

ANATOMÍA DE LA PLÁNTULA DE TRES ESPECIES DE *CUPRESSUS* (CUPRESSACEAE)

ALBERTO A. DE MAGISTRIS ¹ & MARÍA A. CASTRO ²

¹ Cátedra de Botánica, Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad Nacional de Lomas de Zamora, ruta 4 km 2, 1836 Llavallol, Buenos Aires, Argentina. E-mail: agrarias@unlz.edu.ar

² Laboratorio de Anatomía Vegetal, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Universidad de Buenos Aires, 1428 Capital Federal, Argentina. E-mail: mac@ultranet.com.ar

ABSTRACT: De Magistris, A. A. & Castro, M. A. 1999. Seedling anatomy of three species of *Cupressus* (Cupressaceae). *Darwiniana* 37(3-4): 199-207.

Structural anatomy of seedlings of *Cupressus lusitanica* Mill., *C. macrocarpa* Hartw. and *C. sempervirens* L. (Cypress) cultivated in Argentina was studied. Seedlings of these species were fixed at eight different stages of the germination process. Anatomical features of root, hypocotyl, cotyledonary node, cotyledons and epicotyl were described. The root-hypocotyl-cotyledon vascular transition was analyzed. In the root and in most of the hypocotyl length, the protoxylem exhibits exarch position. At the cotyledonary node the metaxylem differentiates gradual- and laterally divergent from the protoxylem. In sections of the upper zone of the hypocotyl, close to the cotyledonary node, the protoxylem shows an endarch position. In the epicotyl, the undifferentiated procambium alternates with the cotyledonary vascular bundles. The number of xylematic poles is equal to the number of cotyledons in the three species.

Key words: Seedling, Transition zone, Anatomy, Cultivated trees, *Cupressus*.

RESUMEN: De Magistris, A. A. & Castro, M. A. 1999. Anatomía de la plántula de 3 especies de *Cupressus* (Cupressaceae). *Darwiniana* 37(3-4): 199-207.

Se estudió la estructura anatómica de las plántulas de *Cupressus lusitanica* Mill., *C. macrocarpa* Hartw. y *C. sempervirens* L. (Ciprés) cultivados en la Argentina. Plántulas de las mencionadas especies fueron fijadas en ocho etapas diferentes de la germinación. Se describieron los caracteres anatómicos de la raíz, el hipocótilo, el nudo cotiledonar, los cotiledones y el epicótilo y se analizó la transición vascular raíz-hipocótilo-cotiledón. En la raíz y en la mayor parte del hipocótilo, el protoxilema presenta posición exarca. En el nudo cotiledonar, el metaxilema se diferencia progresiva y lateralmente divergente desde el protoxilema. En secciones de la zona superior del hipocótilo, muy cerca del nudo cotiledonar, el protoxilema muestra una posición endarca. En el epicótilo, el procámbium no diferenciado alterna con los haces vasculares cotiledonares. El número de polos xilemáticos es igual al número de cotiledones, en todas las especies estudiadas.

Palabras clave: Plántula, Región de transición, Anatomía, Árboles cultivados, *Cupressus*.

INTRODUCCIÓN

Los sistemas vasculares primarios de la raíz y el tallo se distinguen entre sí por su estructura anatómica y por la posición del protoxilema (Fahn, 1982). El estudio de la conexión entre esos dos sistemas es de interés desde el punto de vista del desarrollo, así como filogenético. La conexión entre los sistemas vasculares se denomina "transición vascular" y la región del eje donde se presenta: "región de transición". La estructura de la región de transición es compleja y variable según los grupos de plantas

(Esau, 1965). Estudios anatómicos estructurales en plántulas de Gimnospermas fueron realizados por Hill & de Fraine (1908, 1913), quienes describieron y esquematizaron la región de transición en varios géneros de Cupressaceae y otras familias e hicieron observaciones filogenéticas en Gimnospermas y Angiospermas. Posteriores estudios fueron realizados por Hanes (1927), Guttenberg (1941), Woltz & Roques (1968), Woltz & Bailly (1982) y Woltz (1993), en la mayoría de las familias de Gimnospermas, y por Boureau (1954) y Esau (1965), principalmente en

Angiospermas. Recientemente, De Magistris & Castro (1999) y Castro & De Magistris (1999) describieron en detalle los caracteres foliares estructurales de varias especies cultivadas de *Cupressus* y la ultraestructura de la glándula secretora foliar en *Cupressus arizonica* var. *glabra* (Sudw.) Little, respectivamente.

Finalmente, y desde un punto de vista morfológico, varios autores (Martínez, 1947; Gausson, 1968; Hames, 1980; Silba, 1981 y 1986) describieron algunos caracteres externos de las plántulas de varias especies de *Cupressus* L., sin hacer referencia a la anatomía.

