

Morfoanatomía y composición lipídica en hojas de *Sapindus saponaria* L. (Sapindaceae) y *Tipuana tipu* (Benth.) O. Kunth. (Leguminosae)

por G. I. Ponessa¹; A. M. Zenoff²; M. F. Parrado³ y H. Moreno⁴

1. Investigadora Fundación Miguel Lillo. Morfología Vegetal. Miguel Lillo 205, (4000) San Miguel de Tucumán.

2. Profesional adjunto CONICET. Docente Química Biológica, Facultad de Bioquímica, Química y Farmacia, Universidad Nacional de Tucumán.

3. Auxiliar de Investigador Fundación Miguel Lillo. Morfología Vegetal. Miguel Lillo 205, (4000) S. M. de Tucumán.

4. Profesora asociada de Química Biológica. Facultad de Bioquímica, Química y Farmacia, UNT.

Summary

«Morphoanatomy and lipidic composition of leaves of *Sapindus saponaria* L. (Sapindaceae) and *Tipuana tipu* (Benth.) O. Kunth (Leguminosae)». This native species of the lower forest mountains of Tucumán are in danger of extinction. Dorsal-ventral similarities, epidermic cells, stomatic apparatus and symetries of the sheet, have been registered in transversal cuttings. Nervertheless, significant differences at level of the xilematic and sclerenquimatic tissues have been observed. They were greater in *Tipuana tipu* than in *Sapindus saponaria*, as following: 52.72-15.83% (dead tissues) and 74.28-84.15% (living tissues) respectively. Higher contents of phospholipid, glycolipid, sterol and triglyceride have been detected in *Sapindus saponaria* than in *Tipuana tipu*. However, no percentage changes in the lipid classeshave been noted in these species. At last, as result, we can say that in both species «the lipid quantity is directly proportional to the percentage of living tissues».

Key words: *Sapindus saponaria*, foliar morphology, leaf anatomy, lipids, Sapindaceae, *Tipuana tipu*, leguminosae.

Introducción

Los géneros *Sapindus* (Sapindaceae) y *Tipuana* (Leguminosae) han sido poco estudiados en cuanto a su morfología y anatomía foliar (Burkart, 1952; Digilio y col., 1966; Metcalfe y Chalk, 1972; Legname, 1982). La composición lipídica de las hojas es aún desconocida.

Sapindus saponaria y *Tipuana tipu* son especies autóctonas del bosque montano inferior tucumano, el cual se encuentra al pie de la ladera oriental de las Sierras de San Javier, que pertenece al sistema subandino (Mon y Suayter, 1973). Fitogeográficamente, la región corres-

Tabla 1 Exomorfología foliar.

	<i>Sapindus saponaria</i>	<i>Tipuana tipu</i>
Hoja		
Tipo	Compuesta paripinnada	Compuesta imparipinnada
Filotaxis	Alternas	Subopuestas, opuestas, alternas
Tamaño	15-30 largo x 19-20 cm ancho	10-20 largo x 15-18 cm ancho
Folículo		
Número	6-12	5-11
Filotaxis	Opuestos, subopuestos, alternos	Opuestos alternos
Forma	Elíptico, lanceolado, aovado	Oblonga
Tamaño	6-8 largo x 1,5-4 cm ancho	2-4,5 largo x 0,7- 2 cm ancho
Base	Aguda	Obtusa
Ápice	Acuminado	Emarginado
Margen	Entero	Entero

ponde al distrito de las Selvas de Montaña, dentro de la Provincia de las Yungas (Cabrera, 1976; Vervoorst, 1979).

Estas especies son utilizadas por su riqueza maderera y debido a la tala indiscriminada están en vías de extinción.

La deforestación está causando a nivel tierra la pérdida de la diversidad biológica ya que desaparecen numerosas especies vegetales sin ser estudiadas.

El propósito de este trabajo es comenzar la caracterización de las mismas analizando su exomorfología y anatomía foliar, como así también su composición lipídica.

