

ANATOMÍA FOLIAR DE *Tillandsia complanata* Benth. **Leaf anatomy of *Tillandsia complanata* Benth.**

Claudia Teresa Hornung Leoni

Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo, Centro de Investigaciones Biológicas, Sistemática Vegetal, Herbario HGOM. Abasolo #600, C.P. 42000. Pachuca, Hidalgo, México. clauhl@gmail.com; hleoni@uaeh.edu.mx

Resumen

Las epífitas juegan un papel importante en los bosques y selvas tropicales, y son capaces de absorber humedad del medio ambiente desarrollando para ello estructuras anatómicas particulares. *Tillandsia complanata* es una especie epífita que se encuentra en los bosques venezolanos. Se estudió la anatomía foliar mediante cortes a mano alzada, macerado y raspado de epidermis de material fijado en FAA. La epidermis está constituida por células rectangulares de paredes anticlinales sinuosas y engrosadas, en transcorte son alargadas tubulares con pared periclinal fina, la cutícula es delgada, y la epidermis presenta modificaciones de tipo pelo escamoso pluricelular en ambas caras, el cual consta de 4 células del disco, 8 de la periferia y aproximadamente 48 células del ala. Los estomas abaxiales son hundidos y protegidos por prolongaciones digitiformes de las células periestomáticas. El mesófilo está diferenciado en bandas de parénquima adaxial y abaxial de 3 a 4 corridas de células parenquimáticas isodiamétricas grandes; al centro se encuentra el parénquima esponjoso estrellado y fotosintetizador, alternando con el tejido vascular constituido de haces colaterales cerrados desplazados hacia la cara adaxial con doble vaina vascular, la externa parenquimática, y la interna fibrosa, a veces con extensiones hacia la epidermis adaxial. Algunos haces se encuentran conectados entre sí.

Palabras claves: anatomía, Bromeliaceae, *Tillandsia complanata*, tricoma, escamas, hoja

Abstract

Epiphytes have an important role in tropical forests, being capable of water uptake from moisture because of special anatomical features. *Tillandsia complanata* is a Venezuelan epiphytic species, its leaf anatomy was studied on FAA preserved material. Free hand sectioning, tissue macerates and epidermal scrapings were made. Epidermal cells are rectangular, with thick sinuous anticlinal walls, and thin periclinal walls; cuticle is thin; the epidermis bear multicellular scaly trichomes on both surfaces. These scales have a 4 cells central disc, 8 on its periphery, and approximately 48 cells forming the wing. Abaxial stomata are sunk and protected by fingerlike appendages of the peristomatal cells. Mesophyll differentiates in adaxial and abaxial parenchymatous layers, with 3-4 large isodiametric parenchymatic cell rows, with an in-between photosynthetic spongy parenchyma that holds closed vascular bundles; these are placed towards the adaxial surface, have a double vascular sheath, the outermost layer parenchymatous, the inner one fibrous, sometimes extended to the adaxial epidermis. Some vascular bundles interconnect.

Key words: anatomy, Bromeliaceae, *Tillandsia complanata*, trichome, scales, leaf

Introducción

Las Bromeliaceae se encuentran distribuidas principalmente en el Neotrópico americano, siendo el género *Tillandsia* uno de los más numerosos de la familia, el cual se encuentra ubicado en la subfamilia Tillandsioideae (Benzing 2000). Dicho género incluye especies herbáceas de hábito epífita, terrestre y/o saxícola, y presenta una gran variación morfológica. Parte de esta variación se encuentra en su anatomía, pues existen diferentes tipos de células, tejidos y arreglos de los mismos.