El objetivo del presente trabajo fue describir la estructura anatómica de la raíz, hipocótilo, nudo cotiledonar, cotiledones y epicótilo e interpretar la región de transición vascular en las plántulas de 3 especies de *Cupressus* que se cultivan en la Argentina, a fin de aportar datos útiles sobre estas Gimnospermas con valor forestal y ornamental.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se obtuvieron plántulas de *C. lusitanica* Mill., *C. macrocarpa* Hartw. y *C. sempervirens* L. a partir de semillas coleccionadas por el primer autor y sembradas en bandejas con arena, en invernadero, durante el mes de mayo de 1998. El material herborizado de ramas y conos de los ejemplares utilizados como fuente de semillas, se encuentra depositado en el Herbario G. Xuárez de la Facultad de Agronomía de la Universidad de Buenos Aires (BAA). La germinación se inició a los 10-15 días desde la siembra. Las plántulas se fijaron en FAA en las siguientes etapas de la germinación: inicio, 2, 3, 4, 6, 10, 20 y 30 días. A partir de segmentos de las plántulas se siguió la metodología convencional para su inclusión en parafina y se realizaron cortes seriados transversales y longitudinales de 12-15 μm de espesor, con un micrótopo rotatorio. Para su observación con microscopio óptico, los cortes se tiñeron con safranina-fast green y se montaron definitivamente con medio de montaje sintético. Se realizaron fotomicrografías con microscopio óptico y microscopio estereoscópico y esquemas con tubo de dibujo.

Material estudiado

C. lusitanica. Origen geográfico: regiones montañosas de Norte y Centroamérica, desde México hasta Honduras.

ARGENTINA. **Buenos Aires**. Pdo. de Pinamar: Cariló, De Magistris 512 (BAA); Cariló. De Magistris 515 (BAA).

C. macrocarpa. Origen geográfico: Bahía de Monterey, California, USA.

ARGENTINA. **Buenos Aires**. Pdo. de Pinamar: Cariló, De Magistris 405 (BAA). Pdo. de Lomas de Zamora: Santa Catalina, De Magistris 452 (BAA).

C. sempervirens. Origen geográfico: regiones circunmediterráneas de Europa, Asia y África.

ARGENTINA. **Buenos Aires**. Pdo. de Pinamar: Cariló, De Magistris 717 (BAA). Pdo. de Lomas de Zamora: Santa Catalina, De Magistris 751 (BAA).

OBSERVACIONES

Las plántulas más adecuadas para la observación de la estructura primaria fueron las comprendidas entre el 2^{do} y 6^{to} día, desde el inicio de la germinación (Fig. 1).

Raíz

En corte transversal, desde un punto de vista anatómico, la raíz presenta: restos de caliptra, rizodermis, parénquima cortical con numerosos espacios intercelulares de sección triangular, ausencia de estructuras secretoras (Figs. 2 E y 3 E), endodermis primaria notable (Fig. 4 F), periciclo en una sola capa y cilindro vascular diarco en *C. sempervirens* (Fig. 2 F-G), triarco en *C. lusitanica* (Fig. 3 F) y tri-tetrarco en *C. macrocarpa* (Fig. 4 D-E). El protoxilema es exarco, alterno con el floema (Figs. 3 F y 4 F). En la región central del cilindro vascular, en las secciones próximas al ápice de la raíz, se observan células con contenidos que toman intensamente la safranina (Fig. 4 F).

Esta organización se mantiene más o menos constante en todas las plántulas analizadas, desde el extremo de la raíz hasta la región superior del hipocótilo (Fig. 5 A-B). A veces, particularmente en *C. macrocarpa*, se observa un aumento del número de polos protoxilemáticos desde la raíz hacia el hipocótilo (Fig. 4 C-E).

Hipocótilo

En vista externa, la región del hipocótilo presenta una coloración rojiza. En sección transversal, los diámetros medios son de 0,9 mm en *C. sempervirens* y 0,8 mm en *C. lusitanica* y *C. macrocarpa*. El contorno es circular a subcircular (Fig. 2 D). La zona

