

Evaluación de parámetros morfoanatómicos foliares para la identificación de *Rubus imperialis* Cham. & Schldl. (Rosaceae) en la Selva Montana de Tucumán, Argentina

Podazza, G. y M. G. Gallardo

Instituto de Ecología, Área Botánica, Fundación Miguel Lillo, Miguel Lillo 251, (4000) Tucumán, Argentina.

RESUMEN — Podazza, G. & M. G. Gallardo. 2007. "Evaluación de parámetros morfoanatómicos foliares para la identificación de *Rubus imperialis* Cham. & Schldl. (Rosaceae) en la Selva Montana de Tucumán, Argentina". *Lilloa* 44 (1-2). En la Selva Montana de Yungas del noroeste argentino (NOA), las especies silvestres *Rubus boliviensis* y *R. imperialis*, son citadas indistintamente, sugiriendo su coexistencia. Sería valioso contar con caracteres morfoanatómicos de la lámina foliar que permitan complementar las descripciones de la especie e identificar aquellos caracteres que presentan variaciones.

En este trabajo se analizaron parámetros morfoanatómicos del tercio medio superior de láminas foliares pertenecientes a individuos provenientes de sitios ubicados a 700 y 1.100 msnm (Tucumán, Argentina). Dichos parámetros son: el espesor de tejidos y densidad y clasificación de tricomas y estomas, y la inversa del AFE (1/AFE, masa foliar específica en g.cm⁻²)

La especie que se encuentra presente en Tucumán corresponde a *R. imperialis* y posee características anatómicas foliares específicas como presencia de cámara subestomática y vaina parenquimática alrededor del nervio medio. En los caracteres analizados a nivel foliar fue evidente que un incremento en altitud se manifiesta en un incremento en las superficies de asimilación fotosintética.

PALABRAS CLAVE: *Rubus*, zarzamora, morfoanatomía foliar, Tucumán.

ABSTRACT — Podazza, G. & M. G. Gallardo. 2007. "Morphoanatomical parameters. A contribution to identify *Rubus imperialis* Cham. & Schldl. (Rosaceae) from Tucumán, Argentina". *Lilloa* 44 (1-2). In Yungas' Montane Forests in the Native Northwest Argentina (NOA) species of *Rubus boliviensis* and *R. imperialis*, are indistinctly cited, thus suggesting their coexistence. It would be valuable to have the leaf surface morphological and anatomical traits that allow complementing the species descriptions and identifying those traits that present said variations.

In this work, the were analyzed morphological and anatomical parameters from the leaf surface upper middle third, which belong to individuals from sites located at 700 and 1.100 masl (meter above sea level) (Tucumán, Argentina). The above mentioned parameters are: tissue thickness, trichome and stomata density and classification, and the other way around SLA (specific leaf area in cm².g) and 1/SLA (specific foliar mass in g.cm⁻²).

The species present in Tucumán corresponds to *R. Imperialis* and has specific foliar anatomical traits such as the presence of a substomata chamber and parenchima pod around the medium nerve. In the traits analyzed at foliar level, it was evident that an altitude increase itself as increment in the photosynthetic assimilation surface.

KEYWORDS: *Rubus*, zarzamora, leaf morpoanatomy, Tucumán.

INTRODUCCIÓN

El género *Rubus*, de distribución cosmopolita aunque especialmente Holártica, está representado en la Selva de Yungas del Noroeste Argentino (NOA) por las especies *R. boliviensis* y *R. imperialis*, (Zardini, 1973;

Zuloaga y Morrone, 1999). Fisonómicamente se trata de arbustos apoyantes, de hasta 4 m de altura, el tallo principal esta cubierto de agujones retrorsos y no posee engrosamiento secundario; crecen en suelos sin requerimientos especiales en cuanto a nutrientes y humedad, en claros naturales o antrópicos (Schle-

chtental, 1827; Focke, 1875; Hieronymus, 1882; Alvarez, 1919; Meyer, 1963; Zardini, 1973; Novara, 1993; Giusti *et al.*, 1995).