Las hojas presentan caracteres xerofíticos, frecuentemente son suculentas pues poseen parénquima almacenador de agua, tejidos de sostén y tricomas (Tomlinson 1969; Benzing 1976; Aoyama & Sajo 2003). Una estructura característica de la familia son los tricomas peltados o escamas, que pueden incluso ser utilizados como carácter diferencial entre géneros (Benzing 1980). En *Tillandsia* dichos tricomas son particularmente interesantes pues tienen la capacidad de absorber agua y nutrientes disueltos en ella (al igual que sucede en el género *Brochinia*), transportando el líquido y minerales a través de sus células hacia el parénquima, de esta manera pueden obtener agua del rocío o neblina. Éstas estructuras conocidas también como escamas foliares, se pueden encontrar tanto en estructuras vegetativas (ej. lámina y vaina foliar, bráctea del pedúnculo) como reproductivas (ej. brácteas florales, sépalos) (Benzing 2000).

En la familia, estudios de la anatomía foliar han sido realizados con diversos enfoques: estudios de caracterización de las subfamilias, empleando anatomía de

tricomas foliares, estomas y tejido mesófilo (Tomlinson 1969), estudios descriptivos de las especies del Amazonas (Braga 1977) y taxonomía de diversos grupos de bromelias (Robinson 1969, Sajo *et al.* 1998), Souza & Neves 1996; Aoyama & Sajo 2003). Especial atención se le ha dado al análisis de los tricomas foliares utilizados como carácter diferencial entre subfamilias, así como un carácter morfológico importante dentro del género *Tillandsia* (Benzing & Burt 1970; Benzing *et al.* 1976; Braga 1977; Tomlinson 1969); a su vez ha sido empleado para establecer probables líneas filogenéticas en la familia (Strehl 1983). Más aún, estudios recientes señalan que el análisis morfo-anatómico es una herramienta útil para el estudio y caracterización de estas plantas, ya sea desde un punto de vista taxonómico, así como también el fisiológico y ecológico (Derwiduee & González 2010).

Las escamas o tricomas peltados son estructuras multicelulares compuestas de un campo de células vacías y un tronco de varias células localizadas en una concavidad en la epidermis foliar. Dichos tricomas foliares sirven como una válvula que conduce agua ambiental hacia el interior de la planta, previniendo además, su desviación por la misma ruta. La humedad es de hecho perdida a través de los estomas y células epidérmicas no especializadas (Benzing *et al.* 1976)

Las bromeliáceas (aprox. 3140 especies) así como el género *Tillandsia* (ca. 595 especies) (Luther 2008) han sido poco estudiadas desde el punto de vista anatómico, en relación al número de especies que existen. Por tal razón el objetivo principal de este

trabajo fue describir la anatomía de la hoja de *Tillandsia complanata* Benth. con el fin de aportar datos y contribuir a su identificación taxonómica, incluso para ejemplares en estado vegetativo.

Materiales y Métodos

Tillandsia complanata Benth. es una especie epífita (Fig. 1) se distribuye en bosques de 800 – 3500 msnm, desde las Antillas mayores y Costa Rica hasta Bolivia y norte de Suramérica y Brasil (Smith & Downs 1977). El material estudiado proviene del Cerro La Bandera, Mpio. Libertador, Estado Mérida (Venezuela).

La especie se distingue fácilmente en periodo de floración debido a que presenta varias inflorescencias axilares, es decir, de la axila de una hoja surge una inflorescencia (Fig. 1A), que es una característica poco común en tillandsias, aunque también está presente en *T. multicaulis* (México). Su roseta conforma un tanque (Fig. 1B) en el que se almacena agua.

Se realizaron cortes a mano alzada y métodos de tinción simple con el método de Johansen (1940) utilizando safranina y alciam blue como colorantes; el montaje se realizó en glicerina. También se realizaron macerados y raspado de epidermis.

Las soluciones empleadas en los métodos que se describen a continuación fueron: solución FAA (formol 70% 5cc + ácido acético 5cc + alcohol etílico 70% 90 cc), alcohol a 30 y 50 %, colorantes: safranina + alciam blue, safranina 0.5%, hipoclorito 3.5%, ácido acético 10%, ácido clorhídrico 10-15 %, KOH 4-8%, glicerina, glicerol + gelatina.