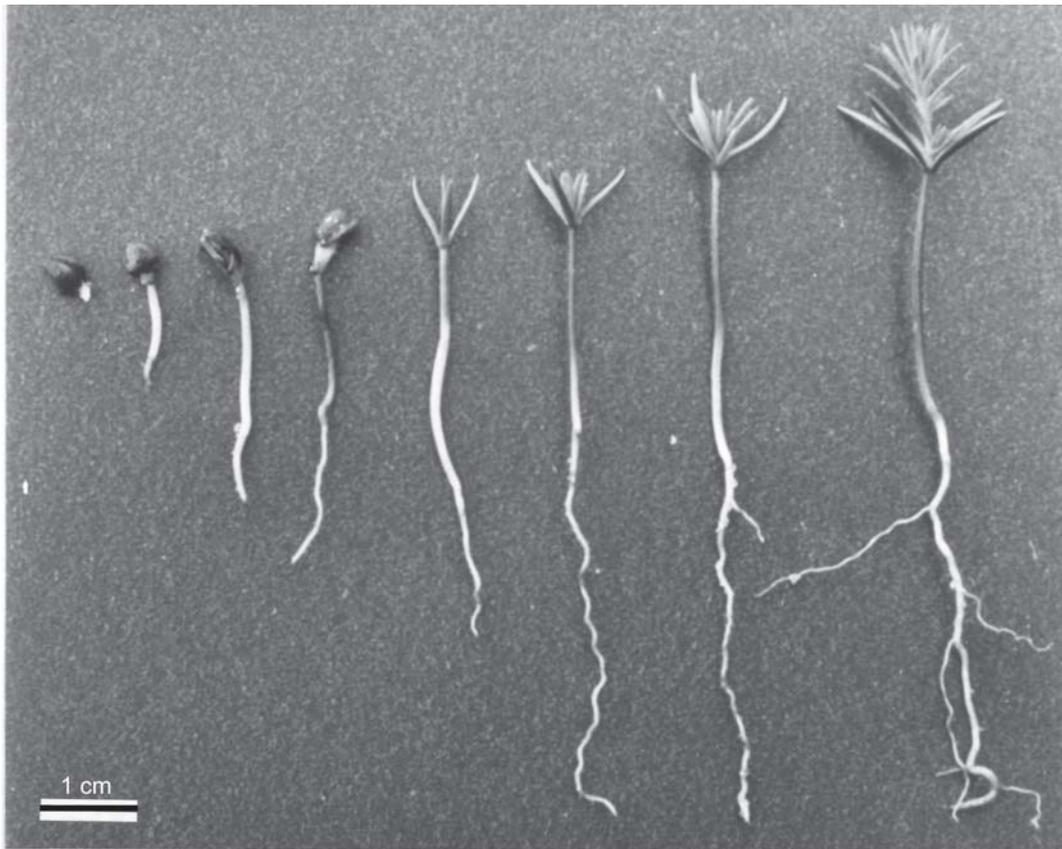


Fig. 1.- *C. macrocarpa*. De izquierda a derecha, etapas de la germinación: inicio, 2, 3, 4, 6, 10, 20 y 30 días.

inferior y media del hipocótilo tiene una estructura semejante a la de la raíz y sólo se observa un incremento en el diámetro, con respecto a aquélla (Fig. 5 A2-3 y B2-3). La epidermis presenta numerosos estomas hundidos, más notables en *C. lusitanica* y *C. macrocarpa*, y cutícula delgada en *C. sempervirens*, gruesa en *C. macrocarpa* y gruesa y estriada en *C. lusitanica*. En posición subepidérmica, se observan células aisladas con contenidos que toman intensamente la coloración rojiza con safranina (Fig. 3 C) y que, posteriormente, a partir de los 6 días aproximadamente, constituirán fibras no lignificadas, como el único tejido mecánico presente. El parénquima cortical de *C. lusitanica* y *C. macrocarpa* presenta grandes espacios esquizolisígenos alternos con los polos de protoxilema y en igual número que éstos (Fig. 4 C-D). En secciones de la porción superior del hipocótilo, próximas al nudo cotiledonar, no se observa endodermis y el cilindro vascular está rodeado por una vaina de células parenquimáticas de 1-2 capas de espesor (Fig. 3 C).

Nudo cotiledonar

Hacia el nudo cotiledonar, el metaxilema se diferencia progresiva y lateralmente divergente desde el protoxilema (Fig. 3 D) y se observan varios grupos de floema: 4 en *C. sempervirens* (Fig. 5 A3), 6 en *C. lusitanica* (Fig. 5 B3) y 8 en *C. macrocarpa*. Paulatinamente, el protoxilema se ubica más profundamente, hasta alcanzar la posición endarco. Antes de inervar completamente el cotiledón, cada traza colateral consta de un grupo de xilema, con dos grupos de floema. En el nudo cotiledonar, las trazas cotiledonares, ya con protoxilema endarco, se organizan a través de una región de transición espacialmente corta que transcurre siguiendo un modelo general, similar en las tres especies estudiadas (Fig. 5 A3 y B3).

Cotiledones

El número de cotiledones es variable entre especies: 3 (4 ó 2) en *C. lusitanica* y 3 (4 ó 5) en *C. macrocarpa* y 2 en *C. sempervirens*. En un recuento

