiento reproductivo sexual de la especie fue confirmado mediante el estudio del desarrollo de los sacos embrionarios (Ríos, 1995). Sobre la autogamia – alogamia de la especie existen datos contradictorios basados en estudios de variación morfo – fenológicos (Freyre y Methol, 1982; Traverso y von der Pahlen, 1982; Cruz y Pittamiglio, 1993; Acosta y Casas, 1993; De Idoyaga y Suárez, 1994; De Mello, 1996). Si bien la mayoría de las especies no pueden clasificarse como estrictamente

autógamas o alógamas, si se puede determinar un modo reproductivo prevalente. Las principales diferencias entre ambos grupos de plantas se dan en la distribución de la diversidad genética. En autógamas las plantas son homocigotas y las poblaciones están fuertemente estructuradas en líneas puras. Las diferencias genéticas entre poblaciones suelen ser mayores que en alógamas. Las especies con fecundación cruzada tienen plantas heterocigotas y las poblaciones presentan una importante diversidad genética basada en las diferencias genéticas entre los individuos, no existiendo una estructuración de las mismas (Jain, 1975).

Considerando las dificultades que presentan los análisis de diversidad basados exclusivamente en caracteres morfo – fenológicos, sujetos a influencias ambientales, este trabajo tiene como objetivo estudiar el sistema reproductivo y la estructura genética de una población de *Bromus auleticus*, mediante el análisis de la variación isoenzimática de progenies. La principal ventaja de este abordaje es que las isoenzimas presentan una base genética simple, expresión codominante, penetrancia completa y ausencia de interacciones pleiotrópicas y epistáticas (Weeden y Wendel, 1989).

MATERIALES Y MÉTODOS

Los materiales de *Bromus auleticus* utilizados fueron progenies de una población localizada en Kiyú, departamento de San José, Uruguay. Cada progenie estuvo constituida por plantas hijas de una misma planta madre. Las mismas se obtuvieron a partir de la siembra de semillas cosechadas en plantas individuales de la población original. La prueba de progenies fue instalada en un ensayo de campo en la Facultad de Agronomía, en Sayago - Montevideo. Cada hilera del ensayo estuvo formada por 33 plantas de una progenie. La distancia entre plantas dentro de la hilera fue de 25 cm. La distancia entre hileras fue de 90 cm.

Plantas adultas

Se eligieron al azar 10 progenies para peroxidadas (PRX) y 5 progenies para esterasas (EST). Se usaron entre 7 y 10 plantas adultas de cada progenie. De cada planta se tomaron hojas jóvenes provenientes del rebrote otoñal, las cuales se conservaron en freezer a -20°C, por no más de un mes. La porción utilizada para la extracción de proteínas correspondía a aproximadamente 25 mm² de la parte más ancha de la hoja.

Coleoptiles

Se estudiaron hijos de las plantas de las progenies, eligiéndose las progenies y plantas al azar. En el cuadro 1 se

presentan las plantas y progenies estudiadas para PRX y EST. Se utilizaron coleoptiles de 2.5 a 3 cm de largo, los cuáles se obtuvieron a partir de la germinación de semillas cosechadas de cada planta en forma individual. Las semillas se desinfectaron en solución de hipoclorito de sodio 1% V/V por 15 min y se enjuagaron con agua destilada. La temperatura de germinación fue de 20°C constantes y luz permanente. Cuando los coleoptiles alcanzaron el largo deseado, las plántulas se retiraron y se colocaron en freezer a -20°C, manteniéndose sin degradación hasta 12 meses. El procedimiento se llevó a cabo diariamente a partir del día 7 hasta el día 28 desde la colocación de las semillas a germinar.

Cuadro 1. Progenies, plantas y número de descendientes por planta analizados para peroxidasas y esterases (PRX: peroxidasas, EST: esterases).

Progenie *	Planta **	Descendientes/ planta
PRX:		
5	5	9
5	8	9
5	11	10
5	16	9
5	28	8
35	9	8
35	10	8
35	12	15
35	15	16
35	19	8
57	6	13
57	9	9
57	17	8
57	21	10
57	23	6
57	25	10
EST:		
5	11	9
35	15	9
57	2	12
57	3	11
57	9	10
57	23	6
57	25	9

* Número que identifica la progenie. ** Número que identifica la planta.