Materiales y métodos

Trabajo a campo. Los ejemplares se coleccionaron en la Reserva de Flora y Fauna de Horco Molle, a 10 km al oeste de San Miguel de Tucumán (Argentina) a 25°27' lat. S y 65°23' long. O a 600 m snm.

Para obviar errores de muestreo se trabajó con 4 ejemplares en igual estado fenológico. De cada ejemplar se tomó la quinta hoja a partir del ápice, una rama periférica a la mitad de

la copa orientación norte. Se tuvo en cuenta la edad de los ejemplares (30-35 años) y su buen estado de sanidad.

El material fue fijado en formol, agua, ácido acético y alcohol (100/ 350/ 50/ 500 V/V/V/V) (F.A.A.) para ser observado en microscopio óptico (M.O.)

Se pesaron 50 gramos de hojas de cada especie para los análisis lipídicos.

Material examinado

Sapindus saponaria:

Argentina: Tucumán. Dpto. Yerba Buena. Horco Molle 600 m snm. 10/III/93. G. Ponessa y M. Parrado (LIL 595786).

Tipuana tipu:

Argentina: Tucumán. Dpto. Yerba Buena. Horco Molle 600 m snm 10/III/93. G. Ponessa y M. Parrado (LIL 595887).

Trabajo en laboratorio. Para estudios anatómicos se procedió a incluir el material en parafina Johansen (1940). Los cortes transversales de la semilámina se efectuaron de 5 a 7 micras de espesor. Se tiñó con safranina-fast green Dizeo de Strittmater (1979), hematoxilina-eosina,

Tabla 2 Anatomía de la lámina del folíolo terminal.

	<i>Sapindus saponaria</i>	<i>Tipuana tipu</i>
Tipo	Dorsiventral, hipostomática	Dorsiventral, anfiestomática
Epidermis	Uniestrata, cel. poligonales de pared recta	Uniestrata, cel. poligonales de pared recta
Ap. estomático	Anomocítico	Anomocítico
Mesófilo	1-2 estratos	4-5 estratos
Esponjoso	Compacto	Laxo
C.T.N. medio	Semicircular, colateral sin parénquima medular	Rómbico, colateral con parénquima medular
C.T.N. menores	Circular, vaina parenq. completa	Circular, vaina parenq. completa
Esclerénquima	Anillo en nervio medio	Casquete en relación al floema y viga adaxial vinculado a xilema en nervio medio
Colénquima	Subepidérmico, adaxial y abaxial a la altura del N. medio	Subepidérmico, abaxial a la altura del N. medio
Idioblastos	P. en epidermis	P. en empalizada
Cristales	P. en empalizada esponjoso y en parénquima en N. medio	Ausentes
Ap. exodérmicos	Tipo 1 y 2	Tipo 1
Long. Estomática	6,92 u	19,74-12,3 u
Dens. Estomática	300 ext. x mm ²	323-432 est. x mm ² (epidermis abaxial)

Brown (1969). Se observaron en un microscopio Wild M 20, se contó con la ayuda de la cámara clara para elaborar los esquemas. La simbología usada en la elaboración de los mismos pertenece a Metcalfe *et al.* (1972). La cuantificación de los tejidos se efectuó con un analizador de imágenes (Macintosh, Image 1.45).

Extracción de lípidos. Las hojas fueron lavadas, cortadas y sus lípidos extraídos utilizando el método de Blight y Dyer (1959). La capa clorofórmica inferior fue concentrada hasta sequedad en el vacío y el residuo lipídico disuelto en un volumen conocido de cloroformo.

Cuantificación de los lípidos. El fósforo total de fosfolípidos fue determinado por el método de Ames (1966); esteroides totales por el método de Liberman-Bouchard (Lynch *et al.*, 1963); glicolípidos totales por el método del fenol sulfúrico (P. G. Roughan & R. D. Batt, 1967) y triglicéridos totales por el método enzimático colorimétrico de Lab. Wiener. Los lípidos polares fueron separados por cromatografía en capa fina en placas de sílica gel, Merck G6 en cloroformo/ metanol/ ácido acético/ agua (100/ 42/2/1 V/V/V/V) Trémolières & Lepage (1971). Los lípidos neutros fueron separados por cromatografía en éter de petróleo/ éter etílico.