A pesar de lo reportado por Zardini en 1973, Novara (1993) considera a *R. imperialis* como la única especie silvestre de *Rubus* presente en el NOA y realiza una descripción de la misma para el Valle de Lerma y sugiere además, que *R. boliviensis* sería una cita dudosa para Argentina, debido a que la pubescencia de hojas y ramas, resulta insuficiente como carácter diagnóstico. Esto último, como se pudo comprobar en otras especies (*Alnus* sp, *Bahinia* sp, *Solanum* sp, *Espeletia* sp), es un carácter muy variable, comúnmente influenciado por las condiciones ambientales (Meinzer y Goldstein, 1985) y además asociado con mecanismos de defensa físico y/o químico ante herbivoría, por lo tanto, no debería ser tomado en cuenta en las determinaciones taxonómicas (Johnson, 1975; Fahn, 1982, Esau, 1987; Vieira y Machado, 1992; Bravo y Grau, 1992; Figueroa Romero *et al.* 2000).

La presencia de una densa pubescencia foliar ha sido relacionada a especie típicas de ambientes xéricos, en las cuales una de sus funciones consiste en reflejar la radiación solar y evitar la pérdida de agua (Johnson, 1975; Fahn, 1982). En general estos ambientes suelen tener además menor disponibilidad de nutrientes, por lo cual las hojas frecuentemente poseen valores bajos de AFE (área foliar específica expresado en cm^2 de superficie foliar por g de carbono invertido), el cual es un indicador de cuanto carbono invierte la planta para lograr una superficie determinada de área foliar (Korner *et al.* 1986; Rice y Bazzaz, 1989; Reich *et al.* 1998; Baruch y Goldstein, 1999; Wright *et al.* 2002; Feng *et al.* 2007). Dado que *Rubus* habita en una región muy húmeda, como la selva de Yungas, además de manifestar a nivel foliar daños por herbivoría y ataque por hongos, la densidad en la pubescencia podría estar relacionada a otros tipos de factores, aparentemente de tipo ambiental, para

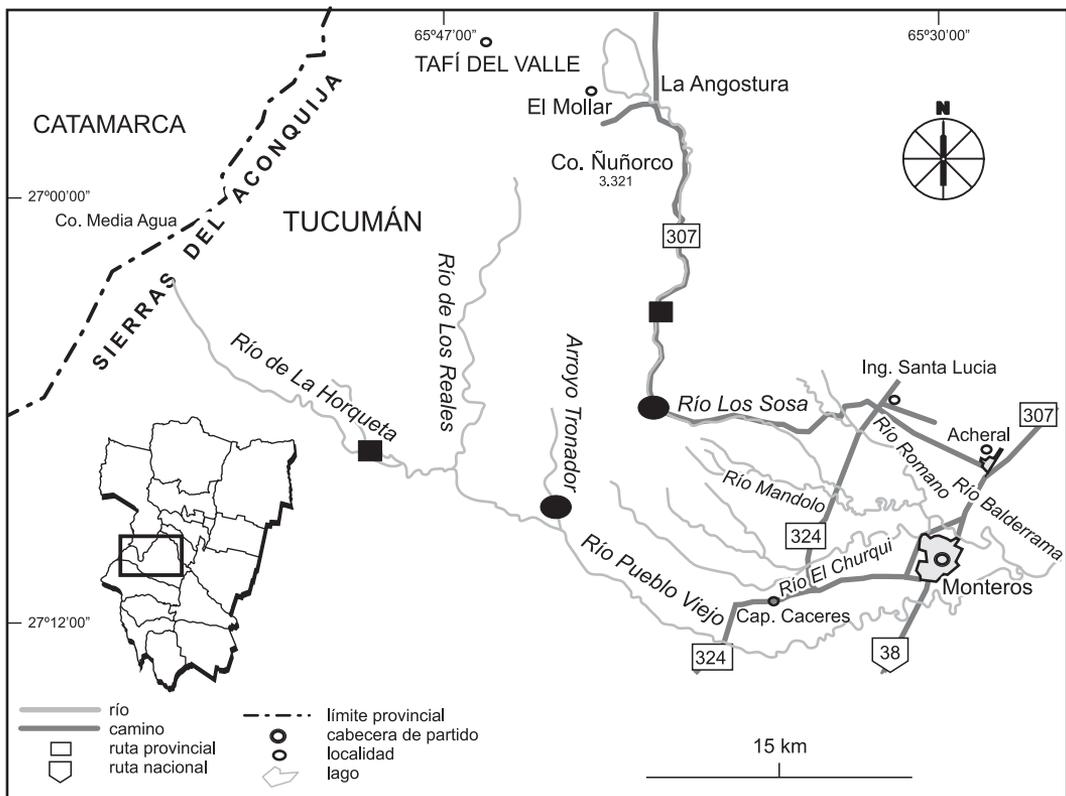


Fig. 1. Ubicación de los sitios donde se realizar los muestreos (●) 700 msnm y (■) 1.100 msnm.

lo cuál es necesario plantear el cálculo del AFE.