Extracción de enzimas

El tampón de extracción utilizado fue Tris – HCl 0.05M pH 7.6, KCl 0.01M, MgCl₂ (6.H₂O) 0.01M, EDTA (tetrasódico) 0.001M y β-mercaptoetanol 0.014M (Roose y Gottlieb, 1978). Para el homogenado se utilizaron 50 ml y 100 ml de tampón de extracción para coleoptiles y hojas, respectivamente. Sobre el macerado se colocó un papel “Sanitas” que actúa como filtro y encima de éste se impregnó un papel Whatman 3MM de 4 x 1mm, que absorbe la parte soluble del homogenado. Cada papel se aplicó en un pocillo del gel. Se utilizaron como testigos dos plantas de *Bromus auleticus*, la línea 1292 de *Bromus catharticus* y el cultivar “Pelón” de *Triticum aestivum*.

Electroforesis y revelado de los sistemas enzimáticos

Se utilizaron geles de poliacrilamida (6% para PRX y 10% para EST). Los tampones utilizados fueron: borato sódico pH 8.0 / Tris – citrato pH 8.6 (Poulik, 1957) para las esterases de coleoptiles y borato de litio pH 8.3 / Tris – citrato pH 8.3 (Scandalios, 1969) para los otros tres casos. Las condiciones de migración fueron a 150 V, sin limitaciones de amperaje. Para PRX la distancia de migración fue de 7.5 cm y para EST de 6.0 cm. En ambos casos, los procedimientos de tinción utilizados fueron los de Gottlieb (1973). La lectura se realizó con un transiluminador de luz visible. Se tomaron las distancias reales de migración de cada banda y utilizando las bandas de los testigos como referente se procedió a identificar la presencia/ausencia de las bandas. El número más bajo dentro de cada sistema y para cada tejido correspondió a la banda con mayor velocidad de migración, aumentando la numeración a medida que presentaban menor velocidad de migración.

Análisis de los datos

Debido a que la especie es hexaploide (Rivas *et al.*, 1990) y a la falta de antecedentes de análisis genéticos que asignen locus y alelos, se trabajó exclusivamente en base a la presencia/ausencia de bandas (Simpson y Withers, 1986). Para cada sistema enzimático y para cada nivel de análisis se construyó una matriz de datos de 0 (ausencias) y 1 (presencias). Para cada banda se calcularon las frecuencias y los índices de polimorfismo. El índice de polimorfismo utilizado fue $P.I. = R_i (1 - R_i)$, siendo R_i la frecuencia de presencia que posee la banda (Marshall y Jain, 1969).

El análisis estadístico de la variación entre progenies se realizó por separado con los datos de las plantas y con los datos de los coleoptiles, para cada sistema enzimático. En

el primer caso la progenie quedó representada por las plantas y en el segundo caso por los coleoptiles. Se calcularon las frecuencias e índices de polimorfismo por banda y por progenie. Se realizaron pruebas de contingencia para probar si la distribución de frecuencias de las bandas de las progenies son similares, usando como criterio de prueba "Likelihood Ratio Chi - Square" y una probabilidad de error del 10%.

La variación dentro de progenies se analizó con los datos de los descendientes (coleoptiles) para cada sistema enzimático, calculándose también frecuencias e índices de polimorfismo. La prueba de contingencia se realizó para probar si la distribución de las frecuencias de las bandas de las plantas de cada progenie eran similares.

El procesamiento de los datos para las pruebas de contingencia se realizó con S.A.S. (versión 6.12, 1997).

Se calcularon los índices de similitud para ambos sistemas enzimáticos de forma conjunta, y para cada nivel de análisis. El índice utilizado fue el "simple matching" $I = a + d / a + b + c$, siendo a el número de bandas en que ambas plantas o coleoptiles tienen presencia (1,1), b el número de bandas en las cuales la primer planta o coleoptile tiene presencia y la segunda tiene ausencia (1,0), c el número de bandas en las cuales la primer planta o coleoptile tiene ausencia y la segunda presencia (0,1), y d el número de bandas en que ambas plantas o coleoptiles tienen ausencia (0,0). Con los índices de similitud se construyeron los dendrogramas respectivos. Se utilizó el programa NTSYS versión 1.8 (1993).