Se realizaron cortes transversales con

una hojilla, se colocaron dos partes de cloro y una de agua, se lavó con agua, luego con alcohol (50 %) por 15 min. Se pasaron a safranina + alciam blue por 15 min. Y luego por alcohol por 15 min. Se realizaron lavados con agua destilada y luego se pasó por glicerina (líquida). Las observaciones fueron realizadas con un microscopio óptico Zeiss Axioskop y una lupa Spencer. Los esquemas se realizaron en el microscopio con cámara clara.

Para los raspados de epidermis se realizaron cortes a lo largo de la superficie con la hojilla y se aplicó el mismo tratamiento anterior a ambas caras de la hoja.

El macerado se realizó a partir de trozos de hoja en KOH (4-8%), lavados con agua destilada, luego ácido acético al 10%, lavado con agua destilada y luego se pasó por alcohol al 50%. Se colocó en safranina + alciam blue por 2 horas con 3 gotas de HCl (10%), lavado con agua, macerado y montaje en gelatina-glicerol (sólida).

Resultados y Discusiones

Las hojas de *T. complanata* presentan una capa de epidermis seguida de una hipodermis gruesa sólo en la cara abaxial, parénquima de tipo esponjoso con espacios pequeños entre sus células y de tipo estrellado ubicado a los costados de los haces vasculares, presentan grandes espacios aeríferos y presentan función fotosintetizadora pues tienen un protoplasma denso (Fig. 2).

Los haces vasculares son del tipo colateral cerrado rodeados por una vaina fibrosa y pueden tener una vaina parenquimática más externa. La hoja es bastante lignificada pues tiene gran cantidad de fibras rodeando



Figura 1. *Tillandsia complanata* (a) Inflorescencia axilar, caracter distintivo de la especie (b) roseta cuyas hojas forman un tanque.

a los haces, e inclusive algunos presentan fibras hacia la cara adaxial.

La epidermis está constituida por células alargadas con forma tubular (Fig. 2), cubiertas por una cutícula, las células epidérmicas son de forma similar a las células hipodérmicas, pero en una proporción 3 veces menores en longitud, es decir por 1 célula hipodérmica hay 3 epidérmicas. Las paredes de las células epidérmicas son más finas en comparación a las de la hipodermis. La hipodermis es sinuosa con gran cantidad de punteaduras entre las células lo que indica una gran conexión entre ellas.

Los tricomas peltados o escamas (Fig. 3) son una modificación epidérmica y se ha mencionado que pudo surgir como una respuesta a las condiciones de escases hídrica ejercidas por el medio, ocasionando el desarrollo de una cubierta de escamas para asegurar una mayor entrada de agua (Benzing 1980). En *T. complanata* dichas escamas se encuentran tanto en la superficie

adaxial y abaxial de la hoja y cubren menos del 50% de la superficie foliar (determinado por la cobertura de escamas en el área de visión en el microscopio). Probablemente, esta relativamente baja densidad de escamas se deba a que la especie también puede almacenar una gran cantidad de agua en el tanque de su roseta, mientras que especies que tienen el 100% de cobertura de escamas (como en especies de zonas xerófilas), dependen casi exclusivamente del aporte hídrico a través de las escamas.

Estas escamas son estructuras multicelulares compuestas de un campo de células vacías (muertas) y un tronco de células (vivas) localizadas en una concavidad de la epidermis. Consta de 3 partes fundamentales: un pie, que en este caso particular consta de una célula que traspasa agua hacia las células parenquimáticas, de un pedúnculo pluricelular (Fig. 3B) y una cabeza discoidal del tricoma (Fig. 3A,B), constituida por una tapa central de 4 células (que están cubiertas de una capa de cutícula