Tabla 3 Composición lipídica de hojas de *Sapindus saponaria* y *Tipuana tipu*.

	Fosfolípidos (mg/g peso h.)	Glicolípidos (mg/g peso h.)	Esteroles (mg/g peso h.)	Triglicéridos (mg/g peso h.)
<i>Sapindus saponaria</i>	0,31 ± 0,08	0,6 ± 0,10	0,30 ± 0,09	0,25 ± 0,08
<i>Tipuana tipu</i>	0,14 ± 0,06	0,30 ± 0,09	0,19 ± 0,08	0,11 ± 0,05

mg/g peso h.: mg/g peso húmedo.

Los datos representan la media de tres determinaciones separadas de 50 g de hoja cada una.

Tabla 4 Especies moleculares de glicolípidos (mg/g peso húmedo).

	<i>Sapindus saponaria</i>	<i>Tipuana tipu</i>
DGDG*	0,30	0,15
MGDG**	0,28	0,13
MGDG / DGDG	0,92	0,93

(*) Digalactosildiacilglicerol.

(**) Monogalactosildiacilglicerol.

co/ ácido acético (175/75/1 V/V/V) (H. J. Mangold, 1961).

Resultados y discusión

En la tabla 1 y figuras 1 y 2 se muestra la descripción exomorfológica de la hoja y del folíolo. Los caracteres filotaxis y margen son comunes en ambas especies, en tanto que tipo, tamaño, número de folíolos, forma, base y ápice de las mismas permiten reconocer rasgos a nivel de especies. En la tabla y figuras 3 y 4 se describe la lámina del folíolo terminal.

Entre los rasgos comunes se citan: la dorsiventralidad, la epidermis con células poligonales de pared recta, el tipo anamocítico del aparato estomático, la forma en que se presentan los nervios menores en transcorte (circular, con vaina parenquimática completa). Entre los rasgos distintivos se citan el tipo hipostomático en *Sapindus saponaria* y anfiestomática en *Tipuana tipu*, el tejido en empalizada con mayor número de estratos (4-5) en *Tipuana tipu*, la com-

pacidad del tejido esponjoso es mayor en *Sapindus saponaria*, el nervio medio en transcorte se presenta semicircular sin parénquima medular en *Sapindus saponaria*, en tanto que en *Tipuana tipu* rómbico, con parénquima medular, ambos nervios medios son colaterales; el esclerénquima en anillo en el nervio medio en *Sapindus saponaria* y en casquete y viga en *Tipuana tipu*.

La tabla 3 muestra la composición lipídica en hojas de *Sapindus saponaria* y *Tipuana tipu*. El contenido lipídico varía marcadamente entre las dos especies. En *Sapindus saponaria* detectamos mayor cantidad de todos los lípidos totales: fosfolípidos, glicolípidos, esteroles y triglicéridos.

La tabla 4 muestra la composición de las especies moleculares de los glicolípidos mayoritarios en hojas, Monogalactosildiacilglicerol (MGDG) y Digalactosildiacilglicerol (DGDG), determinación realizada por cromatografía en placa delgada.

Tabla 5 Especies moleculares de fosfolípidos (mg/g peso húmedo).

	<i>Sapindus saponaria</i>	<i>Tipuana tipu</i>
PC	0,120	0,062
PE	0,060	0,031
PG	0,040	trazas
PA	0,015	trazas
PI	trazas	trazas

PC= fosfatidil colina; PE= fosfatidil etanolamina; PG= fosfatidil glicerol; PA= ácido fosfatídico; PI= fosfatidil inositol.

Tabla 6 Cuantificación de los tejidos del folíolo terminal (% del área total).