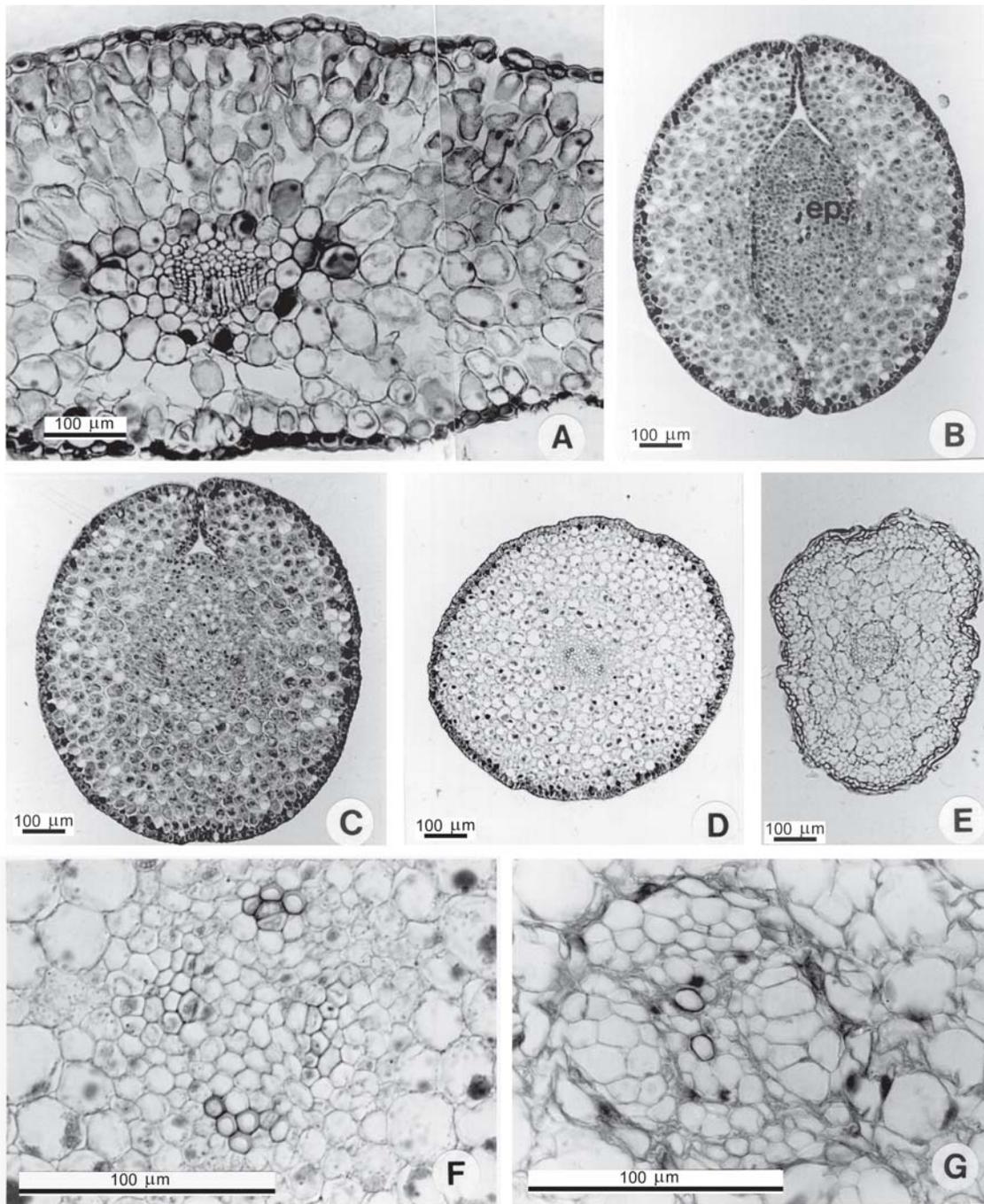


Fig. 2.- *C. sempervirens*: cortes transversales de una plántula de 3 días. A: cotiledón, detalle. B: cotiledones y epicótilo. C: nudo cotiledonar, trazas de los cotiledones. D y F: hipocótilo, aspecto general y detalle respectivamente. E y G: raíz diarca, aspecto general y detalle respectivamente. Abreviatura: ep, epicótilo.

hecho sobre 100 plántulas de cada especie, los resultados en cuanto al número de cotiledones fue-

ron: en *C. lusitanica*, 2: 5%; 3: 79%; 4: 16% y 5: 0%; en *C. macrocarpa*, 2: 0%; 3: 61%; 4: 38% y 5: 1% y en *C. sempervirens*, 2: 100%.