Por otra parte, en esta especie aún no ha sido caracterizado el tipo de pubescencia y otras variables morfológicas externas e internas (espesor de láminas, espesor de parénquimas, densidad y tipo de estomas), los cuales podrían ser útiles como elemento de relevancia taxonómica.

Este trabajo tiene como objetivos:

- analizar los caracteres morfoanatómicos y su variabilidad en el órgano foliar (disponible en la planta durante todo el año), a los fines de contribuir a las descripciones sistemáticas de las especies que se trata.

- determinar si la pubescencia foliar varía en poblaciones de *Rubus* que crecen a distintas altitudes.

- estudiar si existe una relación entre el 1/AFE con la pubescencia.

MATERIALES Y MÉTODOS

Área de estudio.— El área de estudio está situada en los departamentos Monteros y Tafí de la provincia de Tucumán, en un sector de Selva Montana, entre los 27°00' y 27°30' S y los 65°30' y 66°00' O. Los sitios de muestreo fueron elegidos a dos altitudes diferentes (fig. 1):

700 msnm (sitio 1)

- Terraza fluvial del A° “Tronador” (Reserva Fiscal La Florida, Monteros).

- Terraza fluvial del Río “Los Sosa” (km 21, Tafí).

1.100 msnm (sitio 2)

- Terraza fluvial del Río “La Horqueta” (Reserva Fiscal La Florida, Monteros).

- Terraza fluvial del Río “Los Sosa” (km 32, Tafí).

Material Vegetal.— El material fresco empleado para los estudios anatómicos se obtuvo mediante muestreos realizados en verano e invierno durante los años 2003 y 2004. En cada sitio se recogieron muestras foliares de 10 individuos diferentes tomados al azar, en cada uno de ellos se recolectaron muestras del folíolo terminal de la 4° hoja completamente desarrollada desde el ápice de la rama.

Para la determinación taxonómica se co-

lectaron ramas fértiles de ambos sitios y se emplearon las descripciones originales de *R. imperialis* y *R. boliviensis* (Chamisso y Schlechtendal, 1827; Focke, 1875), como así también la realizada por Novara (1993).

Análisis morfoanatómico.— La sección analizada de la hoja correspondió al tercio medio superior derecho del folíolo terminal. La muestra fue fijada en FAA (1:1:8 v/v/v formal: ácido acético: alcohol 80%). El análisis de la epidermis se realizó por medio de un diafanizado con el método de Dizeo de Strittmater (D'Ambrogio de Argüeso, 1986) para observar tipos de células, densidad y tipos de tricomas, como así también densidad y tipo de estomas. Para el análisis de espesor de los distintos tejidos: epidermis abaxial (ep abx), epidermis adaxial (ep adx), clorénquima en empalizada (cl emp) y clorénquima esponjoso (cl esp), se realizaron cortes transversales a mano alzada. Para la identificación de los mismos se practicaron tinciones con safranina. Los preparados temporarios fueron montados en agua: glicerina 50%^{v/v}. Las observaciones y mediciones se hicieron bajo microscopio óptico calibrado (Zeiss, Germany). Los espesores de tejidos (epidermis y clorénquima) se midieron con micrómetro ocular 6x (Leitz, Germany).

Las fotos se tomaron en microscopio óptico (Zeiss, Germany) con cámara digital Canon 7,1 megapixel.

Área foliar específica (AFE).— Las muestras de tejido se extrajeron discos con sacabocado (6,4 mm de diámetro), luego se secaron en estufa (marca San Jor) a 84 °C hasta peso constante se registró el peso seco (PS) de cada uno con una balanza analítica de precisión (OHAUS, precisión: 0,0001 g).