	<i>Sapindus saponaria</i>	<i>Tipuana tipu</i>
	%	%
Epidermis	12,16	9,78
Empalizada	24,49	27,13
Esponjoso	7,38	11,37
Colénquima	13,27	8,18
Esclerénquima	11,55	18,85
Xilema	4,28	6,87
Floema	1,99	8,15
Parénquima	24,87	9,15
Total	99,99	100,00

Se observa mayor cantidad de estas dos especies moleculares de glicolípidos en *Sapindus saponaria*, en concordancia con los resultados de la tabla 1. Sin embargo, no se observan cambios en la proporción de los mismos en las dos especies, como lo demuestra la relación MGDG/ DGDG que es de 0,92 y 0,93 respectivamente.

Análisis de las especies moleculares de fosfolípidos (tabla 5) muestra que fosfatidilcolina (PC) y fosfatidiletanolamina (PE) son las clases mayoritarias; observamos mayor cantidad de todas las especies moleculares en *Sapindus saponaria*, las proporciones relativas de las mismas no cambian entre las dos especies.

Para tratar de explicar la mayor riqueza de lí-

pidos por gramo de hoja en *Sapindus saponaria*, se realizó la cuantificación de los tejidos del folíolo terminal (tabla 6).

Se encontró: 1) que la sumatoria de tejidos heterogéneos como el xilema (con numerosas células muertas a la madurez, elementos de vaso) y el tejido esclerenquimático totalizan el 15,83% del área total en *Sapindus saponaria* y el 25,72% en *Tipuana tipu*. Estos tejidos no poseen sistemas de membranas y cumplen con la función de conducción y sostén, por la presencia de pared celular secundaria; 2) a pesar de que *Sapindus saponaria* presenta un folíolo en transcurso más fino, los tejidos presentes en ella son en un 84,15% tejidos vivos a la madurez, lo que implica la presencia de membranas

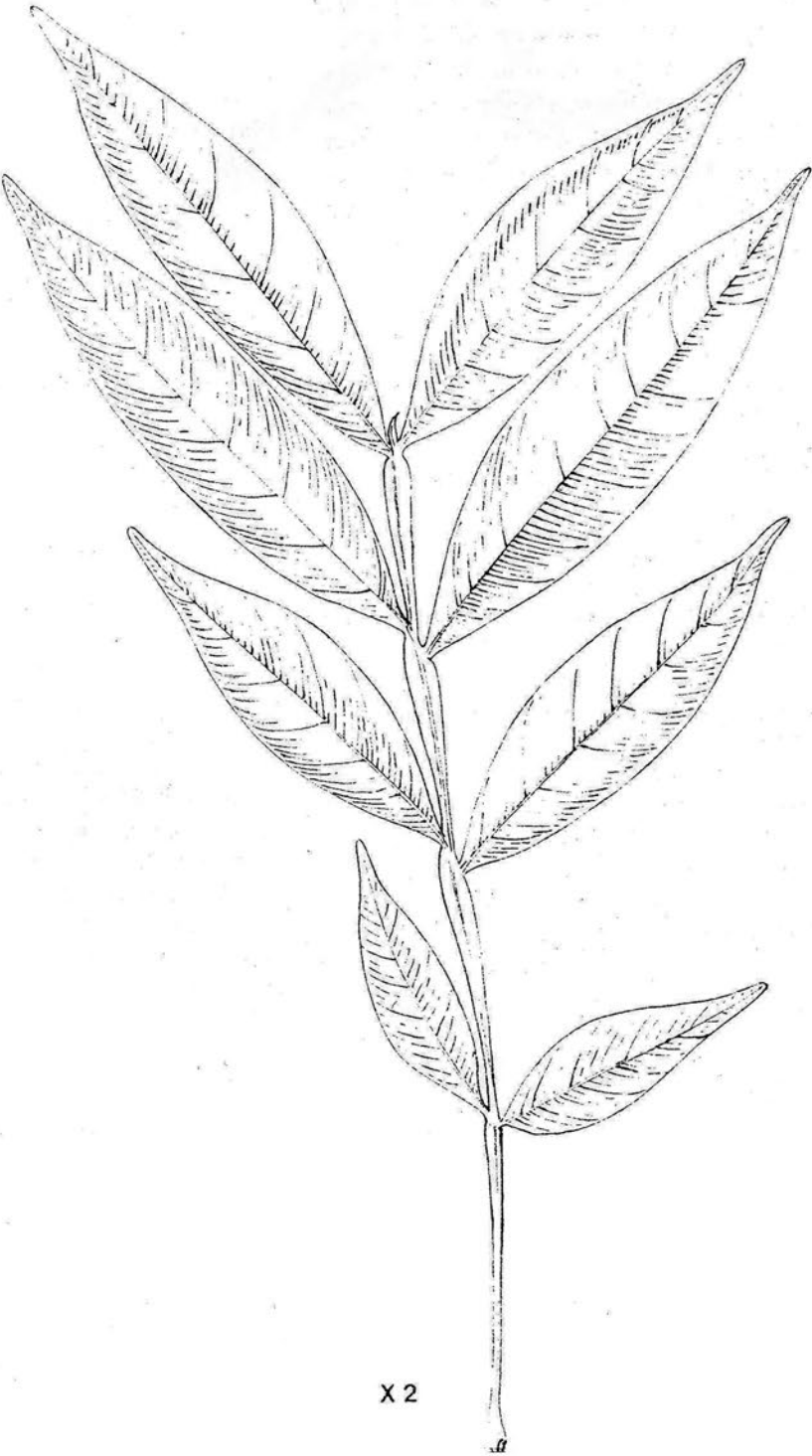
plasmáticas, y por consiguiente lípidos polares, mientras que en el transcorte de *Tipuana tipu* se observa menor proporción de tejido vivo (74,28%); 3) *Sapindus saponaria* posee menos tejido esponjoso que *Tipuana tipu*, y como se observa en la figura 4, el tejido esponjoso de esta especie es más laxo y con grandes cámaras de aire.

