

Variaciones en la morfología foliar de *Podocarpus parlatorei* Pilger (Podocarpaceae), según la posición espacial de la hoja en la copa

por J. A. González¹; G. Ponessa¹; M. Torres de Plaza²; M. Parrado¹;
M. Arias² y L. Benítez de Parra²

1. Fundación Miguel Lillo. Área Botánica. Miguel Lillo 251, (4000) San Miguel de Tucumán, Argentina.

2. Facultad de Ciencias Naturales, Universidad Nacional de Tucumán. Miguel Lillo 205, (4000) San Miguel de Tucumán, Argentina.

Summary

«Leaf morphological variation in *Podocarpus parlatorei* Pilger (Podocarpaceae), according to spacial position of the leaves». In this paper the foliar morphology of leaves of *P. parlatorei* in its natural habitat has been studied. Leaves of four locations in the crown: North (N), South (S), East (E), and West (W) have been examined, as well as leaves of three locations at the top: up (Arr.), center (C) and down (Ab.). Eleven parameters have been determined, such as: length and leaf area, dry weight and specific leaf area. Thickness of cuticles, leaf blade, and epidermis were studied at an anatomical level, as well as stomatal length and density. Morphological differences according to the orientation of leaves has been showed by statistical analysis including a «multivariate analysis» («discriminant analysis»). According to the results leaves can be divided into four groups. One of them comprising leaves of S, N and W locations and the other ones comprising leaves of A, D and C groups. Morphological parameters which justify the last divisions are: length and area of leaves —stomatal length and density— leaf and cuticle thickness. The results, with valuable ecological and systematic implications were discussed in term of the radiation interception and canopy structure of *P. parlatorei*.

Key words: *Podocarpus parlatorei*, foliar morphology, radiation, Podocarpaceae, leaves.

Introducción

La única gimnosperma arbórea autóctona del norte argentino es *Podocarpus*. En Tucumán, este género está representado por una sola especie, *P. parlatorei*. Pilger («pino del cerro»), la cual se halla distribuida en bosques uniespecíficos, entre los 1.500 y 2.000 metros de altura sobre el nivel del mar, formando parte del lla-

mado bosque montano superior (Vervoorst, 1981, 1982).

Aún cuando existen antecedentes sobre la morfología foliar de esta especie (Del Fueyo, 1988), son escasos los estudios realizados sobre las diferencias estructurales entre las hojas de un mismo árbol. Se conoce que las hojas de ár-

boles y arbustos reciben distintas intensidades de radiaciones según su posición con respecto a la radiación incidente y su ubicación espacial en la copa (Steven *et al.*, 1986; Caldwell *et al.*, 1986; Ehleringer y Comstock, 1987). Tanto la forma de la copa como la densidad del follaje, determinan un gradiente de radiación que va perdiendo intensidad desde el exterior hasta el interior de la copa. Según Larcher (1977), en ese gradiente de extinción, la luz cumple la ley de Lambert-Beer, donde la intensidad disminuye exponencialmente cuando mayor es el grado de superposición de las hojas.

Por otro lado, se conoce desde hace bastante tiempo la influencia de las distintas intensidades de la luz sobre la morfología foliar (Schuster, 1908; Hanson, 1917; Watson, 1942). Otros trabajos más recientes (Nobel, 1981; Nobel y Walker, 1985; Caldwell *et al.*, 1986; González, 1992) han demostrado que la iluminación no sólo afecta la estructura morfológica sino también ciertos procesos fisiológicos que en definitiva han sido interpretados como estrategia de las hojas para mejorar su balance energético y su intercambio gaseoso.

De manera que las hojas de los árboles ubicadas en distintos estratos del follaje, se hallan sometidas a distintos microclimas por influencia de la radiación diferencial a la que están sometidas, manifiestan distintas características morfológicas. Teniendo en cuenta la relación estructura-función, es posible esperar que ciertas variables ecofisiológicas, como la fotosíntesis y/o transpiración, entre otras, también resulten afectadas.

De manera que el estudio de la morfología foliar puede revelar la estrategia que han desarrollado ciertas hojas, dentro del mismo individuo, para lograr una mayor eficiencia productiva, frente al microambiente que las rodea.

