

Estudio comparativo de algunos aspectos de la biología reproductiva del ajonjolí indehiscente (*Sesamum indicum* L.)¹

Comparative study of some aspects from the reproductive biology in indehiscent sesame (*Sesamum indicum* L.).

C. Berlingeri², D. Jáuregui² y P. Quijada³

Resumen

En este trabajo se estudiaron diferentes aspectos de la biología reproductiva de dos variedades dehiscentes (Arawaca y Aceitera Mejorada) y dos indehiscentes (Inamar Indehiscente y Morada Indehiscente) de ajonjolí, a fin de establecer las posibles causas de la baja fertilidad de los genotipos indehiscentes. Para ello se determinaron las siguientes variables: cantidad y viabilidad de los granos de polen, cantidad de óvulos, eventos florales, carga de polen sobre el estigma, trayectoria del tubo polínico, cantidad de semillas por cápsula y relación semilla-óvulo. Se concluyó que la causa principal de la baja cantidad de semillas en las cápsulas de los genotipos indehiscentes es la insuficiente carga de polen sobre el estigma, que garantice una máxima fertilización, aunado a la posible incapacidad del tejido estilar de promover el crecimiento del tubo polínico, evidenciado por un patrón de crecimiento desuniforme de los tubos polínicos hacia los óvulos en las variedades indehiscentes. La baja carga de polen en los indehiscentes se debe a las características morfológicas de la flor. La cantidad y viabilidad de polen por flor y la cantidad de óvulos por ovario no constituyen una restricción para la producción de semillas en las variedades indehiscentes.

Palabras clave: ajonjolí indehiscente, *Sesamum indicum*, biología reproductiva, dehiscente, indehiscente.

Abstract

In order to find possible causes for low fertility in indehiscent genotypes of sesame (*Sesamum indicum* L.), some aspects were studied about reproductive biology in 'Arawaca' and 'Aceitera Mejorada' (dehiscent varieties) and 'Inamar Indehiscente' and 'Morada Indehiscente' (indehiscent varieties). The variables determined were: number and viability of pollen grains, number of ovules, floral

Recibido el 17-02-1999 • Aceptado el 17-03-1999

1. Trabajo financiado parcialmente por FUNDACITE (Aragua).

2. Instituto de Botánica Agrícola, Facultad de Agronomía, Universidad Central de Venezuela. Apartado 4579. Maracay.

3. Instituto de Genética, Facultad de Agronomía, Universidad Central de Venezuela. Apartado 4579. Maracay.

events, pollen load on stigma, pollen tube pathway, number of seeds per capsule, and seed - ovule ratio. The principal cause for low number of seeds per capsule in indehiscent genotypes was the pollen load, which turned out to be insufficient to guarantee maximum fertilization, along with some possible incapacity of promoting enough polinic-tube development by transmitting tissue. It was proved, by looking an uneven growth pattern toward the ovules in the indehiscent varieties. Low-pollen load in indehiscent varieties is due to morphologic characteristics within the flower. Pollen quantity and viability and number of ovules per ovary do not constitute a restriction for seed production in indehiscent varieties. **Key words:** indehiscent sesame, *Sesamum indicum*, reproductive biology, dehiscent, indehiscent.

Introducción

La causa principal del bajo rendimiento del ajonjolí (*Sesamum indicum*) es la pérdida de gran cantidad de semillas, debido a que sus frutos abren en la madurez. Según Mazzani y Montilla (10), la caída de semillas en el campo puede elevarse hasta un 25% cuando la cosecha es mecanizada.

Las variedades de frutos indehiscentes desarrolladas hasta ahora no han contribuido a mejorar la productividad, debido a que la indehiscencia está acompañada por una baja fertilidad causada probablemente por una encorvadura del estilo que dificulta la polinización (9).

Berlinger (1) señaló rasgos morfológicos de las flores del ajonjolí indehiscente que probablemente dificultan la captura de polen por el

estigma, tales como la separación de éste último de las anteras (debido a la curvatura del estilo y a la deformación de los estambres) y al menor tamaño de las papilas de la superficie estigmática. Adicionalmente, los lóbulos estigmáticos de la variedad 'Morada Indehiscente' tienen un tamaño reducido y no se extienden completamente.