Conclusión

La cantidad de lípidos totales varía entre las dos especies. Estos resultados se correlacionan positivamente con el porcentaje de tejido vivo en la madurez, que es mayor en *Sapindus saponaria* que en *Tipuana tipu*.

Bibliografía

- AMES B. N., 1966. «Assay of inorganic phosphate, total phosphate and phosphatases». En: *Methods Enzymol.* 8: 115-118.
- BLIGH E. G. & W. J. DYER, 1959. «A rapid method of total lipid extraction and purification». *Can. J. Biochem. Physiol.* 37: 911-917.
- BROWN G., 1969. *Histopathology Technique*. Apleton Century Crofts, 224 p.
- BURKART A., 1952. *Las leguminosas argentinas silvestres y cultivadas*. 2da. Edic. Acme Agency S.R.L. Bs. As., 570 p.
- CABRERA A. L., 1976. «Territorios fitogeográficos de la República Argentina». *Enciclopedia de Agricultura y Jardinería*. Bs. As. II. Acme Saci, 85 p.
- DIGILIO A. P. & R. P. LEGNAME, 1966. «Los árboles indígenas de la provincia de Tucumán». *Opera lilloana* 15: 1-42.
- DIZEO DE STRITTMATER C., 1979. «Modificación de una coloración safranina-fast green». *Bol. Soc. Arg. de Botánica* 18: 3-4, 121-122.
- JOHANSEN D. A., 1940. *Plant Microtechniques*. New York, Mc Graw-Hill Book Company Inc., 523 p.
- LEGNAME P., 1982. «Árboles indígenas del Noroeste Argentino». *Opera lilloana* 34: 78-81.
- LYNCH M. J.; S. S. RAPHAEL; L. D. MELDON; P. D. SPACE; P. HILLS & M. J. H. INWOOD, 1963. *Cholesterol. Medical Laboratory Technology*. W. B. Saunders. London.
- MANGOLD H. J., 1961. «Thin layer chromatography of lipid». *J. Amer. Oil Chem. Soc.* 47: 762-777.
- METCALFE L. D. & L. CHALK, 1972. *Anatomy of the Dicotyledons*. Oxford, Clarendon Press. I, 724 p.
- MON R. R. & L. E. SUAYTER, 1973. «Geología de la Sierra de San Javier (Prov. de Tucumán, Argentina)». *Acta geológica lilloana* XII (10), 155-168. 2 Mapas. UNT.
- ROUGHAN P. G. & R. D. BATT, 1967. «Quantitative analysis of sulpholipid (sulphoquinovosyl diglyceride) and galactolipids (monogalactosyl and digalactosyl diglycerides) plant tissues». *Anal. Biochem.* 22: 74-88.
- TRÉMOLIÉRE A. & M. LEPAGE, 1971. «Changes in lipid composition during greening of etiolated pea seedling». *Plant Physiol.* 47: 329-334.
- VERVOORST F., 1979. «La vegetación del Noroeste Argentino y su degradación». Serie *Conservación de la Naturaleza*, Fundación Miguel Lillo. 1 Mapa, 9 p.



