NMNPAX ISSN 0372-4557

UNIVERSIDAD NACIONAL DE LA PLATA
FACULTAD DE CIENCIAS NATURALES Y MUSEO

NOTAS DEL MUSEO DE LA PLATA

TOMO XXI Botánica, Nº 97

APORTES AL CONOCIMIENTO HISTOQUIMICO DEL MESOFILO EN ESPECIES DE *CANNA* L. (CANNACEAE)

MARIA DE LAS MERCEDES CICIARELLI

LA PLATA
REPUBLICA ARGENTINA
1986

NOTAS DEL MUSEO DE LA PLATA

Publicación aperiódica de la Facultad de Ciencias Naturales y Museo, Universidad Nacional de La Plata, Argentina.

Consultas editoriales:
Junta Editora

Ventas:
Publicaciones

Dirección: Facultad de Ciencias Naturales y Museo,
Paseo del Bosque s/n.,
1900 La Plata, Buenos Aires,
Argentina.

© Facultad de Ciencias Naturales y Museo, Universidad Nacional de La Plata, 1986

Impreso en ZLOTOPIORO S.A.C.I.F., Sarmiento 3149, Buenos Aires, República Argentina

NMNPAX ISSN 0372-4557

UNIVERSIDAD NACIONAL DE LA PLATA
FACULTAD DE CIENCIAS NATURALES Y MUSEO

NOTAS DEL MUSEO DE LA PLATA

TOMO XXI 1986 Botánica, Nº 97

APORTES AL CONOCIMIENTO HISTOQUIMICO DEL MESOFILO EN ESPECIES DE *CANNA* L. (CANNACEAE)

MARIA DE LAS MERCEDES CICIARELLI [1]

RESUMEN

Se ha llevado a cabo un análisis histoquímico del mesófilo de *Canna coccinea* Mill. y *Canna glauca* L., habiéndose confirmado la presencia de almidón de reserva en las células de las vainas parenquimáticas de los haces vasculares, contenidos tánicos en el citoplasma de células epidérmicas, hipodérmicas, del parénquima en empalizada y de células vecinas al vaso principal de metaxilema de los haces; sustancias de naturaleza lipídica en el tejido en empalizada, sílice y oxalato de calcio en idioblastos. *Canna coccinea* presenta antocianas en vacuolas de células epidérmicas, lo que le confiere el color rojo característico a los márgenes y nervio medio foliares. Las antocianas faltan en *C. glauca*. La primera de las especies mencionadas presenta un "tejido acuífero" de localización subepidérmica abaxial y circunscripto al área sobreelevada de la vena media. Tres sustancias aparecen asociadas en este tejido: lignina, suberina y celulosa. La presencia de este tejido en el mesófilo, su relación con otros tejidos foliares y el análisis químico efectuado sugieren que se vincula principalmente con el almacenamiento de agua, desempeñando, además, una función accesoria motora.

Canna, mesófilo, histoquímica

[1] Cátedra de Introducción a la Botánica, Facultad de Ciencias Naturales y Museo, Paseo del Bosque s/n., 1900 La Plata, Argentina.

ABSTRACT

MESOPHYLL HISTOCHEMISTRY IN SPECIES OF *Canna L.* — A histochemical analysis of the leaf tissues of *Canna coccinea* Mill. and *Canna glauca* L. has demonstrated the presence, chemical nature and distribution of following substances: starch, tanines, silica, calcium oxalate, antocianes and fats in the citoplasm. Wall substances, besides cellulose, were: lignine, suberine and cutine. Special attention has been given to the abaxial "water tissue" in *C. coccinea:* its location in the mesophyll, its relation to other leaf tissues and its chemical analysis are suggestive of a double function, the principal being the storage and transportation of water, and the accessory being of a mechanical-motor nature.

Canna, mesophyll, histochemistry

INTRODUCCION

Al estudiar la histología foliar de 2 especies de *Canna* L. (*Canna coccinea* y *Canna glauca*), se encontraron inclusiones celulares, sustancias incrustantes y pigmentos con referencia a los cuales se analizó la naturaleza química y la distribución en los tejidos foliares. Se pudo corroborar la presencia de almidón, taninos, lípidos, sílice, oxalato de calcio, antocianas, celulosa, y determinar la de lignina, suberina y cutina.

En el curso del mismo estudio la naturaleza del "tejido acuífero" de la hoja requirió un especial análisis histoquímico, porque se halló que la naturaleza de sus paredes celulares y su posición en el mesófilo de la hoja, no sólo sugerirían propiedades relacionadas con la reserva y transporte de agua sino una función accesoria motora.