RESULTADOS

Polimorfismo de las bandas de isoenzimas

Las 15 bandas de PRX identificadas se nombraron como PRX1 a PRX15, correspondiendo desde PRX1 a PRX5 a bandas de los coleoptiles y desde PRX6 a PRX15 a las bandas de hojas jóvenes. Para EST, las 7 bandas encontradas se identificaron como EST1 a EST7, correspondiendo EST1 a EST4 a las bandas de coleoptiles y EST5 a EST7 a las bandas de hojas jóvenes (Fig. 1). Debido a la escasa definición y frecuencia de EST4, se eliminó esta banda del análisis.

Del total de 21 bandas con las que se trabajó, sólo PRX1 fue monomórfica. Según su índice de polimorfismo, se agruparon las bandas en tres grupos: las de bajo P.I. (0 - 0.1): PRX1, PRX12, EST1, EST5, EST6, EST7; las de P.I. intermedios (>0.1 - 0.2): PRX2, PRX5, PRX7, PRX9, PRX10, PRX11, PRX13, PRX14, PRX15; y las de P.I. altos (>0.2 - 0.25): PRX3, PRX4, PRX6, PRX8, EST2, EST3 (Cuadro 2).

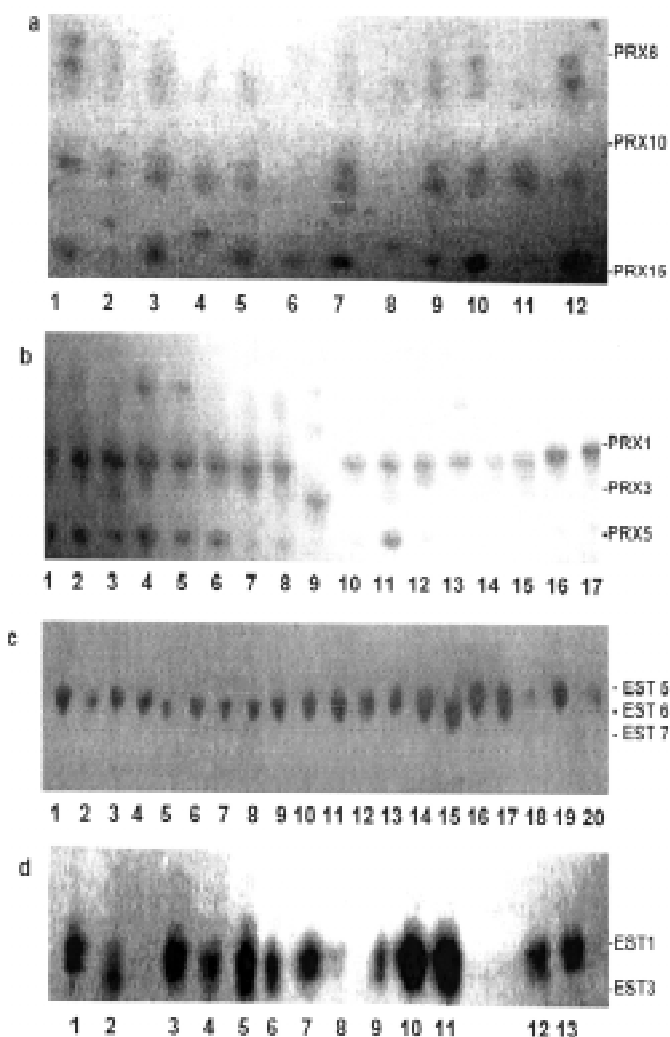


Figura 1. a) Isoenzimas de peroxidasas en hojas jóvenes (las aplicaciones 2 a 11 corresponden a 10 plantas de la progenie 29, las aplicaciones 1 y 12 corresponden al testigo), b) Isoenzimas de peroxidasas en coleoptiles (las aplicaciones 1 a 8 corresponden a la planta 35.9, las aplicaciones 10 a 17 a la planta 35.19, la aplicación 9 corresponde al testigo), c) Isoenzimas de estererasas en hojas jóvenes (las aplicaciones 1 a 10 corresponden a 10 plantas de la progenie 66, las aplicaciones 11 a 19 corresponden a 9 plantas de la progenie 45, la aplicación 20 corresponde al testigo), d) Isoenzimas de estererasas en coleoptiles (las aplicaciones 2 a 6 y 8 a 12 corresponden a la planta 57.9, las aplicaciones 1, 7 y 13 corresponden al testigo).

