

LURBAB

ISSN 0372-4611

UNIVERSIDAD NACIONAL DE LA PLATA  
FACULTAD DE CIENCIAS NATURALES Y MUSEO

**REVISTA DEL MUSEO DE LA PLATA**  
(NUEVA SERIE)

TOMO XIV

Botánica Nº

112

**CARACTERES DE CELULAS OCLUSIVAS EN ESTOMAS DE  
ESPECIES ARGENTINAS Y AMERICANAS DE  
Podocarpus L. (PODOCARPACEAE)**

MARÍA DEL CARMEN LAVALLE

# CARACTERES DE CELULAS OCLUSIVAS EN ESTOMAS DE ESPECIES ARGENTINAS Y AMERICANAS DE *Podocarpus* L. (PODOCARPACEAE)

MARÍA DEL CARMEN LAVALLE \*

## ABSTRACT

Characters of stomata of eight species of *Podocarpus* L. were comparatively analyzed. General outline of stomata, thickness of stomatal ledges, epidermal walls and common walls of guard cells, and presence and types of polar rods, T-pieces or V-pieces of guard cells varie at the specific level. Histochemistry of colored areas of the guard cells showed that their presence are due to cutine and lignine impregnation of cellulosic cell walls. The same chemical composition have the polar rods and polar pieces.

## INTRODUCCION

Durante el desarrollo de un estudio sobre Gimnospermas autóctonas argentinas se observó que en las Podocarpaceas en general los rasgos estomáticos tenían cierta variación, especialmente los relativos a las células oclusivas.

Las epidermis de Gimnospermas se han usado con frecuencia como fuente de caracteres diagnósticos en diferentes niveles. Como su conservación es buena en material fósil, el uso de estos rasgos adquiere relevancia adicional.

Por esas razones, se analizó comparativamente la morfología estomática en epidermis de 8 especies de *Podocarpus* L. de Argentina, Chile, Bolivia y Brasil: *P. andina* Poepp., *P. chilina* Rich., *P. lambertii* Klotzsch, *P. magnifolius* Buchholz & N. E. Gray, *P. nubigena* Lindl., *P. parlatorei* Pilg., *P. saligna* D. Don y *P. sellowi* Klotzsch.

Los caracteres estudiados fueron: contorno del estoma, engrosamientos del poro, de pared epidérmica, de pared de contacto y polares en oclusivas. Además se analizó la presencia, la forma y la extensión de áreas coloreadas que aparecen en la pared externa de las oclusivas como respuesta específica a los colorantes debido a la particular naturaleza química de estas paredes.

Existen estudios previos en Podocarpaceas pero básicamente centrados en anatomía foliar y

tejido de tranfusión. La anatomía de la hoja adulta de *P. parlatorei* en vista superficial, es tratada parcialmente por del Fueyo (1988), pero ningún estudio previo trata la combinación de caracteres de células oclusivas seleccionados aquí para varias especies de *Podocarpus*. Los trabajos de Stace (1966), Baranova (1972) y Simón (1991) han estudiado y señalado el valor diagnóstico específico de los caracteres de oclusivas, en taxa no gimnospermas. La terminología usada por Simón (1991) relativa a las células oclusivas es la que se sigue aquí.

## MATERIALES Y METODOS

### Materiales

Se trabajó con material de herbario del Museo de La Plata (LP). Los ejemplares estudiados que incluyen 8 especies de *Podocarpus* se citan a continuación:

*Podocarpus andina* Poepp. - CHILE: Provincia de Nuble, Recinto, Cabrera 3675 (LP). *P. chilina* Rich. - CHILE: Herbarium Musei Chilensis, sin colector, s/n, (LP 19994). *P. lambertii* Klotzsch - BRASIL: São Paulo, Campos de Bocaina, Pabst 4846 (LP). *P. magnifolius* Buchholz & N. E. Gray

Recibido: 12/96. Aceptado: 08/97.

\* Laboratorio de Estudios de Anatomía Vegetal Evolutiva y Sistemática (LEAVES), Museo de La Plata, Paseo del Bosque s/n. (1900) La Plata, Argentina.