x 2

Figura 1. Aspecto general de hoja compuesta paripinnada de *Sapindus saponaria*. A. x 2.

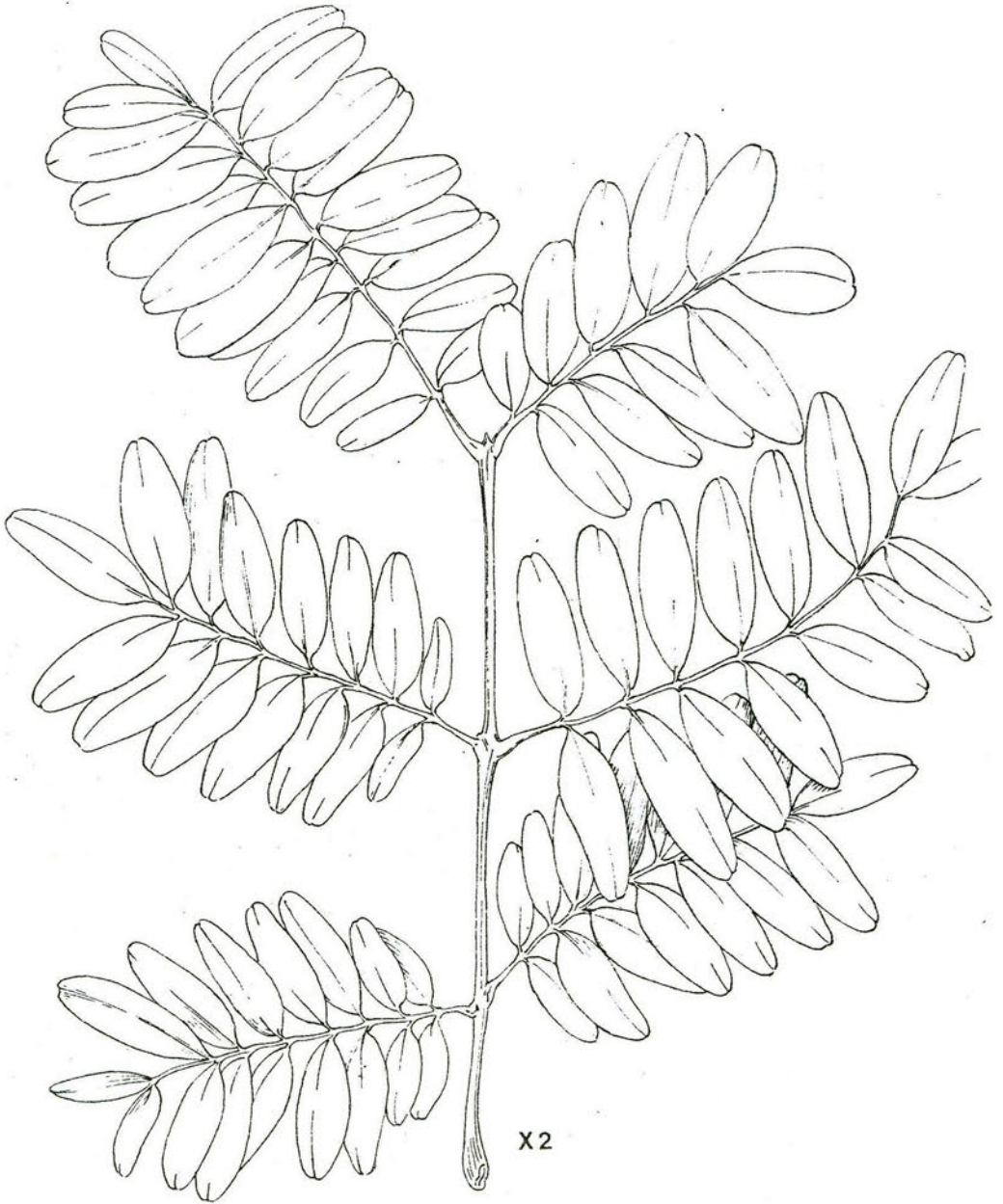