Solereder & Meyer (1930) y Tomlinson (1969) son los únicos aportes recientes al conocimiento histoquímico general de *Cannaceae.* Ellos citan someramente algunos estudios previos generales (Falkenberg, 1876; Leblois, 1887; Lutz, 1897; etc.). La presencia de almidón, taninos, lípidos, sílice, oxalato de calcio y antocianas es dada a conocer por los dos trabajos mencionados en primer lugar, sin efectuar precisiones en cuanto a la distribución de estas sustancias o a los tests realizados para detectarlas. No existen hasta el presente trabajos específica-

mente relacionados con la histoquímica de la hoja, con la excepción de la cita que hace Tomlinson (1969) de cristales de albúmina en plástidos para dos especies exóticas de *Canna* (*C. gigantea* Desf. y *C. warscewiczii* A. Dietr.).

Haberlandt (1914) hace una referencia general al tejido acuífero de *Scitaminae* sensu lato, al cual le asigna una función exclusivamente almacenadora de agua. Solereder & Meyer se limitan a mencionar su presencia. Tomlinson (1961) lo describe, llamando "células oblicuas" a sus elementos constituyentes, en los cuales se encuentran engrosamientos parietales cuya naturaleza no analiza.

MATERIALES Y METODOS

1. MATERIALES: Se utilizó material fresco coleccionado por la autora en varias excursiones por los alrededores del partido de La Plata (Punta Lara, City Bell y Gonnet). Parte del material fue depositado en el herbario del Museo de La Plata (LP): *Canna coccinea* Mill. City Bell, Legit Ciciarelli N° 1; *Canna glauca* L. Punta Lara, Legit Ciciarelli N° 2.

2. MÉTODOS: Se efectuaron diversas técnicas de identificación de sustancias en cortes delgados, hechos a "mano alzada" y con "micrótomo de congelación". Las preparaciones transitorias se montaron en glicerina, y las preparaciones definitivas para comparación, en bálsamo de Canadá.

Las reacciones de caracterización llevadas a cabo fueron:

2.1. *Test del lugol* (para detectar la presencia de almidón): Se colocan los cortes en una solución de lugol (0,3 gr de iodo, 1,5 gr de ioduro de potasio y 100 cm^3 de agua) durante pocos minutos. El almidón se colorea de azul violáceo.

2.2. *Test del sulfato ferroso* (para taninos): Se colocan las secciones en una solución de 2 gr de sulfato ferroso, 10 cm^3 de formol y 90 cm^3 de agua destilada. Se dejan en ella 24 a 48 horas. Los taninos se colorean de azul oscuro a negro.

2.3. *Test del fenol* (para sílice): a) se colocan los cortes sobre portaobjetos; b) se cubren con un cristal de fenol; c)

se calienta hasta que aparezca una coloración rosada, que indica la presencia de sílice.

2.4. *Test del acetato cúprico-sulfato férrico* (para oxalato de calcio): a) se colocan las secciones en una solución acuosa, saturada de acetato cúprico. Si hay cristales de oxalato de calcio, éstos se disuelven y el ácido oxálico difunde a los espacios intercelulares donde se forman los cristales de oxalato cúprico; b) a continuación, mediante una solución de sulfato férrico (5 gr de sulfato férrico y 20 cm^3 de ácido acético en 80 cm^3 de agua destilada) se trata el oxalato disuelto. Este precipita formando cristales amarillos de sulfato ferroso.

2.5. *Test del sudán 4 en etilenglicol* (para sustancias de naturaleza grasa en general): Se colocan los cortes sobre portaobjetos en una solución de sudán 4 al 1 % en etilenglicol. Se aplicó con resultado positivo para cutina, suberina, y lípidos, que reaccionan coloreándose de anaranjado rojizo.

2.6. *Test del floroglucinol* (para lignina): a) se colocan las secciones en una solución de floroglucinol al 1 % en alcohol 70 % durante 5 minutos; b) el exceso de floroglucinol se elimina con papel de filtro y se cubren con gotas de ácido clorhídrico concentrado. La lignina se colorea de rojo intenso. Esta coloración es transitoria.

2.7. *Tests efectuados para detectar celulosa.*

2.7.1. *Test del azul de anilina:* a) se pasan los cortes por la serie de alcoholes de graduación progresiva hasta alcohol 100 %; b) se colocan en una solución de azul de anilina en alcohol 100 % y se dejan allí hasta obtener la coloración deseada; c) se llevan a xilol puro; d) se hace un segundo cambio a xilol; e) se montan en bálsamo de Canadá. La celulosa colorea de azul intenso.

2.7.2. *Test del pardo de Bismarck:* Se utiliza una solución de pardo de Bismarck al 1 % en alcohol 70 %; a) se colocan las secciones en alcohol 70 % y se pasan a la solución colorante, dejándolos durante aproximadamente 10'; b) se sacan y pasan por la serie de alcoholes etílicos de graduación progresiva hasta

xilol; c) se repite el paso por xilol; d) se montan en bálsamo de Canadá. La celulosa se tiñe de castaño brillante.