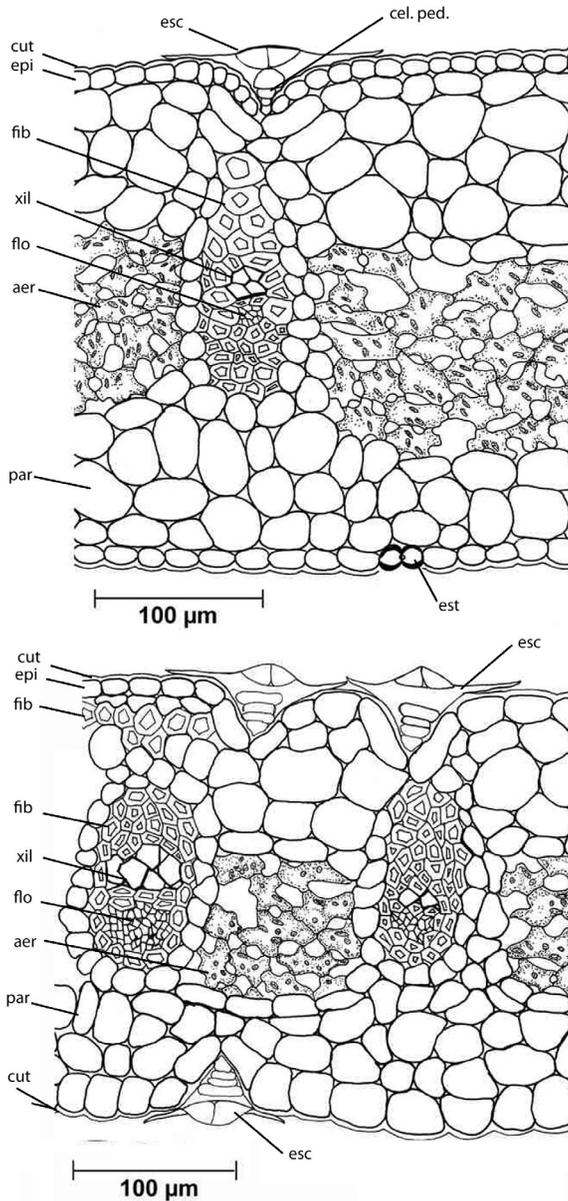


Figura 2. Corte transversal de la lámina foliar en el que se muestra la cara adaxial y abaxial, señalando células y tejidos aerénquima (aer), células del pedúnculo de la escama (cel. ped), cutícula (cut), epidermis (epi), escama (esc), estoma (est), fibra (fib), floema (flo), parénquima (par), xilema (xil).

gruesa), rodeada de 8 células periféricas y una gran cantidad de células que conforman el ala de la escama (cerca de 48), estas se disponen alrededor del disco del tricoma divergiendo del centro y se encuentran rodeadas por membranas gruesas (Fig. 3A). El pedúnculo está formado por 3 células, una de absorción y dos células de paso, que presentan un citoplasma denso (células vivas) y membranas delgadas (no cutinizadas).

Debido a la capa de cutina que recubre a las células del disco, el agua y nutrientes disueltos pasan entre las alas del disco y luego a las 8 células periféricas y de allí hacia las centrales en su porción baja (sin cutícula) por fuerza capilar, pasando luego a la célula de absorción y células de paso (no cubiertas por cutícula) mediante la ósmosis (absorción activa) y finalmente dirigiéndose hacia la célula basal o pie para llegar a las células parenquimáticas.

Los estomas en *T. complanata* se encuentran únicamente en la cara abaxial, junto con las escamas en una proporción de aproximadamente 2 escamas por estoma en el campo de observación. Están constituidos por dos células periestomáticas con paredes engrosadas (Fig. 2). Las células oclusivas del estoma presentan engrosamientos desiguales de las membranas, así las paredes internas cercanas al poro son más gruesas, mientras que las más cercanas a las células epidérmicas son más finas.

En cortes y macerado se observaron estomas con una estructura bastante particular, pues se encuentran parcialmente cubiertos por una serie de prolongaciones o excrecencias digitiformes de las células periestomáticas, que podrían proteger al

estoma hundido bajo estas prolongaciones. Entre los haces vasculares se encuentra un aerénquima estrellado el cual tiene actividad fotosintética debido a que presenta un citoplasma denso (Fig. 2). Los haces vasculares se encuentran desplazados hacia la cara adaxial de la hoja, por lo que en la superficie abaxial existen más células parequimatosas.