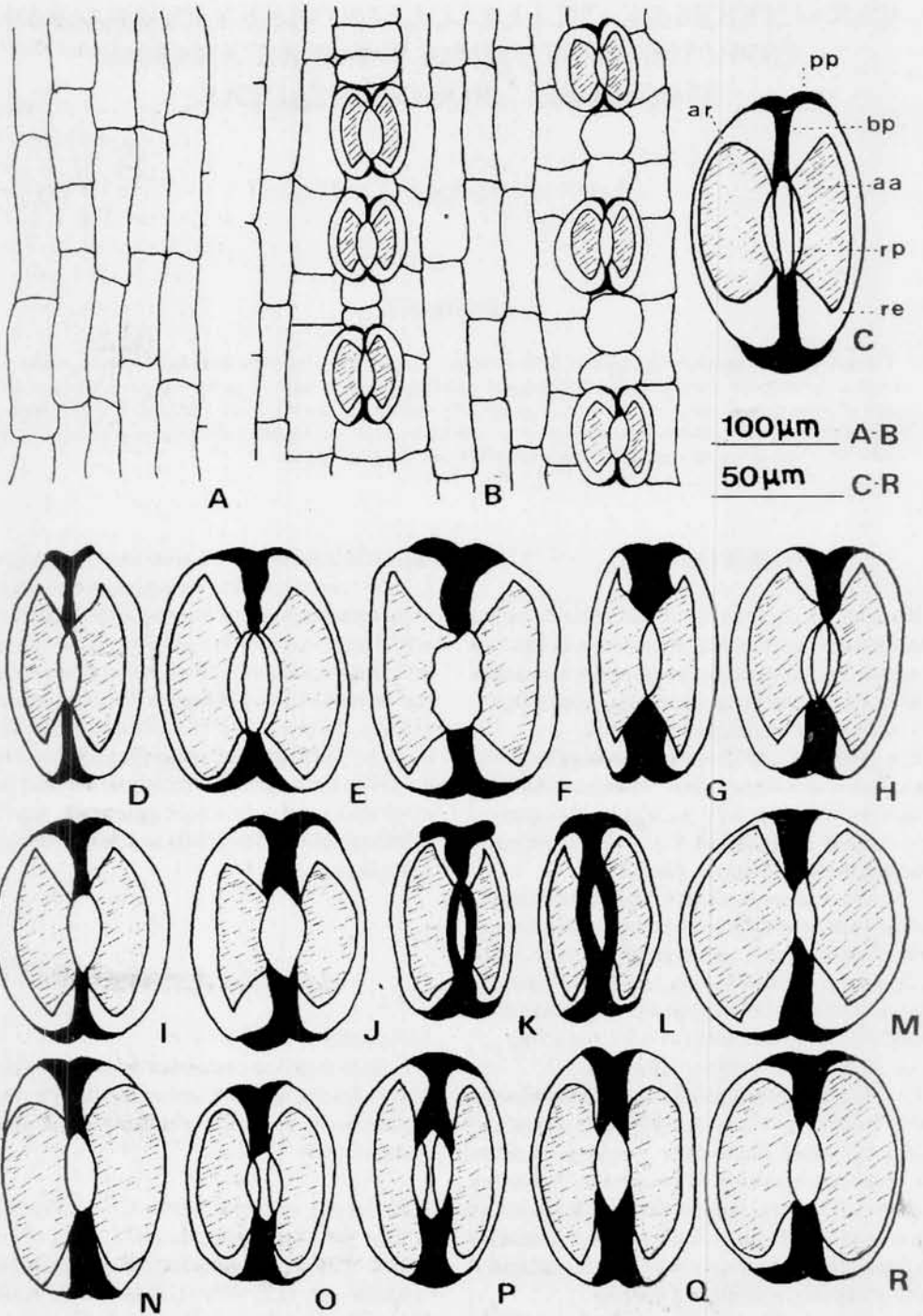


Fig. 1: Estomas y epidermis en *Podocarpus* L. A, Epifilo en *P. parlatoresi*; B, Hipofilo en *P. parlatoresi*; C, Esquema de un estoma con áreas coloreadas y engrosamientos. aa, área aliforme; ar, área reniforme; bp, barra polar; ci, células isodiamétricas; cl, células largas; pp, pieza polar; re, rebordo epidérmico; rp, rebordo poral; D, *P. parlatoresi*; E-F, *P. sellowii*; G-H, *P. nubigena*; I-J, *P. lambertii*; K-L, *P. andina*; M, *P. magnifolius*; N-O, *P. andina*; P-Q, *P. saligna*; R, *P. magnifolius*.