Con la finalidad de comprobar si las características morfológicas de la flor determinan la baja cantidad de semillas en las cápsulas de las variedades indehiscentes, o a éstas se adicionan otras causas, en este trabajo se caracterizaron y compararon diferentes aspectos de la biología reproductiva de dos variedades dehiscentes y dos indehiscentes de ajonjolí.

Materiales y métodos

El experimento se realizó en el **Campo Experimental del Instituto de Genética**, de la Facultad de Agronomía, de la Universidad Central de Venezuela, Maracay, entre los meses de febrero a mayo del año 1996. Se

utilizaron cuatro variedades, dos de cápsulas dehiscentes (Arawaca y Aceitera Mejorada) y dos de cápsulas indehiscentes (Inamar Indehiscente y Morada Indehiscente), cada una de ellas sembrada en una hilera de 5 m

de largo con una distancia entre plantas de 8 cm.

Cantidad relativa y viabilidad de los granos de polen. Se tomaron al azar 30 botones florales desarrollados por cada genotipo que tuvieran las anteras cerradas, las cuales fueron separadas y preservadas en etanol (70%) hasta su utilización. Para estimar el número de granos de polen se utilizó la técnica descrita por Lloyd (7), modificada por Berlingeri (1). El procedimiento se repitió cinco veces para cada genotipo.

Cantidad de óvulos por ovario. Se muestrearon al azar 30 gineceos por cada genotipo y se preservaron en una solución de FAA 50% (0,5: 0,5: 9). Los ovarios fueron disectados directamente bajo un microscopio estereoscópico, marca Leitz, para cuantificar la cantidad de óvulos.

Eventos florales. Los eventos florales fueron determinados mediante observaciones *in situ*, en intervalos de 30 minutos, de botones florales próximos a abrir previamente marcados.

Carga de polen sobre el estigma. Para estimar la carga de polen se colectaron al azar 10 flores por genotipo desde las 8:00 a.m. hasta las 12:00 m. del mismo día, en intervalos de una hora. Los estigmas se seccionaron bajo un microscopio

estereoscópico, se montaron en un portaobjeto con unas gotas de azul de algodón en lactofenol al 1% y agua destilada, se sellaron con esmalte para uñas y las láminas se observaron en un microscopio marca Leitz. Se cuantificó el número total de granos viables y no viables.

Trayectoria del tubo polínico. La observación de la trayectoria del tubo polínico se realizó en un total de 25 flores por genotipo, muestreadas al azar desde las 8:00 a.m. hasta las 2:00 p.m. del mismo día en intervalos de una hora. Los gineceos colectados fueron procesados según la metodología descrita por Datta y Naug (4) para la tinción de los tubos polínicos.

Cantidad de semillas por cápsula. El número de semillas totales por fruto fue cuantificado por observaciones directas en 50 cápsulas desarrolladas, tomadas al azar del estrato medio de las plantas en cada una de las variedades.

Relación semilla - óvulo. Fue calculada al dividir el número de semillas maduras por cápsula entre el número de óvulos por ovario.

Diseño experimental. Se utilizó un diseño completamente aleatorizado, empleando para los análisis estadísticos, un análisis de varianza para ese diseño y la prueba de medias de mínimas diferencias significativas entre las variedades.

Resultados y discusión

Cantidad y viabilidad de los granos de polen. El número de granos de polen viables y totales por flor fue significativamente mayor en

'Morada Indehiscente' con respecto al resto de las variedades; por otra parte 'Inamar Indehiscente' posee estadísticamente la misma cantidad de

polen viable que 'Aceitera Mejorada' (cuadro 1). De acuerdo a esto la cantidad y viabilidad de los granos de polen en las variedades indehiscentes aparentemente no constituyen factores limitantes para una exitosa fertilización. Sin embargo, a pesar de que los indehiscentes producen suficiente polen viable (superior al 90%), el porcentaje de polen no viable es mayor que en los dehiscentes (cuadro 1), por lo que la probabilidad de que caiga polen no viable sobre el estigma de los genotipos indehiscentes es también mayor.

Cantidad de óvulos por ovario. La cantidad de óvulos por ovario aparentemente no representa un obstáculo para el llenado completo del fruto, siendo superior el número de óvulos en las variedades indehiscentes (cuadro 2); no obstante, sería necesario estudiar la anatomía de los óvulos para verificar si existen anomalías en éstos que impidan que se transformen en semillas.