Cuadro 2. Índices de polimorfismo (P.I.) de las bandas de peroxidadas (PRX) y esterases (EST).

	PRX1	PRX2	PRX3	PRX4	PRX5	PRX6	PRX7	PRX8	PRX9	PRX10	PRX11
P.I.	0.0	0.11	0.25	0.24	0.13	0.24	0.19	0.24	0.18	0.14	0.20
	PRX12	PRX13	PRX14	PRX15	EST1	EST2	EST3	EST5	EST6	EST7	
	0.10	0.15	0.11	0.16	0.07	0.22	0.24	0.1	0.02	0.08	

Cuadro 3. Probabilidades “Likelihood Ratio Chi²” que las progenies presenten distribuciones iguales para las frecuencias de las bandas.

BANDA	PROBABILIDAD (*)
PRX1	—
PRX2	0.002*
PRX3	0.000*
PRX4	0.000*
PRX5	0.002*
PRX6	0.598
PRX7	0.000*
PRX8	0.000*
PRX9	0.190
PRX10	0.705
PRX11	0.003*
PRX12	0.050*
PRX13	0.053*
PRX14	0.014*
PRX15	0.088*
EST1	0.189
EST2	0.010*
EST3	0.270
EST5	0.157
EST6	0.529
EST7	0.071*

(*) Nivel crítico 10%

Variación entre progenies

El conjunto de los datos indicó que para 12 de las 21 bandas analizadas, las progenies no presentaban distribuciones similares de las frecuencias de las bandas (Cuadro 3). En el análisis a través de las plantas de las progenies, las probabilidades fueron significativas para 7 de las 13 bandas. En el análisis a través de los descendientes de las plantas adultas, las progenies no presentaron distribuciones similares de las frecuencias para 5 de 6 bandas.

Variación dentro de progenies

Los P.I. promedio para cada sistema enzimático y para cada progenie, obtenidos a partir del análisis de las plantas de las progenies, señalaron que existe polimorfismo en las progenies (Cuadro 4). Para PRX se constató que todas las progenies resultaron polimórficas, indicando que las plantas hijas de una misma planta son diferentes entre sí. En un 80% de las progenies, los P.I. fueron superiores a 0.1. En el caso de EST, 2 de las progenies presentaron P.I. iguales a cero, indicando la ausencia de variación entre plantas para las bandas consideradas. Las otras 3 progenies estudiadas fueron variables, aunque una de ellas presentó un P.I. bajo.

Cuando los P.I. promedio de las progenies se calculan a partir de los datos de los descendientes de las plantas (Cuadro 5), también apareció que todas las progenies fueron polimórficas para ambos sistemas enzimáticos. En este análisis los P.I. incluyen la variación entre plantas y entre coleoptiles.

Cuadro 4. Índices de polimorfismo promedio (P.I.) para peroxidadas (PRX) y esterases (EST) de las progenies, obtenidos a partir de las plantas adultas.

	PROGENIE									
	5	8	24	29	35	45	55	57	60	66
P.I. PRX	0.18	0.18	0.15	0.16	0.09	0.12	0.14	0.12	0.14	0.09
P.I. EST	----	----	----	----	0.0	0.1	----	0.13	0.03	0.0

Cuadro 5. Índices de polimorfismo promedio (P.I.) para peroxidasas (PRX) y esterasas (EST) de las progenies, obtenidos a partir de los coleoptiles.