- BOLIVIA: Depto de La Paz, Pcia. de Larecaja, Copacabana, Krukoff 11273 (LP). *P. nubigena* Lindl. - ARGENTINA: Río Negro, Puerto Blest, Cabrera 254 (LP). *P. parlatoei* Pilg. - ARGENTINA: Jujuy, Depto. Santa Bárbara, Sierra El Centinela, Cabrera 17279 (LP). *P. saligna* D. Don - CHILE: Valdivia, de la Sota 2874 (LP). *P. sellowi* Klotzsch - BRASIL: São Paulo, Ipiranga, Pabst 6755 (LP).

## MÉTODOS

Para el estudio realizado se diafanizaron trozos de hojas con OHNa al 5% durante 48 hs., se lavaron y se completó el aclarado con hipoclorito de sodio diluido 1:1 con agua destilada. El material procesado se conservó en una mezcla de alcohol etílico 96%, glicerina, agua destilada y formalina con el fin de mejorar la firmeza y cohesión del material diafanizado.

Para una observación preliminar se coloreó con chlorazol black E (Gurr, 1965) una cantidad aproximada de 30 muestras por cada especie, y se montaron los preparados en gelatina-glicerina (Johansen, 1940). Las pruebas aplicadas para establecer la naturaleza química de las paredes de las células oclusivas y sus engrosamientos, fueron: azul de anilina 1% metilcellosolve y alcohol 100%, 1:1 (Gurr, 1965); eritrosina 1% en lactofenol; azul de toluidina 1% y cristal violeta 1% acuosos (Rolleri, 1971).

El estudio con MO se realizó en el Laboratorio de Estudios de Anatomía Vegetal Evolutiva y Sistemática (LEAVES) del Museo de La Plata.

## OBSERVACIONES

### *Epidermis, estomas y caracteres de células oclusivas*

Examinadas en superficie las epidermis abaxial y adaxial difieren en los tipos celulares. Los hipofilos (Fig. 1, B) presentan células 6-7 veces más largas que anchas (cl), en hileras longitudinales, sin estomas, y, alternando con éstas, hileras de células más o menos isodiamétricas (ci), en las que se hallan estomas. Tanto las hileras de células isodiamétricas como las células largas están formadas por elementos de paredes de espesor uniforme, más bien delgadas y de recorrido sinuoso.

Los epifilos con elementos celulares de con-

torno similarmente sinuoso, presentan solamente células largas y no tienen estomas (hojas hipostomáticas) (Fig. 1, A).

Los estomas se encuentran localizados en hileras de células isodiamétricas, rodeados por hileras de células largas. Están separados por 1-2 células isodiamétricas o bien son adyacentes. No se distinguen células anexas (Fig. 1, B).

En vista superficial no solamente se destaca el contorno elíptico o circular de los estomas sino que se observan los engrosamientos del poro (rp), engrosamientos de las paredes de contacto (bp), polares y/o epidérmicos de las células oclusivas (re), y además, la presencia de áreas de contorno y forma definida (aa, ar), debidas a diferente impregnación de la cara externa de las oclusivas y la consecuente reacción a ciertos colorantes (Fig. 1, C).

Los estomas son elípticos en *P. andina* (Fig. 1, K-L), *P. chilina* (Fig. 1, N-O), *P. nubigena* (Fig. 1, G-H), *P. parlatoei* (Fig. 1, D) y *P. saligna* (Fig. 1, P-Q); circulares en *P. magnifolius* (Fig. 1, M y R) y de elípticos a circulares en *P. lambertii* (Fig. 1, I-J) y *P. sellowi* (Fig. 1, E-F).

En vista superficial y tomando como centro el eje que pasa por el poro, se delimitan a cada lado y sobre la oclusiva áreas con forma de ala y de riñón, que se han designado aquí como aliformes y reniformes respectivamente (aa y ar, Fig. 1, C). Oclusivas con áreas aliformes se encuentran en *P. andina* (Fig. 1, K-L), *P. lambertii* (Fig. 1, I-J), *P. nubigena* (Fig. 1, G-H), *P. parlatoei* (Fig. 1, D) y *P. sellowi* (Fig. 1, E-F), con áreas reniformes en *P. chilina* (Fig. 1, N-O) y *P. saligna* (Fig. 1, P-Q) y con áreas aliformes y reniformes, al azar y en similar proporción se observaron en estomas de *P. magnifolius* (Fig. 1, M y R).