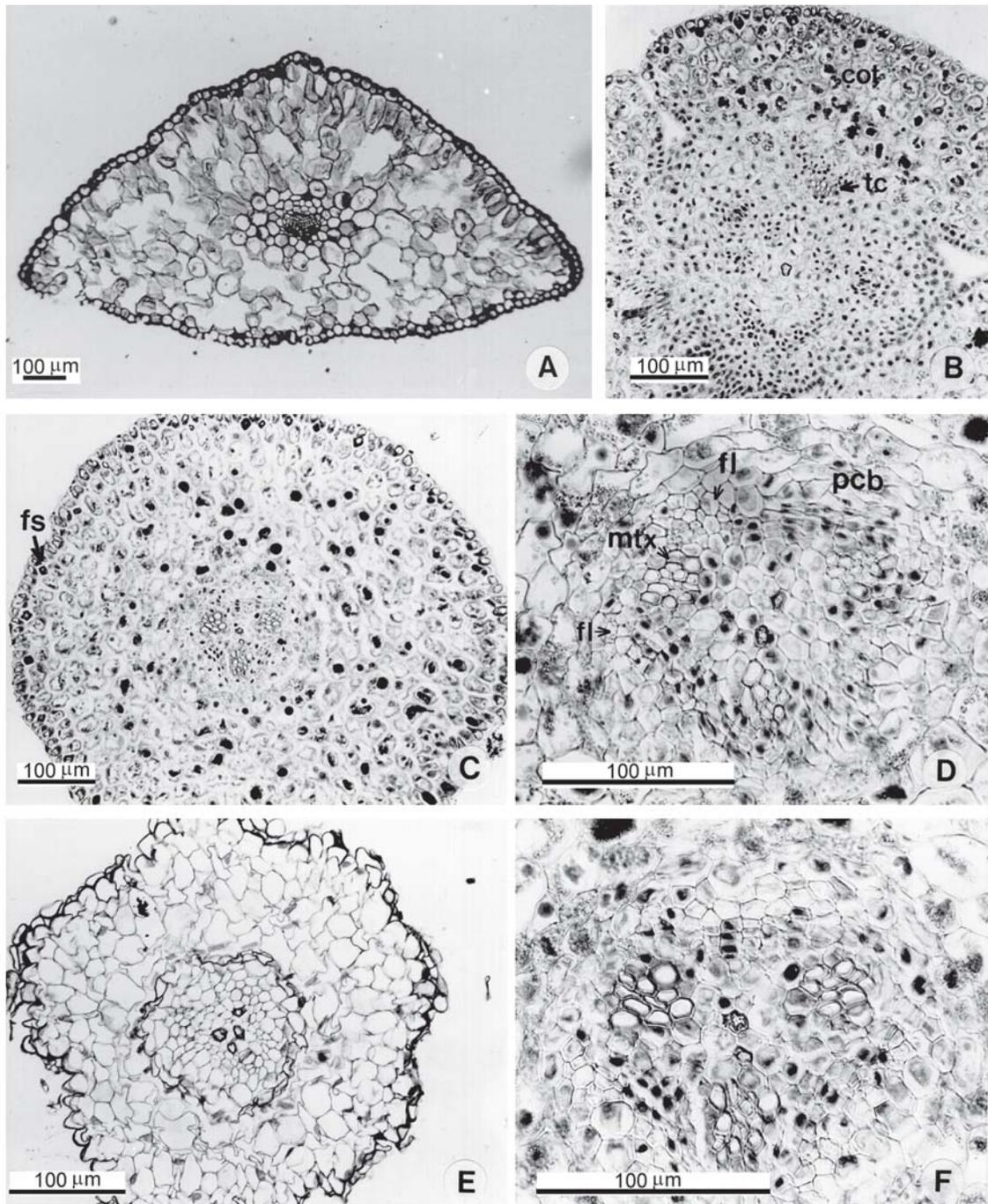


Fig. 3.- *C. lusitanica*: corte transversal de una plántula de 3 días. A: cotiledón. B: cotiledones y primordios de hojas juveniles. C y D: nudo cotiledonar, aspecto general y detalle de la transición vascular respectivamente. E y F: raíz triarica, aspecto general y detalle respectivamente. Abreviaturas: cot, cotiledón; fl, floema; fs, fibras subepidérmicas; mtx, metaxilema; pcb, procámbium; tc, traza cotiledonar.

Los cotiledones están en posición opuesta a los polos de protoxilema. Son epigeos y lineares y presentan sección elíptica aplanada en *C. semper-*

virens (Fig. 2 A) y aproximadamente triangular en *C. lusitanica* y *C. macrocarpa* (Figs. 3 A, 4 A y 5 A).