Nuestro objetivo, fue estudiar los cambios morfológicos en las hojas de *Podocarpus parlatorei*, según su orientación espacial dentro de

la copa dentro de un mismo individuo, y cómo esos cambios se tradujeron ecofisiológicamente. Si bien para el género *Podocarpus* existen muchos trabajos anatómicos (Del Fueyo, 1988) aún no se han estudiado las variaciones morfológicas dentro de un mismo individuo. Por lo tanto, el estudio encarado aporta criterios de muestreo que se deben tener en cuenta para realizar trabajos de naturaleza sistemática, ya que se demuestra que caracteres como tamaño y anatomía de las hojas de *Podocarpus* responden a condiciones microclimáticas.

Materiales y métodos

El área de estudio está ubicada en la Sierra de Medina (Tucumán, departamento Burruyacu), a 1.500 metros sobre el nivel del mar. Se seleccionaron 4 individuos de *P. parlatorei* al azar, alineados en una pendiente de 20°, con una distancia entre los árboles extremos de 25 metros. De cada árbol se coleccionaron ramas, considerando en la copa las siguientes orientaciones: norte (N), sur (S), este (E), oeste (O), arriba (Arr.), abajo (Ab.) y centro (C). Por individuo se tomaron 15 hojas al azar en cada orientación, formando en total un pool de 60 hojas. De este último se tomaron 15 hojas, también al azar, a las que se les determinó: largo (L), área foliar (AF), peso seco de la hoja (PS) y área foliar específica (AFE). Además el estudio anatómico incluyó: espesor de cutícula superior e inferior (ECS, ECI), de semiláminas (ESL); espesor de epidermis superior e inferior (EES, EEI), densidad y longitud estomática (DE, LE).

El área foliar se determinó con un planímetro polar sobre calcos de las hojas en papel heliográfico. El largo y ancho se midió con calibres Vernier; y el peso seco en estufa a 84°C, durante 24 horas. Para los estudios anatómicos se realizaron cortes de material incluido en parafina (Johansen, 1940) y tinción con safranina-fast green (Dizeo de Strittmatter, 1979). En todos los casos se trabajaron con 4-5 hojas distin-

Tabla 1 Principales variables morfológicas foliares de *Podocarpus parlatoresi* bajo distintas orientaciones espaciales. Cada variable está acompañada de la media y desviación standard entre paréntesis.

Orientación	S	N	E	O	Arr.	Ab.	C
VARIABLES							
L (cm)	6,19 (1,1)	5,97 (1,2)	6,58 (1,1)	6,01 (1,2)	4,72 (1,3)	5,39 (0,6)	5,17 (0,09)
P (mg)	39,73 (7,7)	33,33 (8,1)	40,60 (1,3)	35,84 (1,2)	27,53 (1,2)	25,51 (3,3)	23,82 (5,6)
AF (cm ²)	1,45 (0,18)	1,43 (0,35)	1,49 (0,24)	1,24 (0,30)	0,96 (0,47)	1,20 (0,23)	1,51 (0,23)
AFE (cm ² /g)	37,3 (7,1)	42,4 (6,2)	38,1 (10,4)	35,2 (4,6)	34,8 (5,9)	47,5 (10,9)	63,5 (5,3)
1/AFE (g/dm ²)	2,68	2,36	2,62	2,84	2,87	2,10	1,57
ESL (μ)	448,4 (22,6)	40,82 (20,1)	469,0 (19,9)	479,4 (15,5)	512,3 (34,5)	307,2 (26,1)	595,0 (23,0)
EES (μ)	9,4 (1,9)	8,1 (1,8)	6,8 (1,8)	6,8 (1,8)	7,8 (0,1)	7,3 (1,4)	14,0 (7,2)
EEl (μ)	8,0 (1,5)	8,6 (2,7)	8,4 (1,4)	7,8 (1,9)	6,8 (2,2)	7,1 (1,4)	12,1 (4,2)
ECS (μ)	6,0 (1,9)	6,9 (1,6)	5,6 (1,9)	8,6 (1,4)	5,1 (1,6)	7,2 (1,2)	9,8 (2,3)
ECl (μ)	7,2 (1,9)	7,5 (1,1)	6,5 (1,6)	6,3 (1,9)	6,7 (1,7)	7,5 (0,7)	9,2 (3,5)
DE (est./mm ²)	20 (0,5)	16 (0,8)	15 (0,6)	18 (0,6)	20 (0,4)	16 (0,4)	11 (1,0)
LE (μ)	39,5 (1,8)	39,5 (1,8)	40,2 (2,7)	39,7 (2,0)	39,5 (3,1)	40 (2,2)	60 (1,8)

ESL: Espesor de semiláminas; EES: espesor de epidermis superior; EEl: espesor de epidermis inferior; ECS: espesor de cutícula superior; ECl: espesor de cutícula inferior; DE: densidad estomática; LE: longitud estomática.

tas de cada orientación y las mediciones se realizaron sin tomar en cuenta la vena media.