En la mayor parte de los casos esas áreas coloreadas se extienden desde el borde poral (que no es llamativamente engrosado) y no llegan hasta el borde epidérmico de la oclusiva. Ocasionalmente el área coloreada llega hasta el borde mismo de la célula oclusiva, como en *P. chilina* (Fig. 1, N).

Además de los caracteres mencionados, las oclusivas presentan engrosamientos localizados cuya distribución es variable en las distintas especies. Se han observado engrosamientos en las paredes de contacto de las oclusivas, en las paredes epidérmicas de las mismas y en la pared poral. Las paredes engrosadas en la cara de unión de las oclusivas contactan con piezas polares de forma variable, integradas tan estrechamente que a veces parecen formar un único engrosamiento. Estos espesamientos de pared de contacto tienen forma de barra recta y siempre se conectan con algún



tipo de pieza polar.

Estas barras presentan una extensión aproximada de 1/3 del largo total del estoma, son relativamente angostas, algo ensanchadas o notablemente engrosadas. Estas barras tienen el extremo que contacta con el poro recto, casi recto, curvo, cortamente bifido, abrazando ampliamente el contorno polar del ostiolo o bien unido al reborde del mismo.

En la mayoría de las especies las barras son rectas y están engrosadas de modo uniforme en toda su longitud, mientras que en *P. sellowi* (Fig. 1, E) son más bien onduladas que rectas. Barras rectas anchas se observan en *P. nubigena* (Fig. 1, G) y barras rectas delgadas en *P. lambertii* (Fig. 1, I) y *P. parlatorei* (Fig. 1, D).

El extremo de la barra que contacta con el poro termina en forma recta o levemente curva en *P. chilina* (Fig. 1, O), *P. nubigena* (Fig. 1, H), *P. magnifolius* (Fig. 1, R), *P. parlatorei* (Fig. 1, D) y *P. sellowi* (Fig. 1, E-F); tiene aspecto bifido en *P. lambertii* (Fig. 1, J) y *P. saligna* (Fig. 1, P-Q) y está unido al reborde poral en *P. andina* (Fig. 1, K-L).

Se presentan 2 tipos de piezas polares: "en V" o "en T". En las piezas "en T" los 2 brazos se extienden lateralmente abarcando casi completamente a las dos células oclusivas. En las piezas "en V" la longitud de los brazos es menor, de forma más o menos hendida y se extiende no más allá del diámetro del poro. Piezas polares "en T" se encuentran en *P. andina* (Fig. 1, K-L), *P. lambertii* (Fig. 1, I-J) y *P. magnifolius* (Fig. 1, M y R), y "en V" se observan en *P. chilina* (Fig. 1, N-O), *P. parlatorei* (Fig. 1, D) y *P. saligna* (Fig. 1, Q).

En la mayoría de las especies de *Podocarpus* analizadas, la pared poral de las células oclusivas no presenta engrosamientos. Rebordes de poro notables, celulósicos o de otra composición, se encuentran en *P. chilina* (Fig. 1, O), *P. nubigena* (Fig. 1, H), *P. saligna* (Fig. 1, P) y *P. sellowi* (Fig. 1, E-F) donde son frecuentemente crenados. En *P. andina* (Fig. 1, K-L) el contorno del poro forma un solo engrosamiento con las barras polares y piezas "en T".

En la pared epidérmica de las células oclusivas no hay espesamientos, y estas paredes son relativamente delgadas.

#### Reacciones químicas en las células oclusivas

Las pruebas histoquímicas indican que la pared de las células oclusivas es predominantemente celulósica. Las áreas coloreadas representan la zona en que la celulosa está impregnada de lignina y cutina.

La mayor lignificación y cutinización de los engrosamientos se encuentra en las áreas de contacto de las oclusivas y las piezas polares, en tanto que solamente en *P. andina* (Fig. 1, K-L) se observa lignificación en el borde poral.

De acuerdo con las observaciones, se encontraron:

– estomas elípticos; áreas coloreadas aliformes que no llegan hasta el borde epidérmico de la oclusiva; barras polares rectas delgadas y conectadas con piezas polares "en V" de brazos cortos; extremo de la barra que contacta con el poro curvo; en *P. parlatorei* (Fig. 1, D).