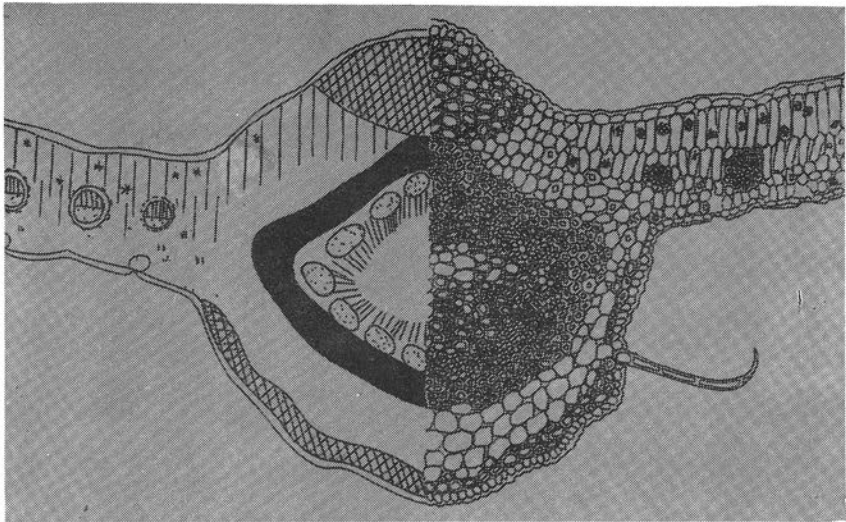
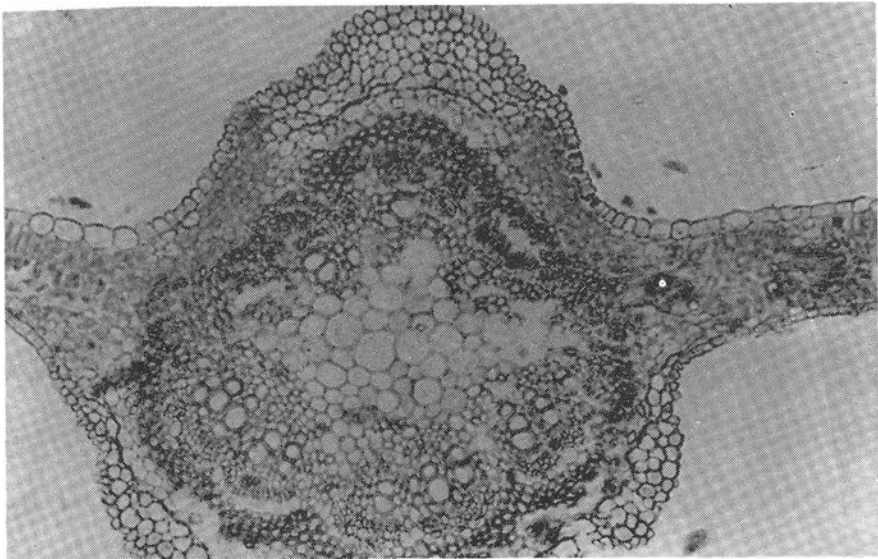


Figura 2. Aspecto general de hoja compuesta imparipinnada de *Tipuana tipu*. A. x 2.