	PROGENIE		
	5	35	57
P.I. PRX	0.13	0.08	0.13
P.I. EST	0.13	0.07	0.19

Los resultados obtenidos al analizar el polimorfismo de las plantas a través de sus descendientes, indicaron que a excepción de la planta 35.10 para PRX, todas las demás produjeron descendientes variables (Cuadro 6). Los valores de los índices de polimorfismo para PRX son bajos, aunque se debe tener en cuenta que PRX1 es monomórfica y que PRX2 y PRX5 tienen bajos P.I.

Las probabilidades de que la distribución de las frecuencias de las bandas entre plantas de cada progenie sea similar, fueron significativas al 5% para 5 de las 7 bandas estudiadas.

Cuadro 6. Índices de polimorfismo promedio (P.I.) para peroxidasas (PRX) y esterasas (EST) de las plantas.

PLANTA *	P.I. PRX	P.I. EST
5.5	0.11	---
5.8	0.07	---
5.11	0.05	---
5.16	0.11	---
5.28	0.14	---
35.9	0.04	---
35.10	0.0	---
35.12	0.09	---
35.15	0.09	---
35.19	0.05	---
57.2	---	0.15
57.3	---	0.08
57.6	0.10	0.11
57.9	0.18	---
57.17	0.07	---
57.21	0.05	---
57.23	0.06	0.21
57.25	0.13	0.16

* El primer número que identifica cada planta corresponde al número de progenie.

Análisis de similitud

El análisis de similitud entre plantas adultas indicó que el grado de parecido genético entre plantas no depende de la progenie a la cual pertenecen, pudiendo parecerse tanto entre sí plantas de diferentes progenies como de la misma (Cuadro 7).

Los grupos de similitud para coleoptiles también se realizan independientemente de la progenie y la planta de la cual provienen (Cuadro 8). Los coleoptiles de una misma planta no se reunieron en un mismo grupo de similitud.

Cuadro 7. Grupos de plantas que presentan un índice de similitud de 1 (en el mismo nivel).

35.1 - 35.2 - 35.3
35.4 - 35.5 - 66.7 - 66.6 - 60.5 - 60.9
66.3 - 66.8 - 66.9 - 66.5
45.8 - 57.6
35.6 - 66.10
45.3 - 45.6
60.3 - 60.4

El primer número de la identificación de las plantas indica el número de progenie y el segundo el número de planta de la progenie.

Cuadro 8. Grupos de coleoptiles que presentan un índice de similitud de 1 (en el mismo nivel).

5.11.1 - 5.11.6
5.11.3 - 5.11.4 - 35.15.6
5.11.9 - 57.9.2 - 57.9.7 - 57.9.9
35.15.5 - 35.15.8 - 57.23.1
5.11.5 - 5.11.7 - 35.15.4 - 35.15.7 - 35.15.9
35.15.1 - 35.15.2 - 57.23.6
57.9.6 - 57.25.7 - 57.9.8
57.23.2 - 57.23.3
57.25.3 - 57.25.8

El primer número de la identificación de los coleoptiles indica el número de progenie, el segundo el número de planta y el tercero el número de coleoptile.

DISCUSIÓN

El polimorfismo en 20 de las 21 bandas estudiadas, sumado al hecho que las progenies fueran polimórficas y con diferencias en la distribución de las frecuencias de las bandas, indica que la población original es genéticamente variable. La variabilidad presente en poblaciones de la es-

pecie ha sido planteada para distintas características morfológicas, fenológicas y productivas (Traverso y von der Pahlen, 1982; Armand – Ugón, 1984; Cruz y Pittamiglio, 1993; Acosta y Casas, 1993; De Idoyaga y Suárez, 1994; De Mello, 1996). La concordancia entre los datos isoenzimáticos y morfo – fenológicos, permite sostener que la población bajo estudio presenta diversidad genética.