El AFE se calculó como la relación entre el área foliar (cm²) y el PS (g). En los cálculos se utilizó la inversa del AFE (1/AFE: g de peso seco de tejido foliar/cm²)

Análisis estadísticos.— Los promedios y la desviación estándar fueron calculados para cada uno de los parámetros medidos, los datos obtenidos en los diferentes análisis fueron analizados estadísticamente y sometidos al test de Tuckey.

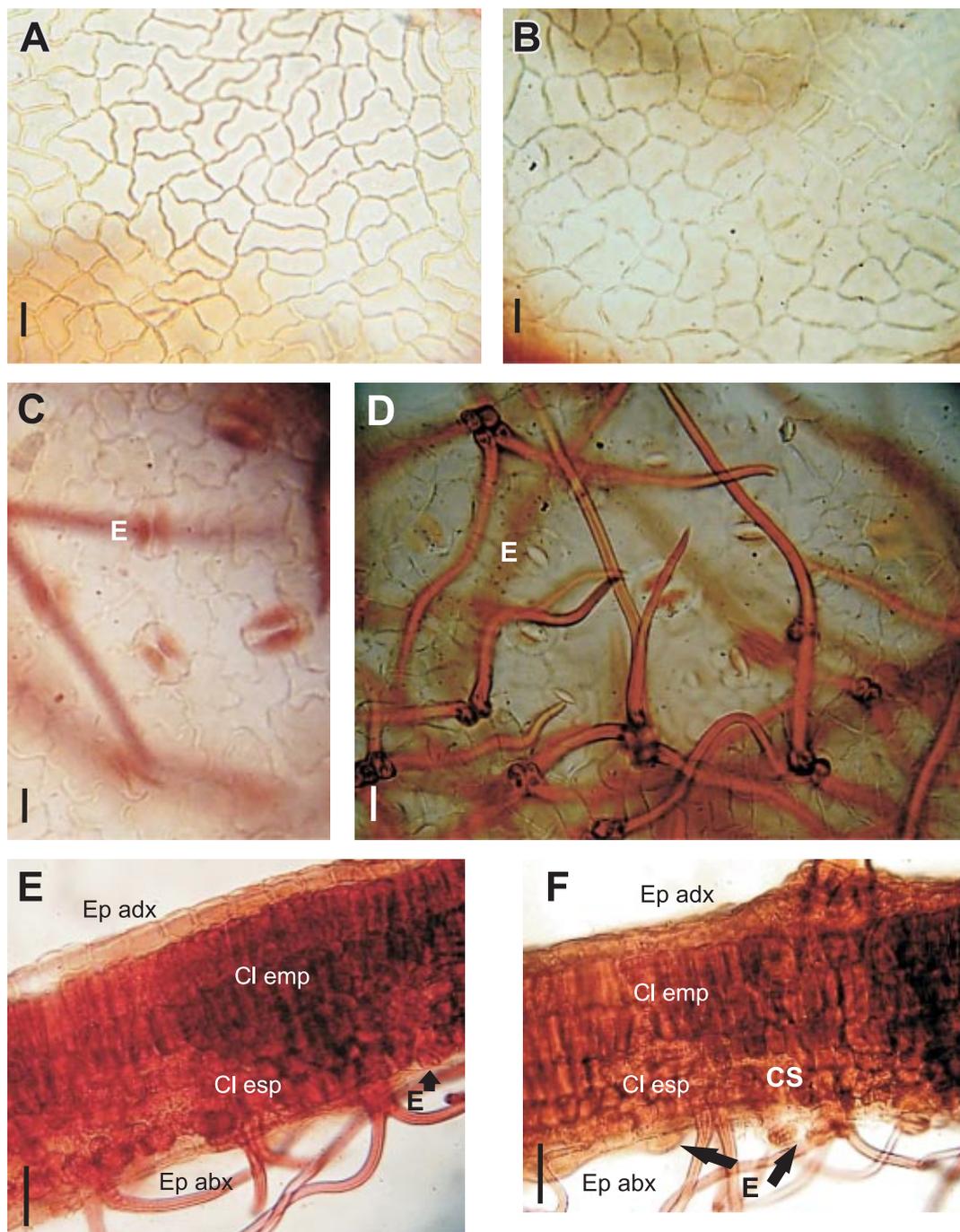


Fig. 2. *R. imperialis*. Aspecto de la epidermis adaxial de hojas correspondientes a 700 msnm (A) y a 1.100 msnm (B), donde se observan células poliédricas. Aspecto de la epidermis abaxial de hojas correspondientes a 700 msnm (C) y a 1.100 msnm (D), donde se pueden observar los estomas de tipo anomocítico (E). Corte transversal de hojas correspondientes a 700 msnm (E) y a 1.100 msnm (F), donde se observan las epidermis adaxial (Ep. ad.) y abaxial (Ep. ab.) unies-tratificadas; parénquima en empalizada (P. emp.); parénquima esponjoso (P. esp.); estoma emer-gente (E) y cámara subestomática (CS). La barra indica 20 μ m.

RESULTADOS

Determinación del material vegetal.— Los resultados surgidos de la comparación entre el material colectado y la bibliografía, indican que se trata de la especie *Rubus imperialis* Cham. y Schldl. *sensus* Novara (1993).

ANÁLISIS MORFOANATÓMICO