De la superficie hacia adentro encontramos un parénquima conformado primeramente por el tipo esponjoso, compuesto por células vivas con forma más o menos isodiamétricas y tamaño variable, con paredes delgadas y espacios intercelulares apreciables. En los macerados se observó una gran cantidad de fécula en las células de parénquima subepidérmico, por lo que constituyen un tejido de almacenamiento de almidón. No se observó para la especie, parénquima en empalizada, pero existe un parénquima estrellado (aerénquima), con protoplastos condensados, por lo este tejido cumpliría la función fotosintetizadora; este presenta la forma característica estrellada y ocupa una gran porción del mesófilo (Fig. 2), con brazos prolongados que se unen en los extremos con las células vecinas formando grandes espacios.

De acuerdo con la propuesta de Derwidué & Gonzalez (2010) un mesófilo isolateral es aquel en el que el parénquima acuífero está orientado hacia ambas caras de la hoja y en la región cental posee clorénquima y aerénquima; esto correspondería a lo encontrado en *T. complanata* con la variante que en nuestro caso la función fotosintética es llevada a cabo por el aerénquima pues es el único tejido en el que se observaron cloroplastos y un protoplasto denso.

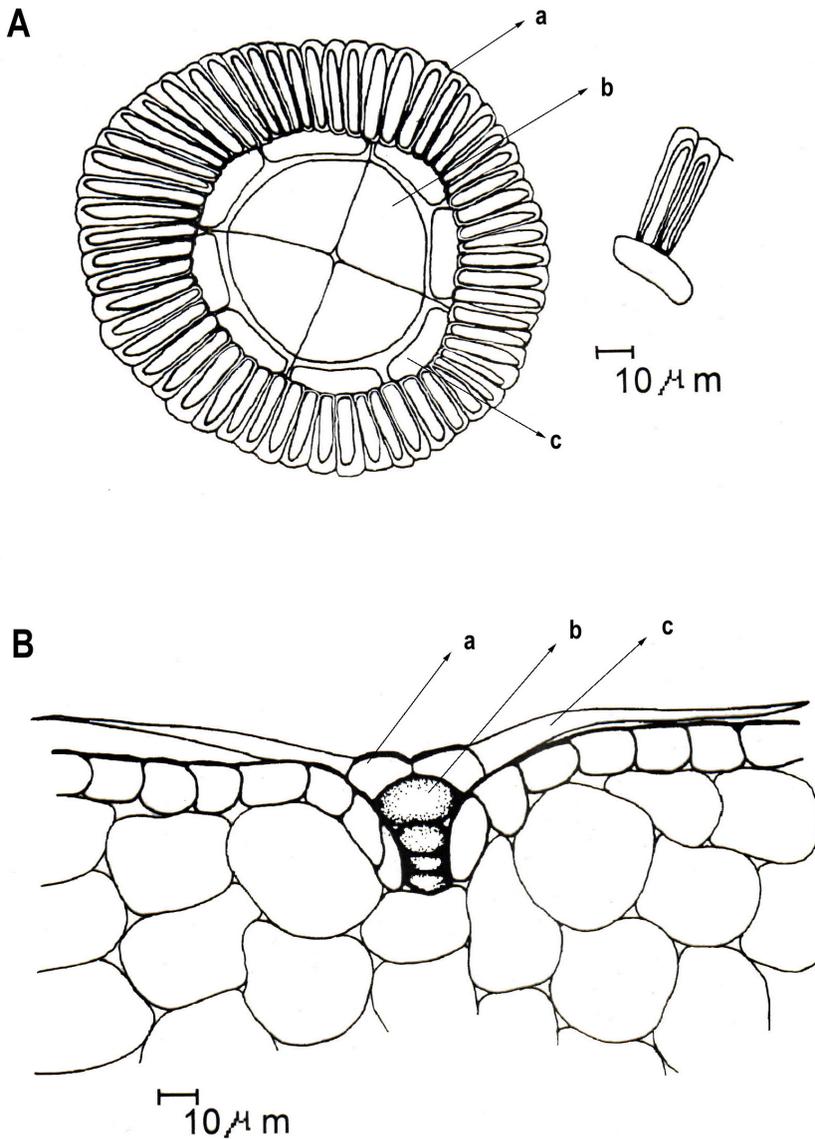


Figura 3. Detalles de los tricomas peltados. A) vista general de la escama. (a)células del ala, (b)células del disco, (c)célula de la periferia del disco. B) corte transversal de la escama (a)célula del disco, (b)célula del pedúnculo, (c)célula del ala.