Las diferencias significativas encontradas entre progenies plantean que del total de la diversidad genética, un componente de la misma es el aportado por las plantas madres de las progenies. Este resultado es coincidente con los encontrados en trabajos que hallaron varianzas significativamente mayores que cero entre progenies de distintas poblaciones de *Bromus auleticus*. Algunas de las características fenotípicas en que difirieron las progenies de la población Kiyú fueron: largo y ancho de hoja, número y altura de panojas, largo y número de ramificaciones de las inflorescencias y peso de 1000 semillas (Cruz y Pittamiglio, 1993; Acosta y Casas, 1993; De Idoyaga y Suárez, 1994,; De Mello, 1996). Sin embargo, la existencia de diferencias genéticas entre progenies no indica necesariamente una estructura genética poblacional conformada por familias. Los grupos de similitud no señalan que exista una estructura basada en las progenies, los grados de parecido genético son independientes de la progenie a la cual pertenecen las plantas. En los trabajos realizados con caracteres morfo – fenológicos, los análisis de varianza dieron como resultado que la varianza entre plantas es superior a la varianza entre progenies, siendo la relación entre ambos componentes de varianza el indicador más adecuado para comprender la estructura genética de las poblaciones.

Por otra parte la existencia de polimorfismo en las plantas y de diferencias en la distribución de las frecuencias de las bandas entre ellas, indica que las plantas adultas de las progenies son también polimórficas y que dentro de progenie existen diferencias genéticas entre plantas. Los agrupamientos de similitud para plantas adultas corroboran que las plantas de las progenies son genéticamente diferentes y que la variación entre plantas es por lo menos tan importante como la variación entre progenies. En el caso de los agrupamientos de similitud para coleoptiles la principal conclusión es que los descendientes de una misma planta presentan diferencias genéticas y que esa variación no está anidada según la planta ni la progenie.

El conjunto de estos resultados señala que la estructura genética poblacional de la población Kiyú se corresponde con la de una especie alógama o una especie de apareamiento mixto, cuyas plantas son heterocigotas, producen progenies variables y sus poblaciones comúnmen-

te no se encuentran subdivididas. Si la población Kiyú se reprodujera por autogamia tendría un alto grado de homocigosis, produciría genotipos homogéneos en sus progenies y podría presentar una alta diferenciación entre sus progenies (Jain, 1975; Allard *et al.*, 1975; Loveless y Hamrick, 1984; Brown, 1990; Godt y Hamrick, 1998).

La postulación de alogamia en *Bromus auleticus* se sustenta también en otro tipo de estudios. El aislamiento geográfico de plantas ha mostrado que la producción de semillas es escasa o nula en esas condiciones (Oliveira *et al.*, 2001, en prensa; Rivas, 2001, en prensa). Por otra parte, acorde a datos existentes para el género, el tamaño de las anteras podría ser indicador de la alogamia de la especie (McKone, 1987).

Los antecedentes que sostienen la autogamia de *Bromus auleticus* se basan principalmente en la repetibilidad de caracteres morfológicos de las hojas (ancho y grado de vellosidad) y la presencia/ausencia de rizomas (Freyre y Methol, 1982). La diferenciación y aislación geográfica de ecotipos son características de la especie. En particular las diferencias en fechas de floración entre las poblaciones, estaría impidiendo la existencia de cruzamientos y manteniendo la identidad genética de cada ecotipo. Entre las gramíneas, la partición de la diversidad genética entre y dentro de poblaciones está directamente relacionada con el rango geográfico de distribución y el sistema reproductivo (Godt y Hamrick, 1998). Probablemente *Bromus auleticus*, en la etapa actual de su evolución, esté conformado por poblaciones altamente diferenciadas, típico de especies autógamias, pero manteniendo la fecundación cruzada como mecanismo reproductivo dentro de los ecotipos relativamente aislados.

Existen elementos suficientes para sostener que la población Kiyú se reproduce por alogamia, aspecto que debe considerarse para los programas de conservación, mejoramiento y producción de semillas.

AGRADECIMIENTOS

Se agradece al Programa CONICYT – BID I y al PEDECIBA (Programa de Desarrollo de las Ciencias Básicas) por el financiamiento de este trabajo. También se agradece al Ing. Agr. Juan Burgueño por el asesoramiento estadístico.

BIBLIOGRAFÍA

- ACOSTA, P. y CASAS, L. 1994. Estudio de la variabilidad en poblaciones y progenies de *Bromus auleticus* Trinius ex – Nees 1829. Tesis Ing. Agr. Montevideo, Uruguay. Facultad de Agronomía. 110 p.