En las muestras foliares, provenientes de ambos sitios, se observó que las células de la epidermis adaxial (ep adx) presentan en vista superficial un margen de tipo poligonal y están cubiertas por una cutícula con engrosamientos diferenciales (estriadas), en tanto que las células de la epidermis abaxial (ep abx) poseen margen sinuoso y no se observó ninguna particularidad en la cutícula (fig. 2 A-B). En ambas epidermis se observaron tricomas simples, largos, de paredes muy engrosadas con el lumen ensanchado en la base, in-

sertos en una protuberancia de la epidermis (fig. 2 C y D; fig. 3 A). La epidermis abaxial presenta tricomas simples agrupados, en fascículos de tres, insertos entre las células epidérmicas (fig. 4 B) y estomas de tipo anomocítico (fig. 2 C y D).

En transcorte de lámina foliar se observan los siguientes tejidos (fig. 2 E y F; fig. 3 C):

– *Epidermis adaxial* (ep adx): constituida por células isodiamétricas, cubiertas por una cutícula delgada.

– *Clorénquima en empalizada* (cl emp): compuesto por dos o tres estratos de células columnares agrupadas de manera compacta.

– *Clorénquima esponjoso* (cl esp): formado por células esféricas o lobuladas que dejan grandes espacios de aire entre sí.

– *Haces vasculares* (HV): colateralmente rodeados por una vaina parenquimática que se extiende hacia las dos epidermis. El xilema y el floema tienen disposición dorsiventral, xilema adaxial y floema abaxial.