A



B

Figura 3. Corte transversal de la lámina del folíolo terminal de *Sapindus saponaria* a la altura del nervio medio. Simbología de los tejidos:

	colénquima		parénquima	
	empalizada		esponjoso	
	esclerénquima		floema	 xilema

A= esquema; B= fotomicroscopía.

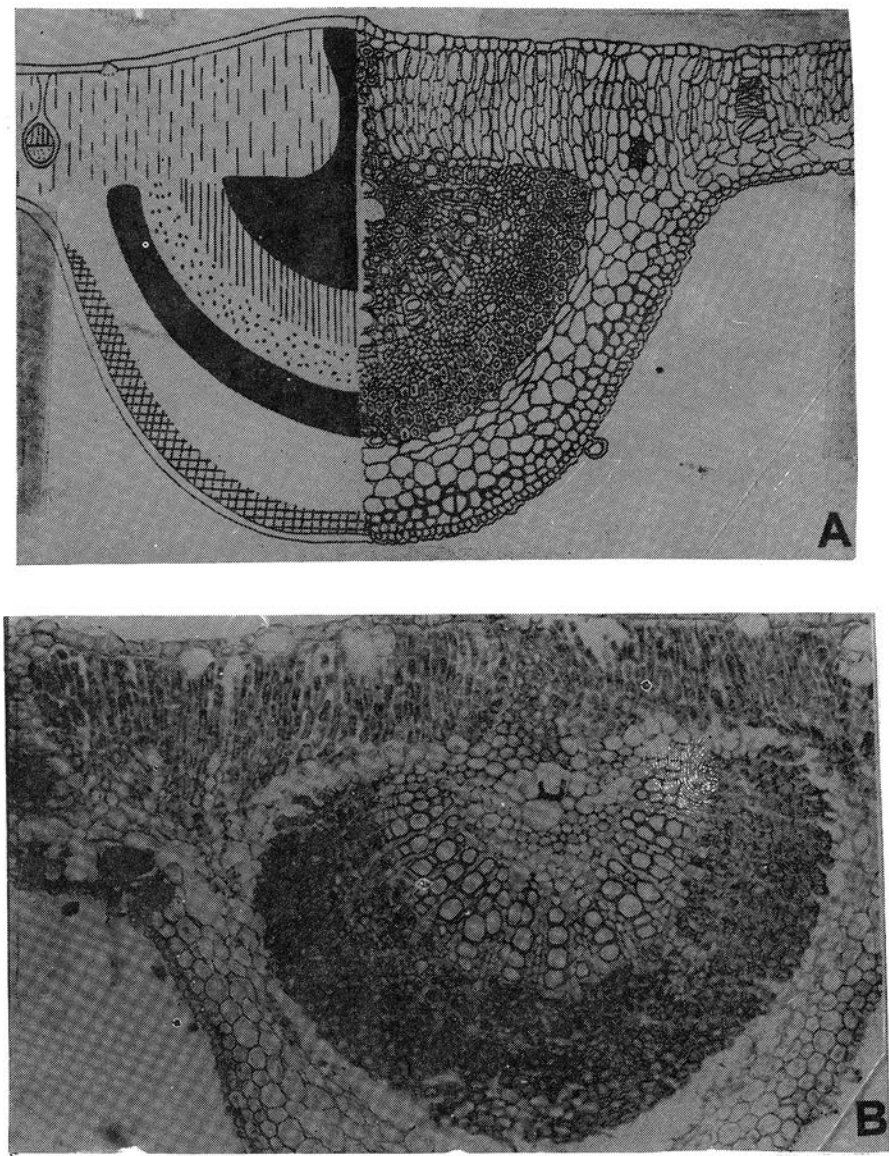


Figura 4. Corte transversal de la lámina del folíolo terminal de *Tipuana tipu* a la altura del nervio medio. Simbología de los tejidos:

- | | | |
|--|--|--|
|  colénquima |  parénquima | |
|  empalizada |  esponjoso | |
|  esclerenquima |  floema |  xilema |

A= esquema; B= fotomicroscopía.