Eventos florales. Las variedades estudiadas se diferencian en la hora en que ocurren ciertos episodios florales. En 'Arawaca' la

dehiscencia de las anteras se produce entre las 5:00 y 6:00 am. encontrándose en ese momento las anteras superiores sobre el nivel del estigma; la apertura floral ocurre a partir de las 7:00 am. En la variedad 'Aceitera Mejorada', estos sucesos tienen lugar aproximadamente una hora más tarde, lo que indica que las anteras se abren entre las 6:00 y 7:00 am y la anthesis es alrededor de las 8:00 am. Antes de las 6:00 am las anteras superiores se encuentran debajo del estigma.

En la variedad 'Inamar Indehiscente' la dehiscencia de las anteras ocurre entre las 3:00 y 4:00 am, pero las flores no abren sino hasta el amanecer. En 'Morada Indehiscente' las anteras se abren entre las 2:00 y 3:00 de la madrugada y la apertura floral también es al amanecer (aproximadamente 7 am). En estas variedades, aun cuando las anteras están abiertas desde la madrugada, la carga de polen a esa hora es nula. Esto probablemente se debe a que el desprendimiento de los granos de polen de las anteras está influenciado por las condiciones ambientales (temperatura,

Cuadro 1. Valores promedios de la cantidad de granos de polen viables, no viables y totales por flor, en cuatro variedades de ajonjolí (*Sesamum indicum* L.).

Variedad	Viables	No Viables	Totales
Arawaca	20472 ^b	648 ^{bc}	21120 ^b
Aceitera mejorada	16000 ^c	240 ^c	16240 ^c
Inamar Indehiscente	16296 ^c	1688 ^{ab}	17984 ^{bc}
Morada Indehiscente	25896 ^a	2000 ^a	27896 ^a

Valores promedios con la misma letra, no difieren estadísticamente al 5% según la prueba de comparación múltiple de medias.

Cuadro 2. Valores promedios y desviación estándar del número de óvulos de cuatro variedades de ajonjolí (*Sesamum indicum* L.).

Variedad	Media	Desviación
Arawaca	80,93 ^b	4,51
Aceitera mejorada	75,97 ^c	7,69
Inamar Indehiscente	81,03 ^b	4,66
Morada Indehiscente	94,57 ^a	9,49

Valores promedios con la misma letra, no difieren estadísticamente al 5% según la prueba de comparación múltiple de medias.

humedad, etc.). En todas las variedades, momentos antes de que las flores abran, la carga de polen sobre el estigma es baja.

La divergencia del desarrollo floral entre las distintas variedades, sugiere la posibilidad de diferentes períodos de receptividad estigmática y longevidad del grano de polen. En este sentido, se puede suponer para el caso de 'Morada Indehiscente', variedad donde las anteras abren más temprano, que cuando el polen cae sobre el estigma, éste último probablemente no está receptivo o el polen ha perdido o disminuido su viabilidad y/o germinabilidad.

Carga de polen sobre el estigma. Las variedades dehiscentes (Arawaca y Aceitera Mejorada) tienen suficiente cantidad de polen viable sobre el estigma, lo que garantiza una máxima fertilización (cuadro 3).

Cruden (3) sugiere que de dos a siete granos de polen por óvulo sobre un estigma son suficientes para maximizar la fijación de semillas. Según este criterio las variedades dehiscentes no tienen limitación en cuanto a la carga de polen (cuadro 4).

En 'Inamar Indehiscente' la carga de polen es aparentemente suficiente para el llenado completo de la cápsula, debido a que posee la misma cantidad de granos de polen por óvulo que la variedad 'Aceitera Mejorada'; no obstante, la desviación estándar en 'Inamar Indehiscente' es mayor, lo que indica que la cantidad de polen en algunos casos puede ser menor que la cantidad de óvulos (cuadro 3).

La variedad 'Morada Indehiscente' en todas las horas evaluadas presenta menor cantidad de granos viables que el número de óvulos, por lo que la carga de polen constituye un factor limitante en el llenado del fruto (cuadro 3).