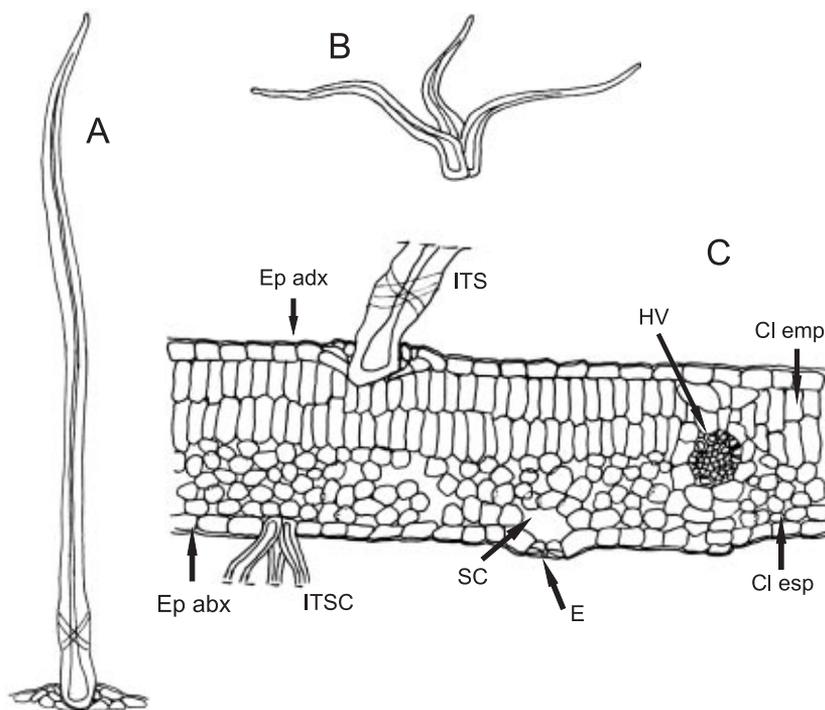


Fig. 3. *R. imperialis*, esquema de las estructuras foliares encontradas A) tricoma simple, B) tricoma simple compuesto, y C) esquema del corte transversal de la hoja donde se observan la inserción del tricoma simple (ITS); la inserción del tricoma simple compuesto (ITSC); epidermis adaxial (Ep adx) y abaxial (Ep abx); Clorénquima en empalizada [Cl. emp.]; Clorénquima esponjoso [Cl. esp.]; haz vascular rodeado por una vaina (HV); estoma emergente (E) y cámara subestomática (CS). La barra indica 10 μ m.

Variables	Altitud (msnm)		Incremento (%)
	700	1.100	
Espesor ep adx (μm)	1,31 +- 0,02	1,52 +- 0,08	16,0*
Espesor ep abx (μm)	0,76 +- 0,03	0,84 +- 0,11	10,5
Espesor de cl emp (μm)	2,83 +- 0,17	3,65 +- 0,38	29,0*
Espesor de cl esp (μm)	2,97 +- 0,09	3,38 +- 0,04	13,8*
Densidad de tricomas simples en ep adx (número/ mm^2)	19 +- 7	31 +- 15	63,2
Densidad de tricomas simples en ep abx (número/ mm^2)	4 +- 5	22 +- 11	450,0*
Densidad de tricomas simples agrupados en ep abx (número/ mm^2)	7 +- 2	320 +- 72	4.471,4*
Densidad estomática (estomas/ mm^2)	54 +- 18	249 +- 120	361,1*
1/AFE (g/cm^2)	0,037 +- 0,008	0,053 +- 0,006	43,0

Tabla 1. Variables medidas en las hojas de *R. imperialis* a cada altitud estudiada. Se representan los valores promedios con sus respectivas desviaciones estándar. El asterisco indica diferencias significativas ($p \leq 0,005$).

– *Epidermis abaxial* (ep abx): constituida por células con margen irregularmente lobulado, cubierta por una cutícula delgada.

– *Estomas*: sobreelevados y presentan una cámara subestomática y células oclusivas pequeñas y engrosadas.

Comparación de tejidos foliares en las dos poblaciones:

Se observó que la epidermis abaxial posee mayor densidad de tricomas que la epidermis adaxial (Tabla 1). En el material foliar proveniente de las dos altitudes se observó que incrementa el espesor de la epidermis adaxial y de los tejidos foliares internos (clorenquima en empalizada y esponjoso) con el incremento en altitud (16%, 28% y 13% respectivamente, Tabla 1), mientras que el número de capas celulares en cada tejido permaneció constante.

Además, a nivel de ep abx, se observó que incrementa la densidad de estomas, de tricomas simples y de tricomas simples agrupados (361%, 450% y 4.471% respectivamente, Tabla 1).

Otro parámetro considerado y que de alguna forma resume la inversión que hace la planta en términos de carbono para lograr una superficie foliar determinada, fue la denominada masa foliar específica (1/AFE). En el caso de *Rubus imperialis* se verificó un incremento del 43% entre las altitudes consi-

deradas (Tabla 1). Esto significa que la especie que esta creciendo a mayor altitud debe invertir una mayor cantidad de carbono para lograr la misma superficie foliar que la que crece a 700 msnm.

DISCUSIÓN Y CONCLUSIONES

En este trabajo se encontraron características morfoanatómicas de la hoja de *Rubus* que coinciden con las detalladas por Metcalfe y Chalk (1975) para este género. Tales características son: presencia de tricomas simples, de tricomas simples agrupados, disposición dorsiventral de los tejidos en la hoja y presencia de estomas abaxiales de tipo anomocítico. En *R. imperialis* se observó que, además de los caracteres antes mencionados, los tricomas simples agrupados fueron encontrados únicamente en la cara abaxial, mientras que los tricomas simples aparecen en las dos caras, los estomas están sobreelevados y poseen una cámara subestomática, y que el nervio medio posee una vaina parenquimática, caracteres omitidos hasta el momento para esta especie. Por lo tanto los caracteres arriba mencionados constituyen un aporte a nivel anatómico para esta especie.