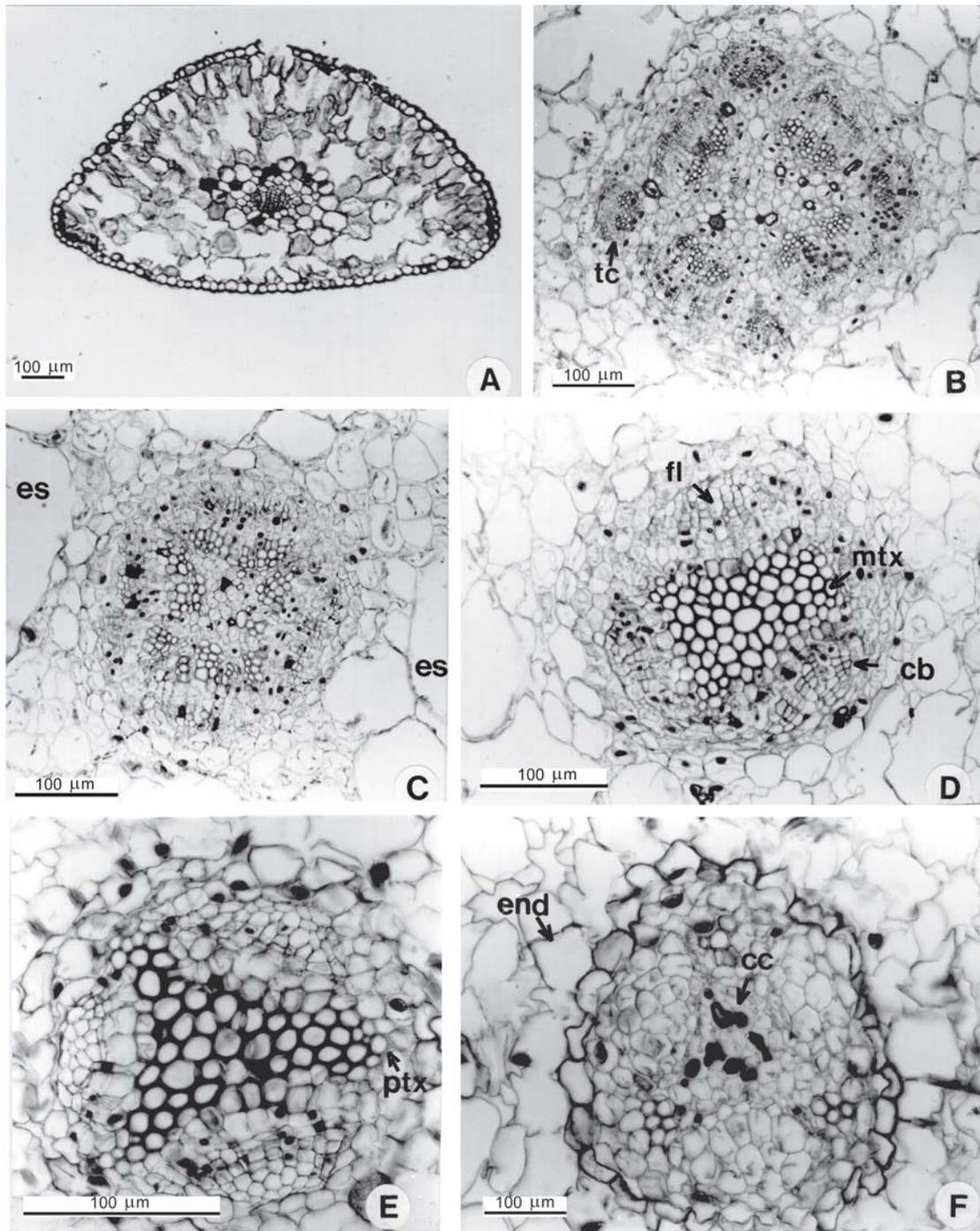


Fig. 4.- *C. macrocarpa*, cortes transversales de una plántula de 10 días (inicio del crecimiento secundario). A: cotiledón. B: nudo cotiledonar y trazas cotiledonares. C: región superior del hipocótilo. D: hipocótilo. E: raíz triarca, diferenciación del cámbium vascular. F: raíz triarca, detalle del cilindro vascular cerca del ápice. Abreviaturas: cb, cámbium; cc, células con contenidos; end, endodermis; es, espacios esquizo-lisígenos; fl, floema; mtx, metaxilema; ptx, protoxilema; tc, traza cotiledonar.

La cara abaxial presenta, generalmente, una coloración pardo-rojiza. La epidermis es uniestratificada con cutícula gruesa y estomas hundidos en ambas caras, el mesofilo es dorsiventral, con parénquima en empalizada laxo, el haz vascular es colateral y único, con vaina de células parenquimáticas de 2-3 capas de espesor y sin tejido de transfusión ni estructura secretora.

La anatomía de la transición raíz-hipocótilo-cotiledón, es simple en *C. sempervirens*, con dos cotiledones pero incrementa su complejidad en las restantes especies, a medida que aumenta el número de aquéllos. En corte longitudinal, las trazas cotiledonares se separan oblicuamente del cilindro vascular para inervar a los cotiledones y constituir una unidad vascular raíz-hipocótilo-cotiledón. Las trazas cotiledonares ocupan una posición alterna con el procámbium que, en el epicótilo, inervará los primordios del primer par de hojas juveniles (Figs. 2 B y 3 B). Durante un corto lapso de tiempo y espacio, sólo pequeñas bandas de procámbium conectan el sistema vascular raíz-hipocótilo-cotiledón con el sistema originado por el ápice vegetativo en el epicótilo; éste se desarrolla una vez que la unidad vascular raíz-hipocótilo-cotiledón está casi o totalmente diferenciada. Las hojas juveniles, opuestas y decusadas, presentan forma linear y sección aproximadamente triangular, y se caracterizan por la presencia de una estructura secretora esquizógena de sección circular a subcircular, en posición subepidérmica, en la cara abaxial.

La diferenciación del cámbium vascular ocurre aproximadamente entre los 6 y 10 días desde el inicio de la germinación y, en esta etapa, la formación del xilema y floema secundarios enmascara la anatomía de la región de transición (Fig. 4 B-C). En esta zona, el metaxilema deja el centro del cilindro vascular libre de elementos vasculares y comienza a observarse la médula. A los 20-30 días, en la raíz y el hipocótilo, el cámbium se observa en forma de anillo completo y los tejidos secundarios se forman en continuidad entre la raíz y el tallo (Fig. 5 C3). Al mismo tiempo, y a partir del periciclo, el felógeno se diferencia por fuera del cilindro vascular.

El número de polos xilemáticos del cilindro vascular coincide, en general, con el número de cotiledones de la especie.