El esclerénquima está constituido únicamente por fibras prosenquimatosas, que se encuentran hacia la cara adaxial sobre los haces vasculares (Fig. 2A) y además existe una especie de vaina fibrosa que rodea a cada haz vascular (Fig. 2B). Por lo que se encuentran las fibras en forma de vaina o casquetes fibrosos, al igual que fue encontrado en el estudio de Derwiduee & González 2010.

Se encontraron haces vasculares de diferentes tamaños, unos grandes y alargados y otros más pequeños en un 1/3 menos. Entre dos haces de mayor tamaño se encontraban 3 a 5 haces vasculares más pequeños por lo general. Se observaron unos haces con conexión a la epidermis, mientras que otros no. Además se observaron variantes que podrían diferenciar los haces (Fig. 2) en los siguientes tipos: haces grandes o pequeños conectados con la epidermis en la cara adaxial mediante la corrida de la vaina parenquimatosa, haces aislados de ambas epidermis, es decir, únicamente encerrados por las dos vainas (fibrosa y parenquimatosa) sin conexión alguna con ambas superficies, este tipo generalmente está representado por los haces de menor tamaño; otro tipo representa los haces conectados con fibras que se encuentran hacia la cara adaxial de la hoja, mediante las células de la vaina no fibrosa y, por último el tipo correspondiente a los haces conectados con ambas superficies, sin presentar fibras hacia la cara adaxial. Debido a que esta monocotiledónea presenta haces colaterales cerrados (sin cambium vascular entre el xilema y el floema) (Fig. 2). El xilema se encuentra orientado hacia

la parte superior del haz, dirigido hacia la cara adaxial de la hoja. Se puede diferenciar protoxilema y metaxilema, debido a que estos últimos son elementos más anchos y grandes que los primeros. También se pudo diferenciar vasos de tipo espiralados entre los haces vasculares. El floema se encuentra hacia la parte inferior del haz vascular, orientado hacia la superficie abaxial. Está conformado por numerosas células de pequeño tamaño, anucleadas, con algunas células acompañantes que se logran diferenciar debido al protoplasma denso y nucleado que presentan.

Conclusiones

Tillandsia complanata presenta varios tipos de haces vasculares dependiendo del tamaño, tipo de conexión que presenten con la epidermis y del tipo de vaina que los rodea.

La especie presenta tricomas peltados (escamas) conformados por un pie de 1 célula, un pedúnculo de 3 células de paso, 8 células del disco y 4 células de la cabeza del pelo con un número variable de células que conforman el ala (ca. de 48).

Los estomas se encuentran hundidos bajo excrecencias digitiformes de las células periestomáticas, que podrían cumplir una función de protección.

El parénquima estrellado (aerénquima) cumple la función fotosintetizadora pues tiene protoplasto denso y no se encontró parénquima en empalizada.

La hoja se encuentra bastante lignificada debido a la gran cantidad de fibras que presenta.

El xilema se diferencia en protoxilema y metaxilema, y está dispuesto hacia la cara

adaxial de la hoja y el floema está dispuesto hacia la cara abaxial y constituido por numerosas células pequeñas anucleadas con algunas células acompañantes.

Tillandsia complanata presenta una anatomía foliar con características particulares así como con características que comparte con especies de la misma subfamilia. Debido a la amplia variación que presentan (incluso considerando únicamente tejidos vegetativos), la exploración de la anatomía es una herramienta muy útil para la caracterización de las especies así como la identificación taxonómica en la familia. Por tal motivo se sugiere incrementar los estudios anatómicos y contribuir con el conocimiento de las especies del género presentes en un área determinada, para facilitar su identificación en estado vegetativo.