Algunas de las diferencias encontradas entre las hojas de las plantas provenientes de

las dos altitudes muestreadas, como es el caso del incremento en la densidad de pubescencia y de estomas (Tabla 1), también fueron observadas en hojas de Aliso (*Alnus acuminata*), otra especie representativa de la Yungas, a 1.400 msnm (Bravo y Grau, 1992). Dado que el incremento en la densidad de tricomas alcanza valores totales de alrededor de 5.000% este parámetro no puede ser usado como carácter diagnóstico, corroborándose de esta manera lo expuesto por Novara (1993). Incluso, en estudios posteriores, se debería tener en cuenta la variabilidad que presentan las hojas de *R. imperialis* con respecto al parámetro densidad de pubescencia.

Si bien algunos autores (Johnson, 1975; Fahn, 1982) afirman que el incremento en la densidad de pubescencia y espesor del parénquima en empalizada en la hoja serían características de especies que crecen en ambientes xéricos, en nuestro caso se verifica todo lo contrario ya que en la zona estudiada el régimen de precipitaciones varía entre 800 y 2.000 mm anuales (Bianchi y Yañez, 1999). Por lo tanto, el incremento en las variables observadas podrían obedecer a otros factores que deben ser estudiados tanto en condiciones de campo como de laboratorio. Además, en esta especie se ha observado una respuesta en términos de carbono donde a mayor altitud la inversión en carbono es mayor (43%). El valor de la masa foliar específica obtenida a 1.100 msnm resulta 10 veces mayor que el obtenido por Baruch y Goldstein (1999) para *Rubus hawaiensis*, creciendo a una altitud equivalente (1.200 msnm) con un régimen de precipitaciones de 2.200 mm y buena disponibilidad de nutrientes.

Teniendo en cuenta que la frecuencia de individuos de especie estudiada disminuye de manera evidente por encima de los 1.100 msnm, se hipotetiza que la misma se hallaría en su límite de distribución vertical, lo que se manifiesta en una mayor inversión de C para lograr un centímetro cuadrado de superficie foliar. Por lo expuesto, se podría inferir que a mayor altitud las condiciones ambientales para esta especie se vuelven críticas y para lograr mantener un balance de carbono positivo reacciona a nivel anatómico (ver Tabla 1) incrementando las superfi-

cies de captación o asimilación fotosintética. Es evidente que para completar una explicación sobre estos cambios, relacionados a las condiciones físicas del ambiente, se hace necesario evaluar la capacidad fotosintética de esta especie junto a la disponibilidad de nutrientes tales como el nitrógeno y el fósforo, en las dos altitudes donde se realizó este trabajo, investigar si estos cambios se manifiestan en otras especies y además identificar las condiciones ambientales que determinan este tipo de respuesta (tales como humedad, temperatura, radiación solar), lo cual resultaría en un aporte a la comprensión de la dinámica poblacional de las especies presentes en las denominadas selva de montaña.

AGRADECIMIENTOS

Las autoras desean expresar su profundo agradecimiento a la Fundación Miguel Lillo (FML) por apoyar en su totalidad este trabajo de investigación, al Instituto de Morfología Vegetal de la FML, por la disponibilidad del material óptico y fotográfico, al Dr. Juan A. González y al Lic. Hugo Ayarde, del Instituto de Ecología (FML) por sus observaciones durante la ejecución y discusión de este trabajo.