La baja carga de polen en los indehiscentes, en especial 'Morada Indehiscente', se debe a que el estigma y las anteras no están adyacentes y a que el área estigmática es reducida. Además, es probable que el menor tamaño de las papilas en el estigma de 'Morada Indehiscente' provoquen una insuficiente adhesión del grano, siendo éste susceptible al desprendimiento. Por último, los lóbulos del estigma de 'Morada Indehiscente' no se extienden

Cuadro 3. Valores promedios y desviación estándar de la carga de polen sobre el estigma a diferentes intervalos de horas, en cuatro variedades de ajonjolí (*Sesamum indicum* L.).

Variedad	Hora	Número de granos	Desviación	Número de granos
		Viables		No viables
Arawaca	8:00	59,70	± 45,51	0,50
	9:00	202,10	± 108,00	3,00
	10:00	253,70	± 67,15	5,90
	12:00	280,60	± 97,85	6,10
Aceitera Mejorada	8:00	13,10	± 15,58	0,10
	9:00	39,60	± 15,78	0,30
	10:00	123,80	± 48,88	2,40
	11:00	158,60	± 29,33	4,50
	12:00	162,80	± 6,57	2,80
Inamar	8:00	85,40	± 67,06	4,50
Indehiscente	9:00	145,70	± 107,52	11,90
	10:00	145,40	± 74,25	19,30
	11:00	133,80	± 64,78	22,30
	12:00	166,40	± 83,63	17,10
Morada Indehiscente	8:00	25,00	± 39,49	0,70
	9:00	34,30	± 40,98	1,70
	10:00	76,40	± 44,57	4,10
	11:00	59,10	± 40,60	1,10
	12:00	55,50	± 26,26	1,50

Cuadro 4. Relación de la carga de polen máxima sobre el número de óvulos, en cuatro variedades de ajonjolí (*Sesamum indicum* L.)

Variedad	Carga max. promedio	Nº de óvulos	Carga/óvulo
Arawaca	280,60	80,93	3,47
Aceitera mejorada	162,80	75,97	2,14
Inamar Indehiscente	166,40	81,03	2,05
Morada Indehiscente	76,40	94,57	0,81

completamente para capturar la mayor cantidad de polen (1).

Trayectoria del tubo polínico. Las variedades dehiscentes difieren de las indehiscentes en el patrón de crecimiento de los tubos polínicos en el estigma y estilo (cuadro 5). En las primeras, la masa de tubos crece más o menos uniforme hacia los óvulos, mientras que en las segundas no hay un patrón específico de crecimiento, pudiendo existir a una misma hora tubos polínicos a cualquier nivel del pistilo. Este fenómeno puede deberse a que los granos de polen caen sobre el estigma en intervalos de tiempo distantes o a que los tubos tengan velocidades de crecimiento distintas. En todas las variedades, pero con mayor frecuencia en 'Morada Indehiscente', se observan tubos polínicos que detienen su crecimiento, lo cual se evidencia porque los ápices son engrosados y muchas veces se rompen. Esto indica que en 'Morada Indehiscente' muchos tubos que germinan en el estigma no llegan a descargar su contenido.

De lo anterior se puede señalar lo siguiente: la diferencia observada en el crecimiento de los tubos polínicos de las variedades indehiscentes puede ser debida a: 1) Los granos de polen caen

sobre el estigma en diferentes intervalos de tiempo. 2) Probable contaminación con polen dehiscente o compatible, ya que las muestras fueron tomadas de flores a libre polinización; en este sentido se debe destacar que Nafie (11) indicó la posibilidad de mayor capacidad competitiva en tubos polínicos provenientes de plantas dehiscentes, en comparación con aquellos que llevan el gen de indehiscencia. 3) Diferencias en la tasa de crecimiento de los tubos polínicos aun siendo todos portadores del gen de indehiscencia, si la herencia del carácter indehiscente y los otros rasgos asociados es debida a un gen mayor, afectado por genes modificadores, como señalaron Mazzani y Horovitz (9) y Colliester, citado por Nafie (11). 4) que se deba a la naturaleza y distribución del exudado estilar en el tejido de transmisión y a su incapacidad para promover el crecimiento del tubo, siendo conocida la importancia de dicho tejido, en particular de la matriz intercelular o extracelular como medio para la nutrición e interacción de los tubos polínicos debido a su contenido de proteínas, carbohidratos, lípidos y fenoles y como guía del tubo polínico hacia el óvulo (2, 5, 6, 8, 12).

Cuadro 5. Trayectoria del tubo polínico de cuatro variedades de ajonjolí (*Sesamum indicum* L.)