– estomas elípticos a circulares; áreas coloreadas aliformes que no llegan hasta el borde epidérmico de la oclusiva; barras polares delgadas, anchas o irregulares, algo sinuosas y que a veces se angostan hacia el poro; piezas polares "en V" o "en T"; poro con engrosamiento de celulosa, ondulado, crenulado o crenado, raro liso; en *P. sellowi* (Fig. 1, E-F).

– estomas elípticos; áreas coloreadas aliformes que no llegan hasta el borde epidérmico de la oclusiva; barras polares muy anchas, notablemente engrosadas, y piezas polares "en T" o "en V"; en *P. nubigena* (Fig. 1, G-H).

– estomas elípticos o circulares; áreas coloreadas aliformes que no llegan hasta el borde epidérmico de la oclusiva; barra recta delgada con el extremo que contacta con el poro recto o barra engrosada con el extremo bifido; piezas polares "en T"; en *P. lambertii* (Fig. 1, I-J).

– estomas elípticos; áreas coloreadas aliformes que no llegan hasta el borde epidérmico de la oclusiva; barras polares cortas conectadas con el reborde de poro e integradas en un solo engrosamiento con piezas polares "en T" de brazos rectos anchos o curvos más delgados; en *P. andina* (Fig. 1, K-L).

– estomas circulares; áreas reniformes o aliformes que se inician en el poro y se continúan casi hasta la pared epidérmica; barra recta ancha que termina en forma recta, o engrosada unilateralmente sobre el ostiolo; piezas polares predominantemente "en T"; en *P. magnifolius* (Fig. 1, M y R).

– estomas elípticos; áreas coloreadas reniformes que llegan hasta el borde epidérmico de las oclusivas; barra recta medianamente ensanchada

que remata sobre el poro en forma curva o de "V" invertida. Piezas polares siempre "en V" de brazos anchos y curvos; en *P. chilina* (Fig. 1, N-O).

— estomas elípticos; áreas coloreadas reniformes que no llegan hasta el borde epidérmico de la oclusiva; barras polares más o menos anchas, abrazadoras y formando una "V" invertida en torno al ostíolo; piezas polares "en V" de brazos cortos; en *P. saligna* (Fig. 1, P-Q).

### CONCLUSIONES

La variación en los caracteres de las oclusivas de varias especies de *Podocarpus* indica que cada especie se caracteriza por una combinación de rasgos morfológicos: contorno del estoma, extensión y forma de las áreas coloreables, paredes de contacto engrosadas, piezas polares "en T" o "en V" y eventualmente engrosamientos del poro; es decir que la combinación de todos estos caracteres es diagnóstico en el nivel específico.

La mayor proporción de cutina y lignina incrustada en la matriz celulósica de la pared externa de las oclusivas determina la presencia de áreas de contorno y extensión definidas, aliformes y reniformes, que se ponen en evidencia con colorantes específicos y que llegan o no al borde epidérmico de las oclusivas.

La pared de contacto de las oclusivas, engrosada en forma de barra y conectada con algún tipo

de pieza polar, presenta una marcada impregnación de lignina y cutina. En las especies analizadas no se ha observado el borde epidérmico de las oclusivas engrosado.

### AGRADECIMIENTOS

Se agradece a la Dra. Cristina Rolleri la lectura crítica del manuscrito y a la Lic. Mónica Rodríguez por su colaboración en la preparación de la ilustración.

### BIBLIOGRAFIA CITADA

- Baranova, M. A. 1972. Systematic anatomy of the leaf epidermis in the Magnoliaceae and some related families. *Taxon* 21: 447-469.
- del Fueyo, G. 1988. Anatomía y ontogenia foliar de *Podocarpus parlatorei* (Podocarpaceae). *Bol. Soc. Arg. Bot.* 25 (3-4): 353-367.
- Gurr, E. 1965. The rational use of dyes in biology. The Williams and Wilkins Co., London.
- Johansen, D. A. 1940. Plant Microtechnique. Mac Graw Hill, New York.
- Rolleri, C. 1972. Sobre la presencia y naturaleza de la endodermis en especies de *Lycopodium* L. s. str. *Bol. Soc. Arg. Bot.* 14: 365-369.
- Simón, L. E. 1991. Caracteres epidérmicos foliares en la sistemática de especies argentinas del género *Chenopodium* L. (Chenopodiaceae). Tesis doctoral. Facultad de Ciencias Naturales y Museo. U.N.L.P.
- Stace, C. A. 1966. The use of epidermal characters in phylogenetic considerations. *New Phytol.* 65: 304-318.