DISCUSIÓN Y CONCLUSIONES

El presente estudio permite corroborar que la anatomía de la transición vascular en las *Cupressaceae* es simple, con respecto a otras familias de Gimnospermas descritas por Hill & de Fraine (1908), en las cuales la formación de los haces vasculares cotiledonares ocurre luego de varias fases intermedias, generalmente con mayor desarrollo del floema. La anatomía de las plántulas estudiadas concuerda, en general, con las descripciones hechas por los mencionados autores, en *C. macrocarpa* y *C. torulosa* D. Don y es similar a la de otros géneros de la familia, cercanamente relacionados, como *Chamaecyparis* Spach. y *Juniperus* L. Algunas especies pertenecientes a estos últimos géneros presentan tejido de transfusión poco desarrollado en el haz vascular cotiledonar; carácter no observado en los especímenes de *Cupressus* estudiados en el presente trabajo. Semejanzas anatómicas con otras familias se observan principalmente en algunos géneros de Pinaceae.

La ausencia de estructuras secretoras en los cotiledones es un carácter típico de las *Cupressaceae* (Hill & de Fraine, 1908). En esta familia, solo las hojas juveniles y las adultas presentan una estructura secretora esquizógena esférica a alargada (De Magistris & Castro, 1999; Castro & De Magistris, 1999).

En las especies de *Cupressus* analizadas, la anatomía de la transición es similar al modelo general descrito en Dicotiledóneas (Boureau, 1954; Esau, 1965) y, con respecto a su trayecto y posición en el hipocótilo, responde al tipo "corto" y "alto", sugerido por Esau (1965). Como lo interpreta Boureau (1954), si bien la complejidad de la estructura anatómica es, en parte, resultado del incremento en el número de cotiledones, en las especies estudiadas, el patrón estructural de la transición se mantiene constante. De acuerdo con Esau (1965), no hay una transición vascular entre la raíz y el epicótilo, sino una conexión simple y directa entre tejidos de orientación similar, y el epicótilo aparece como superpuesto a la unidad vascular raíz-hipocótilo-cotiledón.

Desde un punto de vista filogenético, y de acuerdo con varios autores (Gaussens, 1968; Silba, 1986), se confirma el hecho de que en *Cupressus*, las especies del Viejo Mundo, entre ellas *C. sempervirens*, presentan 2 cotiledones, mientras que las del Nuevo