El análisis estadístico incluyó el uso de técnicas multivariadas en especial del Análisis Discriminante usando el paquete estadístico BMDP 7M con una computadora VAX-11. Previamente se determinó que los datos respondían a una distribución normal multivariada y que las matrices de covarianzas eran aproximadamente homogéneas.

Cada orientación espacial fue tomada como una población, y se planteó como hipótesis nula que las distintas orientaciones no presentaban diferencias entre ellas. Para determinar si esto era correcto se calculó el estadístico «F».

Los valores límites del estadístico «F» para la selección de variables se estableció igual a 4, es decir: para que una variable sea seleccionada debe tener un valor de «F» > 4. En forma análoga se remueven aquellas variables que perdieron su poder discriminante al incorporar-

se nuevas variables a las ya seleccionadas, o sea se remueven las variables con un valor de «F» < 3,999.

Resultados

En la tabla 1 se han resumido los promedios de las distintas variables medidas para las diferentes posiciones espaciales de las hojas.

El cálculo del estadístico «F» y U, con sus grados de libertad en cada paso de este programa, se hallan resumidos en la tabla 2. De los valores de la tabla se observa que fueron seleccionadas 7 (siete) variables con poder discriminante. De acuerdo al último valor de F-aprox. (21,014), se rechaza la hipótesis nula con un nivel de significación del 5%. Al rechazar la hipótesis nula, queda de manifiesto que existen diferencias entre las distintas orientaciones espaciales de las hojas.

Un análisis posterior determinó que las orientaciones Arriba (Arr.), Abajo (Ab.) y Cen-

Tabla 2 Variables seleccionadas y valores de los distintos estadísticos con sus grados de libertad en cada paso.

Variable	Valor «F» to enter o remove	U- stat	F- aprox.	Grados de libertad
AF	29,2335	0,3584	29,233	6 98
DE	15,0278	0,1858	21,342	12 194
ESL	18,0962	0,0872	20,694	18 272
EEL	71,8867	0,0157	31,704	24 332
ECS	8,3003	0,0103	26,965	30 678
LE	5,6991	0,0075	23,359	36 411
ECL	5,5316	0,0055	21,014	42 435

AF: área foliar; DE: densidad estomática; ESL: espesor de semiláminas; EEL: espesor epidermis inferior; ECS: espesor de cutícula superior; LE: largo estomático; ECL: espesor de cutícula inferior.

tro (C), son las que realmente presentan diferencias significativas, con porcentajes altos de asignación: 86,7% para Arr. y Ab. y del 100% para C (gráfico 1). Las variables que justifican las diferencias observadas son: AF, DE, ESL, EEL, ECS, LE, y ECL (tabla 2).

Las orientaciones restantes (S, N, E y O) están solapadas, lo que significa que ni desde el punto de vista morfológico externo ni interno son significativamente diferentes y por lo tanto pueden ser consideradas como una sola población. Todo lo dicho se pone en evidencia en el gráfico bidimensional (gráfico 1), siendo los ejes las dos primeras variables canónicas, lo que se corrobora con el cálculo de las distancias de Mahalanobis y los valores del estadístico F calculados a partir de ellas.

Si tomamos a las hojas ubicadas en posición S, N, E, O y las ubicadas en Arr., Ab. y C como poblaciones distintas y comparamos entre sí las variables que las hacen diferentes, observamos que los valores de AF para estas últimas posiciones son 0,96, 1,20 y 1,51 cm² respectivamente, con un promedio de 1,22 cm². En cambio, los valores de AF para las otras

orientaciones (S, N, E, O) presentan un valor promedio de 1,40 cm². Las diferencias porcentuales entre ambos valores es de 12,9% (1,40 contra 1,22 cm²), mientras que la de los largos de hojas es de 17,8% (6,2 contra 5,1 cm), y la de la densidad estomática es de 11,7% (17 contra 15 estomas/cm²).

Por lo tanto, los valores de AF, L y DE presentan valores promedios en los que los más bajos corresponden a las hojas ubicadas en las posiciones arriba (Arr.), abajo (Ab.) y centro (C).

Discusión

Según la bibliografía existente (Del Fueyo, 1988), *P. parlatorei* presenta una densidad estomática de 28 estomas/mm². Sin embargo, en nuestros resultados hemos encontrado valores de densidad que oscilan entre 11 y 20 estomas/mm², según la posición de la hoja muestreada. Por lo tanto y según el análisis estadístico se pueden separar 4 poblaciones, o grupos de hojas, dentro de un mismo ejemplar, con densidades estomáticas significativamente diferentes.