Agradecimientos

Quiero agradecer de manera especial a la Profesora Fresia Torres (Centro Jardín Botánico de Mérida, de la Universidad de Los Andes, Mérida-Venezuela) por su invaluable dedicación en la enseñanza de estudios anatómicos, pues sin su apoyo no hubiera podido ser realizado este trabajo. Al editor y revisor por los comentarios que mejoraron la versión final del manuscrito.

Referencias bibliográficas

AOYAMA, E. M. & M.G. SAJO. 2003. Estrutura foliar de espécies de *Aechmea* Ruiz & Pav. (Bromeliaceae) do Estado de São Paulo, Brasil. *Acta Bot. Bras.* 18(2): 319-331.

BENZING, D & K.M. BURT. 1970. Foliar permeability among twenty species of

the Bromeliaceae. *Bull. Torrey Bot. Club* 97(5): 269-279.

- BENZING, D. 1990. *Vascular Epiphytes. General biology and related biota.* Cambridge University Press. USA.
- BENZING, D. 2000. *Bromeliaceae. Profile of an adaptive radiation.* Cambridge University Press UK.
- BENZING, D. H. 1980. *The biology of the bromeliads.* Mad River Press, Eureka California, USA.
- BENZING, D., K. HENDERSON, B. KESSEL & J. SULAK. 1976. The absorptive capacities of Bromeliad Trichomes. *Amer. J. Bot.* 63 (7): 1009-1014.
- BRAGA, M. M. N. 1977. Anatomia foliar de Bromeliaceae da campina. *Acta Amazônica* 7(3): 1-74.
- DERWIDUEÉ, F. S. & A. M. GONZALEZ. 2010. Anatomía foliar en bromeliaceae del nordeste argentino y paraguay. *Bonplandia* 19(2): 153-173.
- GIVNISH, T. J., M. H. J. BARFUSS, B. VAN EE, R. RIINA, K. SCHULTE, R. HORRES, P.A. GONSISKA, R.S. JABAILY, D. M. CRAYN, J. A. C. SMITH, K. WINTER, G. K. BROWN, T. M. EVANS, B. K. HOLST, H. LUTHER, W. TILL, G. ZIZKA, P. E. BERRY & K. J. SYTSMA. 2011. Phylogeny, adaptive radiation, and historical Biogeography in Bromeliaceae: insights from an eight-locus plastid phylogeny. *American Journal of Botany* 98 (5): <http://www.amjbot.org/cgi/doi/10.3732/ajb.1000059>.
- JOHANSEN, D.A. 1940. *Plant Microtechnique.* Mc Graw Hill, New York.

- LUTHER, H. 2008. *An alphabetical list of bromeliad binomials*. The Marie Selby Botanical Gardens Sarasota, Florida, USA.
- ROBINSON, H. 1969. A monograph on foliar anatomy of the genera *Connelia*, *Cottendorfia* and *Navia* (Bromeliaceae). *Smithsonian Contrib. Bot.* 2: 1-41.
- SAJO, M. G., S. R. MACHADO & S. M. CARMELLOGUERREIRO. 1998. *Aspectos estruturais de folhas de bromélias e suas implicações no agrupamento de espécies*. In *Canistropsis, Bromélias da mata atlântica*. (E.M.C. Leme, ed.). Salamandra, Rio de Janeiro. Brasil.
- SMITH L. B. & R. J. DOWNS. 1977. Bromeliaceae: Tillandsioideae. *Flora Neotropica. Monograph* 14 (2): 663-1492.
- SOUZA, R. C. O. S. & NEVES, L. J. 1996. Anatomia foliar de quatro espécies de Tillandsia. *Bromélia* 3: 28-39.
- STREHL, T. 1983. Forma, distribuição e flexibilidade de dos tricomas foliares usadas na filogenia de bromeliáceas. *Iheringia Serie Botanica* 31: 105-119.
- TOMLINSON, P. B. 1969. *Anatomy of Monocotyledons III Commelinales-Zingiberales*. Edited C.R. Metcalfe. Oxford at the clarendon Press.