BIBLIOGRAFÍA

- Alvares, A. 1919. Provincia de Santiago del Estero. Flora y Fauna: 5-121.
- Baruch, Z. & G. Goldstein. 1999. Leaf construction cost, nutrient concentration, and net CO₂ assimilation of native and invasive species in Hawaii. *Oecologia*. 121: 183-192.
- Bianchi, A. R. & C. Yañez. 1992. Las precipitaciones del Noroeste argentino. 2ª ed. Inst. Nac. de Tecnol. Agrop. (INTA) Centro Regional Salta-Jujuy.
- Bravo, S. J. & A. Grau. 1992. Variaciones de la densidad estomática en poblaciones de *Alnus acuminata* en un gradiente altitudinal. *Lilloa* 38 (1): 39-45.
- D'Ambrogio de Argüeso, A. 1986. Manual de Técnicas en Histología Vegetal. Ed. Hemisferio Sur. Buenos Aires. Argentina.
- Esau, K. 1987. Anatomía de plantas con semillas. Ed. Hemisferio Sur, Bs. As. Argentina.
- Fahn, A. 1982. Anatomía vegetal. Ed. Pirámide. Madrid.

- Feng, Y.; J. Wang & W. Sang. 2007. Biomass allocation, morphology and photosynthesis of invasive and noninvasive exotic species grown at four irradiance levels. *Acta Oecologica*. 31: 40-47.
- Figueroa Romero, M. R.; E. Bulacio & N. B. Muruaga. 2000. Sinopsis de la familia Solanaceae en Tucumán (Argentina). *Lilloa* 40 (1): 15-64.
- Focke, W. O. 1875. *Abhandlungen herausgegeben von naturwissens chaftlichen. Verei-ne zu Bremen* 4: 158.
- Giusti, L.; A. Slanis & P. Aceñolaza. 1995. Fito-sociología de los bosques de aliso de Tucumán. *Lilloa* 38 (2): 93-120.
- Hieronymus, J. 1882. *Plantae Diaphoricae. Flo-rae Argentinae*. Ed. G.Kraft. Buenos Ai-res. Argentina.
- Johnson, H. B. 1975. Plant Pubescence: an ecological perspective. *The Botanical Review*. 41 (3): 233-258.
- Körner, Ch.; P. Bannister & A. F. Mark. 1986. Altitudinal variation in stomatal conduc-tance, nitrogen content and leaf anatomy in different plant life forms in New Zea-land. *Oecologia (Berlin)* 69: 577-588.
- Meinzer, F. & G. Goldstein. 1985. Some conse-quences of leaf pubescence in the an-dean giant rosette plant *Espeletia timo-tensis*. *Ecology* 66 (2): 512-520.
- Metcalfe, C. R. & L. Chalk. 1975. *Anatomy of the Dicotyledoneas*. Vol. 1: 539-550.
- Meyer, T. 1963. *Estudios sobre la Selva Tucu-mana. Selva de Mirtaceae de Las Pa-vas*. Op. Lilloana 10: 89-113.
- Novara, L. J. 1993. Rosaceae. En *Flora del Va-lle de Lerma. Aportes Botánicos de Sal-ta*. U.N.Sa. Serie Flora 2 (2):1-13.
- Reich, P. B.; D. S. Ellsworth & M. B. Walters. 1998. Leaf structure (specific leaf area) modulates photosynthesis-nitrogen rela-tions: evidence from within and across species and functional groups. *Functional Ecology*. 12: 948-958.
- Rice, S. A. & F. A. Bazzaz. 1989. Quantification of plasticity of plant traits in response to light intensity: comparing phenotypes at a common weight. *Oecologia*. 78: 502-507.
- Schlechtendal, D. F. L. 1827. *Journal für die botanik in ihrem ganzen umfange*. Lin-naea 1: 13-14.
- Schulze, E. D.; E. Beck & K. Müller-Hohenstein. 2002. *Plant Ecology*. Capitulo 1. Spek-trum Akademischer Verlag GmbH., Hei-delberg.
- Vieira, R. C. & R. D. Machado. 1992. Superficie foliar de *Bahuinia radiata* Vell. em dois ambientes. *Hoehnea* 19 (1/29): 111-116.
- Wright, J. J.; M. Westoby & P. B. Reich. 2002. Convergence towards higher leaf mass per area in dry and nutrient-poor habi-tats has different consequences for leaf life span. *Journal of Ecology* 90: 534-543.
- Zardini, E. M. 1973. Los géneros de Rosaceas espontáneos. *Bol. Soc. Arg. de Bot.* 11 (2-3): 214-218.
- Zuloaga, O. & F. O. Morrone. 1999. *Catálogo de las plantas Vasculares de la Repúbli-ca Argentina II*. Missouri Bot. Gard. Press.