En lo que respecta a la morfología interna se puso en evidencia que el espesor de las semilá-

minas (ESL) es mayor, en promedio, en las hojas de las posiciones Arr., Ab. y C, que en las restantes. Conviene destacar que el mínimo espesor de semiláminas se detectó en las hojas de la posición abajo (Ab.) corroborando lo que también encontró Wylie (1949) en hojas de *Acer platanoides*. La misma tendencia se presenta si se consideran las variables ECS y ECI. En el primer caso (ESL) la diferencia entre ambos grupos es de 4,3%; mientras que para ECS y ECI son de 8,3% y 12,7% respectivamente.

Por otro lado, llama la atención que el área foliar específica (AFE) no presente diferencias significativas entre las orientaciones a pesar de ser un variable relacionada con la productividad (Walter, 1973; Miller y Mooney, 1974). Aunque las influencias ambientales sobre el AFE aún no están bien dilucidadas, algunos autores (Kvet *et al.*, 1971; Evans, 1972) sugirieron que esta podría verse incrementada por una disminución en la duración e intensidad de la luz, aumento de temperatura y aumento de la disponibilidad de agua. Existen evidencias experimentales que el AFE disminuiría con el incremento de la radiación (Virzo de Santo y Alfani, 1980) y también se encontró que las bajas temperaturas pueden inducir una disminución en el AFE (Nobel, 1980; Wardlaw *et al.*, 1983). En nuestros resultados, aún cuando no hay diferencias significativas entre las distintas orientaciones se encontró que el mayor valor de AFE obtenido (63,5 cm²/g) fue el correspondiente a las hojas ubicadas en la posición centro (C). Esta posición es justamente la que menos radiación recibe. Esto reafirmaría la hipótesis de que a menor radiación el AFE se incrementaría, pero estaría en desacuerdo con la idea de que a menor temperatura disminuiría (porque la radiación resulta interceptada por follaje). Sin duda, estos resultados merecen estudios más detallados.

Por otro lado, si consideramos la inversa del AFE (1/AFE) que es el equivalente al costo de

mantener una superficie fotosintética de 1 cm² (1/AFE) se hace evidente que ese costo sería mayor en las orientaciones S, N, E, O que en las restantes. Si esto es así implica que *P. parlatoresi* invierte una mayor cantidad de biomasa foliar en las orientaciones espaciales mencionadas, es decir que las hojas presentan un grado de escleromorfismo mayor. Sin duda, una gran proporción de esa biomasa está representada en las hojas por tejidos de sostén ya que en las orientaciones S, N, E, O las hojas son más largas, en promedio que las de las otras orientaciones, y por lo tanto las necesidades mecánicas, o de sostén, son diferentes.

Conclusiones

Tanto a nivel morfológico interno como externo, las hojas de *Podocarpus parlatoresi*, presentan diferencias significativas según la posición que ocupen dentro del follaje. Estas diferencias se manifiestan con más intensidad en una de las posiciones externas Arr. (arriba) y en dos internas, C (centro) y Ab. (abajo). Esta diferenciación se podría explicar si tenemos en cuenta el gradiente lumínico que se establece a través del follaje de esta especie y más aún si tenemos en cuenta que se trata de una perennifolia y por lo tanto la influencia de la radiación diferencial se hace más evidente al crearse zonas con percepción luminosa muy baja. La disminución de la radiación a través del follaje, determina no sólo cambios morfológicos sino también fisiológicos como consecuencia del diferente balance de energía de las hojas ubicadas en las distintas capas del follaje (Medina *et al.*, 1978). Si tenemos en cuenta que la conductancia foliar (g) depende de la densidad estomática y del diámetro del poro, se concluye que g tiene una influencia directa sobre la fotosíntesis, temperatura de la hoja y transpiración. Esto en definitiva lleva a que tanto la fotosíntesis como la respiración sean diferentes (Caldwell *et al.*, 1986).

En cuanto a la falta de diferencias significati-

vas en el AFE (variable ligada a la productividad) podemos conjeturar que es debido a la disposición helicoidal de las hojas en las ramas. De esta forma, la mayoría de las hojas recibe una cantidad de radiación aproximadamente igual y por ende, la productividad no sería diferente entre ellas.