Recorrido tubo polínico	Hora			
	Arawaca	Aceitera Mejorada	Inamar Indehiscente	Morada Indehiscente
Polen iniciando germinación	8:00	9:00	8:00-9:00	9:00
Tubos base estigma-entrada estilo	9:00	10:00	8-9-10	9-10-11
Tubos mitad estilo	10:00-11:00	11:00	10-11-12	10:00-11
Tubos final estilo inicio ovario	12:00	13:00	11:00-12:00	10-11-12
Fertilización	14:00	14:00	14:00	14:00

Cantidad de semillas por cápsula y relación semilla - óvulo.

La cantidad de semillas por cápsula (cuadro 6) muestra diferencias evidentes entre los cuatro genotipos, observándose que las variedades indehiscentes, en particular 'Morada Indehiscente', presentaron el número de semillas más bajo.

La relación semilla/óvulo es un indicador de la cantidad de óvulos que no llegan a ser fertilizados ó que son

fertilizados pero abortados en estados tempranos de su desarrollo. En este estudio se observó una eficiencia bastante alta en la conversión de óvulo en semilla en las variedades 'Arawaca' (0.96) y 'Aceitera Mejorada' (0.98); mientras que en los indehiscentes ésta relación es baja, indicando aborción pre ó post cigótica. La relación fue de 0.71 y 0.53, para 'Inamar Indehiscente' y 'Morada Indehiscente', respectivamente.

Cuadro 6. Valores promedios y desviación estándar de la cantidad de semillas por cápsula, en el estrato medio de cuatro variedades de ajonjolí (*Sesamum indicum* L.)

Variiedad	Media	Desviación
Arawaca	77,3 ^a	6,21
Aceitera mejorada	74,46 ^a	8,28
Inamar In dehiscente	57,5 ^b	13,16
Morada In dehiscente	49,96 ^c	16,9

Valores promedios con la misma letra, no difieren estadísticamente al 5%

Literatura citada

- Berlingeri, C. 1996. Estudio comparativo de algunos aspectos de la biología reproductiva del ajonjolí indehiscente (*Sesamum indicum* L.). Tesis de Grado. Ingeniero Agrónomo. Facultad de Agronomía. Universidad Central de Venezuela. Maracay. 92 p.
- Cresti, M., J. Van Went, E. Pacini, and M. Willemse. 1976. Ultrastructure of transmitting tissue of *Lycopersicon peruvianum* style: Development and histochemistry. *Planta* 132: 305-312.
- Cruden, R. 1977. Pollen-ovule ratios: A conservative indicator of breeding systems in flowering plants. *Evolution* 31: 32-46.
- Datta, P. and A. Naug. 1967. Staining pollen tubes in the style; cotton blue versus carmine for general use. *Stain Technol.* 42: 81-85.
- Kandasamy, M. and U. Kristen. 1990. Developmental aspects of ultrastructure and histochemistry of the stylar transmitting tissue of *Nicotiana sylvestris*. *Bot. Acta* 103: 384-391.
- Lachenaud, P. 1995. Variations in the number of beans per pod in *Theobroma cacao* L. in the Ivory Coast. II. Pollen germination, fruit setting and ovule development. *J. Hort. Sci.* 70 (1): 1-6.
- Lloyd, D. 1965. Evolution of self-compatibility and racial differentiation in *Leavenworthia* (Cruciferae). *Contr. Gray Herb.* 195: 3-134.
- Mascarenhas, J. 1993. Molecular mechanisms of pollen tube growth and differentiation. *The Plant Cell* 5: 1303-1314.

9. Mazzani, B. y S. Horovitz. 1952. Base genética del mejoramiento de *Sesamum indicum* L. de frutos indehiscentes. *Agronomía Trop.* 2 (3): 197-205.
10. Mazzani, B. y D. Montilla. 1966. Estimación de pérdidas de semilla en la cosecha del ajonjolí (*Sesamum indicum* L.) *Agronomía Trop.* 16: 209-211.
11. Nafe, N. 1980. The genetic control of indehiscence and the yielding ability of indehiscent genotypes of sesame (*Sesamum indicum* L.). University of California, Riverside. (Ph. D. dissertation). 232 p.
12. Williams, E., R. Knox, and J. Rouse. 1981. Pollen - pistil interactions and control of pollination. *Phytomorphology* 31(3,4): 148-157.