- ALLARD, R. W., KAHLER, A. L. and CLEGG, M. T. 1975. Isozymes in plant population genetics. In: Markert, C. L. Isozymes IV. Genetics and Evolution. New York, San Francisco, London. Academic Press. pp. 261 – 272.
- ALLEGRI, M. y FORMOSO, F. 1984. Gramíneas perennes en el noreste. CIAAB. Miscelánea N° 56. 37 p.
- ARMAND – UGON, P. 1984. A study of variation in *Bromus auleticus* Trin. ex – Nees germplasm. Thesis MsC. University of Birmingham. 77 p.
- ARMSTRONG, K. C. 1991. Chromosome evolution in *Bromus*. In: Tsuchiya, T. and Gupta, P. K. Chromosome engineering in plants: genetics, breeding, evolution. Part B. Amsterdam, Elsevier. pp. 363 –377.
- BROWN, A. H. D. 1990. Genetic characterization of plant mating systems. Brown, A. H. D., Clegg, M. T., Kahler, A. L. and Weir, B. S. Plant population genetics, breeding, and genetic resources. Sinauer, Sunderland, Massachusetts. pp. 145 – 162.
- BURKART, A. 1969. Flora ilustrada de Entre Ríos (Argentina). Parte II: Gramíneas. In: INTA. Colección Científica. Buenos Aires, Argentina. 551 p.
- CARRIQUIRY, E. y MAJÓ, G. 1991. *Bromus auleticus*: Efecto de la fertilización, manejo del pastoreo y diversidad genética en la producción de semilla. Tesis Ing. Agr. Montevideo, Uruguay. Facultad de Agronomía. 181 p.
- CRUZ, G. y PITTAMIGLIO, C. 1993. Estudio de variabilidad entre y dentro de poblaciones de *Bromus auleticus*. Tesis Ing. Agr. Montevideo, Uruguay. Facultad de Agronomía. 180 p.
- DE IDOYAGA, J. y SUÁREZ, A. 1994. Variabilidad en poblaciones, progenies y plantas de *Bromus auleticus*. Tesis Ing. Agr. Montevideo, Uruguay. Facultad de Agronomía. 93 p.
- DE MELLO, H. 1996. Estudio de variabilidad entre y dentro de poblaciones de *Bromus auleticus*. Tesis Ing. Agr. Montevideo, Uruguay. Facultad de Agronomía. 49 p.
- FREYRE, A. y METHOL, M. 1982. Evaluación primaria de *Bromus auleticus*. Tesis Ing. Agr. Montevideo, Uruguay. Facultad de Agronomía. 124 p.
- GODT, M. J. W. and HAMRICK, J. L. 1998. Allozyme diversity in the grasses. In: Cheplick, G. P. Population Biology of grasses. Cambridge University Press. pp. 11 – 29.
- GOTTLIEB, L. D. 1973. Genetic differentiation, sympatric speciation and the origin of a diploid species of *Stephanomeria*. Amer. J. Bot. 60: 545 – 553.
- JAIN, S. K. 1975. Population structure and the effects of breeding systems. In: Frankel, O. H. and Hawkes, J. G. Crop genetic resources for today and tomorrow. Cambridge University Press. pp. 15 – 36.
- LONGHI, H. M. 1977. O genero *Bromus* L. (*Gramineae*) no Rio Grande do Sul. Anais do Congresso Nacional de Botânica 26. Academia Brasileira de Ciências. Rio de Janeiro, Brasil. 1975. pp. 333 – 342.
- LOVELESS, M. D. and HAMRICK, J. L. 1984. Ecological determinants of genetic structure in plant populations. Ann. Rev. Ecol. Syst. 15: 69 –95.
- MARSHALL, D. R. and JAIN, S. K. 1969. Genetic polymorphism in natural populations of *Avena fatua* and *A. barbata*. Nature 221: 276-278.
- MCKONE, M. J. 1987. Sex allocation and outcrossing rate: a test of theoretical predictions using brome grasses (*Bromus*). Evolution 41(3): 591 – 598.
- MILLOT, J. C. 1969. Mejoramiento de gramíneas forrajeras. In: Reunión Técnica: Producción y conservación de forraje. La Estanzuela, Colonia, Plan Agropecuario. pp. 101 – 110.
- MILLOT, J. C.; METHOL, R. y RISSO, D. 1987. Relevamiento de pasturas naturales y mejoramientos extensivos en áreas ganaderas del Uruguay. Ministerio de Ganadería, Agricultura y Pesca. Comisión Honoraria del Plan Agropecuario. Consultora: FUCREA. Montevideo, Uruguay. 195 p.
- MILLOT, J. C. 1999. *Bromus auleticus* Trinius. Otra gramínea forrajera perenne invernal. Revista Oficial del Instituto Nacional de Semillas. Año 2 N° 4. pp. 25 – 28.
- MORAES, C. O. C. e OLIVEIRA, J. C. P. 1990. Avaliação preliminar de genótipos de *Bromus auleticus* Trinius. Bagé: EMBRAPA – CNPO. 20 p. Circular Técnica N° 5.
- NTSYS-pc. 1993. Versión 1.80. F. James Rohlf. Exeter Software. New York.
- OLMOS, F. 1993. *Bromus auleticus*. INIA. Serie técnica N° 35. 30 p.
- POULIK, M. D. 1957. Starch gel electrophoresis in a discontinuous system of buffers. Nature 4600: 1477 – 1479.
- RÍOS, S. 1995. Estudio de la formación de sacos embrionarios en la población Kiyú de *Bromus auleticus* Trin. Tesis Ing. Agr. Montevideo, Uruguay. Facultad de Agronomía. 51 p.
- RIVAS, M., MAZZELLA, C., CRUZ, G., PITTAMIGLIO, C., ARCOS, A. e IZAGUIRRE, P. 1990. Variabilidad y citogenética de *Bromus auleticus* Trin. ex – Nees (1829). In: Terceras Jornadas Técnicas de Investigación. Montevideo, Facultad de Agronomía. p. 85.
- RIVAS, M. y FRANCO, J. 1994. Diversidad y Estructura genética de poblaciones de *Bromus auleticus*. Resúmenes VI Congreso Latinoamericano de Botánica. Mar del Plata, Argentina. p. 506.
- ROOSE, M. L. AND GOTTLIEB, L. D. 1978. Stability of structural gene number in diploid species with different amounts of nuclear DNA and different chromosome numbers. Heredity 40: 159 – 163.