En cuanto al uso de las variables anatómicas para diferenciar secciones y subsecciones del género *Podocarpus* conviene destacar las diferencias encontradas tanto en la densidad estomática y largo de los estomas, como entre los espesores de semiláminas y cutículas entre las hojas de la posición S, N, E, O con las ubicadas en Arr., Ab. y C. Por lo tanto, si se pretende realizar una clasificación sistemática desde el punto de vista anatómico se hace necesario tomar en cuenta, al momento del muestreo, la ubicación espacial de la hoja para evitar clasificaciones erróneas, o ambiguas, ya que las diferencias que se podrían detectar obedecerían más bien a efectos microambientales que a diferencias sistemáticas.

Bibliografía

- BARTLETT M. S. & N. W. PLEASE, 1965. «Discrimination in the case of zero mean differences». *Biometrika* **50** (17).
- CALDWELL M. M.; H. P. MEISTER; J. D. TENHUNEN & O. L. LANGE, 1986. «Canopy structure, light microclimate and leaf gas exchange of *Quercus coccifera* L. in a Portuguese macchia: measurements in different canopy layers and simulations with a canopy model». *Trees* **1**: 25-41.
- DEL FUEYO G. M., 1988. «Anatomía y ontogenia foliar de *Podocarpus parlatorei* (Podocarpaceae)». *Boletín de la Soc. Arg. de Botánica* **25** (3-4): 353-367.
- DIZEO DE STRITTMATTER C. G., 1979. «Modificación de una coloración safranina-fast green». *Bol. Soc. Arg. Bot.* **XVIII** (3-4): 121-122.
- EVANS G. C., 1972. *The quantitative analysis of plant growth*. Blackwell, Oxford, 734 pp.
- EHLERINGER J. R. & J. COMSTOCK, 1987. «Leaf absorbance and leaf angle: Mechanisms for stress avoidance». In: Tenhunen J. D.; F. M. Catarino; O. L. Lange & W. C. Oechel (eds), *Plant response to stress-functional analysis in mediterranean ecosystems*. Springer, Berlin.
- GONZÁLEZ J. A., 1992. «Influencia de la intensidad de la luz sobre la distribución de materia orgánica y características morfológicas en una especie de alta montaña: *Oenothera nana* Griseb.». *Lilloa* **38** (1): 47-54.
- HANSON H. C., 1917. «Leaf structure as related to environment». *Amer. Jour. Bot.* **4**: 533-560.
- JOHANSEN D., 1940. *Plant microtechnique*. Mc Graw-Hill Book Co. Inc. N. York. 523 pp.
- KENDALL M., 1980. *Multivariate Analysis*. Charles Griffin & Company Ltd. 145-169.
- KVET J.; J. P. ONDOK; J. NECAS & P. JARVIS, 1971. «Method of growth analysis». P: 343-391. In: Sestak Z.; J. Catsky & P. G. Jarvis (eds), *Plant photosynthetic production. Manual of methods*. Junk N.V., Public. La Haya, 818 pp.
- LARCHER W., 1977. *Ecofisiología vegetal*. Ed. Omega, Barcelona. 305 pp.
- MEDINA E.; M. SOBRADO & R. HERRERA, 1978. «Significance of leaf orientation for leaf temperature in an Amazonian sclerophyll vegetation». *Rad. and Environm. Biophys.* **15**: 131-140.
- MILLER P. C. & H. A. MOONEY, 1974. «The origin and structure of american aridzone ecosystems: interaction between environment, form and function». In: *Proceedings of the First International Congress of Ecology*. La Haya. p: 201-209. PUDOC, Wageningen, 414 pp.
- NOBEL P. S., 1980. «Leaf anatomy and water use efficiency». In: Turner N. C. & P. J. Kramer (eds), *Adaptations of plants to water and high temperature stress*. Wiley & Sons, N.Y. pp. 43-55.
- —, 1981. «Development of leaf thickness for *Plectranthus parviflorus*. Influence of photosynthetically active radiation». *Phys. Plant.* **51**: 163-166.
- NOBEL P. S & D. B. WALKER, 1985. *Structure of leaf photosynthetic tissue. Photosynthetic mechanisms and the environment*. Edited by J. Barber y R. N. Baker. Elsevier Sci Publishers B.V. (Biomedical Division).
- SCHUSTER W., 1908. «Die Blattaderung des Dicotylenblattes und ihre Abhängigkeit von Äusseren Einflüssen». *Ber. Deutch. Bot. Ges.* **26**: 194-237.
- STEVEN M. D.; P. V. BISCOE; K. W. JAGGARD & J. PARUNTU, 1986. «Foliage cover and radiation interception». *Field Crops Research* **13** (75-87).