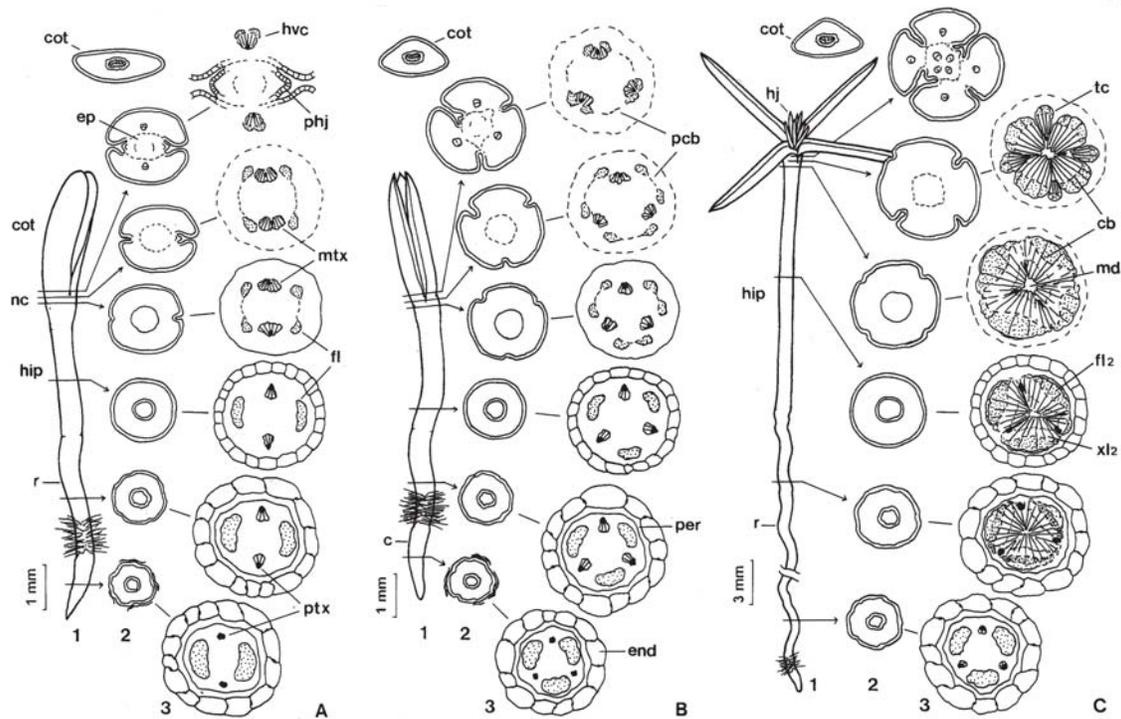


Fig. 5.- Plántulas y transición raíz-hipocótilo-cotiledón. A y B: plántulas de 3 días de *Cupressus sempervirens* y *C. lusitanica*, respectivamente. C: plántula de 10 días de *C. macrocarpa*. 1: aspecto general. 2: secciones transversales de la plántula. 3: detalles del cilindro vascular. Abreviaturas: c, caliptra; cb, cámbium; cot, cotiledón; end, endodermis; ep, epicótilo; fl, floema; fl2, floema secundario; hj, hojas juveniles; hip, hipocótilo; hvc, haz vascular cotiledonar; md, médula; mt, metaxilema; nc, nudo cotiledonar; pcb, procámbium; per, periciclo; phj, primordio de hoja juvenil; ptx, protoxilema; r, raíz; tc, traza cotiledonar; xl2, xilema secundario.

Mundo (*C. lusitanica*, *C. macrocarpa* y otras) presentan siempre de 3 a 5 cotiledones. Las observaciones del material estudiado de *C. lusitanica* muestran un 5 % de plántulas con 2 cotiledones y este hecho se relaciona con un diagrama evolutivo presentado por Silba (1981) en el cual dicho autor incluye a *C. lusitanica* como cercanamente relacionada a *C. sempervirens*, especie ancestral del género y también como posible nexo entre el grupo de especies norteamericanas y el de las euroasiáticas.

Finalmente, la correspondencia entre el número de polos protoxilemáticos del cilindro vascular y el número de cotiledones, la permanencia de una estructura anatómica constante entre la raíz y la mayor parte del hipocótilo, la anatomía de la transición comparativamente sencilla, y una temprana diferenciación de los tejidos vasculares secundarios son los caracteres distintivos de las plántulas estudiadas, con respecto a las de otros grupos de plantas vasculares.

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen a Elena Ancibor, del Laboratorio de Anatomía Vegetal (FCEyN-UBA), los útiles consejos y la lectura crítica del manuscrito.

BIBLIOGRAFÍA

- Boureau, E. 1954. *Anatomie végétale*, vol. 1. Presses Universitaires de France, Paris.
- Castro, M. A. & De Magistris, A. A. 1999. Ultrastructure of foliar secretory cavity in *Cupressus arizonica* var. *glabra* (Sudw.) Little (Cupressaceae). *Biocell* 23: 19-28.
- De Magistris, A. A. & Castro, M. A. 1999. Anatomía foliar de las especies de *Cupressus* cultivadas en la Argentina. *Bol. Soc. Argent. Bot.* 34: 47-61.
- Esau, K. 1965. *Plant anatomy*. John Wiley. New York.
- Fahn, A. 1982. *Plant anatomy*. Pergamon Press. Oxford.
- Gaussen, H. 1968. Les gymnospermes actuelles et fossiles. Les Cupressacées. *Trav. Lab. Forest. Toulouse* 2: 1-326.

- Guttenberg, H. von. 1941. Der primäre Bau der Gymnospermenwurzel, en K. Linsbauer (ed.). *Hand. Pflanzenanat.* 8. Fasc. 41.
- Hames, R. 1980. *Le cypres*. Ed. P.H.M., Paris.
- Hanes, C. S. 1927. Resin canals in seedling conifers. *J. Linn. Soc., Bot.* 47: 613-636.
- Hill, T. G. & de Fraine, E. 1908. On the seedling structure of Gymnosperms. Part I. Taxaceae, Podocarpaceae, Cupressineae, Abietineae. *Ann. Bot. (London)* 22: 679-712. 1909a. Part II. Abietineae and Araucariaceae. *Ann. Bot. (London)* 23: 189-227. 1909b. Part III. Ginkgoaceae and Cycadaceae. *Ann. Bot. (London)* 23: 433-458. 1910. Part IV. Gnetales. *Ann. Bot. (London)* 24: 319-353.
- & —. 1913. A consideration of the facts relating to the structure of seedlings. *Ann. Bot. (London)* 27: 257-272.
- Martínez, M. 1947. Los *Cupressus* de México. *Anales Inst. Biol. Univ. Nac. México* 18: 71-149.
- Silba, J. 1981. Revised generic concepts of *Cupressus* L. (Cupressaceae). *Phytologia* 49: 390-399.
- (compilado). 1986. *Encyclopaedia Coniferae*. En: H. N. Moldenke & A. L. Moldenke (eds.) *Phytologia Memoirs* 8. Corvallis, USA.
- Woltz, Ph. 1993. Apport des Cotyledons dans l'évolution des Podocarpaceae. *Gaussenia* 8: 6-15.
- & Bailly, Y. 1982. *Austrotaxus spicata* Compton, Taxacée de Nouvelle-Calédonie: Aspects anatomiques et evolution de l'appareil conducteur de la plantule. *Bull. Soc. Bot. Fr.* 129: 223-230.
- & Roques, J. P. 1968. Contribution a l'étude anatomique de quelques plantules d'*Agathis*. *Trav. Lab. Forest. Toulouse.* 1: 1-6.

Original recibido el 27 de abril de 1999; aceptado el 19 de agosto de 1999.