- ROSENGURTT, B. 1946. Estudios sobre Praderas Naturales del Uruguay. Quinta Contribución. Montevideo, Rosgal. 473 p.
- ROSENGURTT, B., ARRILLAGA, B. E IZAGUIRRE, P. 1970. Gramíneas uruguayas. Montevideo, Universidad de la República Oriental del Uruguay. 489 p.
- SAS, 1997. Institute Inc., SAS/STAT Software: Changes and enhancements through Release 6.12, Cary, NC: SAS Institute Inc., 1167 pp.
- SCANDALIOS, J. G. 1969. Genetic control of multiple molecular forms of enzymes in plants: a review. *Biochem. Genet.* 3: 37 -39.
- SIMPSON, M. J. A. and WITHERS, L. A. 1986. Characterization of Plant Genetic Resources using isozyme electrophoresis: a guide to the literature. Roma, International Board for Plant Genetic Resources. 102 p.
- TRAVERSO, J. E. y VON DER PAHLEN, A. 1982. Variabilidad en *Bromus auleticus* (Trin. ex - Nees). Publicación Técnica 41. INTA. Estación Experimental Agropecuaria Pergamino. Argentina. 12 p.
- VALLS, J. F. M. 1980. Gramíneas nativas e sua importancia forrageira: Situacao do estudo no Brasil. In: Plantas forrageiras. Simposio ocurrido durante o XXX Congresso Nacional de Botanica. Campo Grande, MS, 1979. EMBRAPA - CENARGEN. pp. 7 - 25
- WEEDEN, N. F. and WENDEL, J. F. 1989. Genetics of plant isozymes. In: Soltis, D. E. and Soltis, P. S. *Isozymes in Plant Biology*. Portland, Oregon. Dioscorides Press. pp. 46 -72.