2.7.3. *Test de la eritrosina-cristal violeta* (también es específico para lignina, suberina y cutina): Aquí se la empleó en especial para el análisis químico de las paredes celulares del tejido acuífero. Los pasos de la misma se resumen a continuación: a) las secciones de material fresco en agua destilada se pasan a una solución de cristal-violeta al 1 % acuosa, y se dejan entre 15 y 24 horas; b) se lavan con agua destilada hasta alcanzar la coloración deseada dependiendo el lavado, del tiempo utilizado para colorear; c) se deshidratan los cortes hasta llegar a alcohol 95 %; d) se colocan los cortes en una solución de eritrosina en alcohol 95 % de 1 a 5 minutos; e) pasan a alcohol 100 %, luego a la mezcla de alcohol 100 % y xilol (1:1) y finalmente a xilol; f) se hace un nuevo pasaje por xilol; g) se montan en bálsamo de Canadá. Las paredes celulósicas se tiñen de rosa brillante, las cutinizadas de púrpura. La lignina se colorea de azul, la suberina de púrpura y los parénquimas en general de rosa.

RESULTADOS

INCLUSIONES EN GENERAL, PIGMENTOS Y CUTINIZACIÓN (Lám. 1): Almidón, taninos, lípidos y sílice se distribuyen similarmente y en proporción semejante en *C. coccinea* y *C. glauca*. No sucede lo mismo con el oxalato de calcio, antocianas y cutina.

ALMIDÓN DE RESERVA: se observó en forma de granos, en las células de las vainas parequimáticas que rodean los haces vasculares. La forma de los granos es cercanamente elíptica y son pequeños aún con los aumentos máximos utilizados (1250 x).

CONTENIDOS TÁNICOS: aparecen exclusivamente en citoplasma de células epidérmicas, hipodérmicas, en células del parénquima en empalizada, y en algunas de las células vecinas del vaso principal de metaxilema del haz vascular..

SUSTANCIAS DE NATURALEZA LIPÍDICA: se observaron en el citoplasma de células de contorno subcircular, o alargadas, presentes en el tejido en empalizada.

SÍLICE: aparece en forma de cuerpos amorfos, en el citoplasma de células especializadas. En la epidermis (en vista superficial) es notable la presencia de hileras de estas células que se extienden por encima de las venas secundarias e intersecundarias siguiendo su trayecto. En corte transversal se puede comprobar exactamente la posición de las células silíceas en hileras subepidérmicas, que corren por encima de los casquetes fibrosos asociados a los haces vasculares.

OXALATO DE CALCIO: aunque es común en las dos especies estudiadas varían la forma, la distribución y el tamaño de sus cristales. Estos se presentan bajo dos aspectos: "arenilla cristalina" o cristales muy pequeños, en gran cantidad, romboidales o diversamente prismáticos; y agregados amorfos de tamaño mucho mayor. El primer tipo se halla en células parenquimáticas del mesófilo de *C. glauca* y *C. coccinea*. La segunda especie los presenta también en la epidermis, faltando en la epidermis de *C. glauca*. Los agregados amorfos o grandes cristales solitarios se encontraron en la hipodermis de ambas especies, pero son más abundantes en *C. glauca*.

ANTOCIANAS: La presencia de pigmentos antociánicos se detectó en las vacuolas de las células epidérmicas de *C. coccinea*, cuyas vainas, márgenes y nervio medio foliares aparecen marcadamente coloreados de rojo (Ciciarelli, 1984). *C. glauca* carece de pigmentos antociánicos.

CUTINA: Aparece en las paredes tangenciales externas de las células epidérmicas y en los repliegues o engrosamientos parietales de las células oclusivas de los estomas. Las 2 especies presentan epidermis cutinizada, pero este fenómeno es más notable en *C. glauca*. El espesor de las paredes tangenciales externas de la epidermis de la especie mencionada alcanza los 5,5 micrometros. De este valor 2,5 micrometros, es decir casi la mitad, corresponde a la cutícula, mientras que el resto, con una reacción más débil al test correspondería a las capas cuticulares. En el caso de *C. coccinea*, el espesor total de las paredes tangenciales externas no sobrepasa los 1,6 micrometros, y la coloración obtenida con el test es uniforme no habiendo indicios de una diferencia marcada entre capas cuticulares y cutícula. De igual ma-

nera son más notables los repliegues cutinizados de las células oclusivas de los estomas de *C. glauca* que los de *C. coccinea*.

TEJIDO ACUÍFERO (Lám. 1): Se presenta tejido acuífero solamente en *C. coccinea*. *C. glauca* presenta 2 capas de hipodermis abaxial, sin desarrollo del tejido mencionado. Tres sustancias aparecen asociadas en el tejido acuífero: lignina, suberina y celulosa. Con respecto a la primera, hasta 8 capas celulares subepidérmicas arrojan un resultado positivo. Los test diferenciales indican lignificación presente pero débil. Lo mismo sucede con la suberina, presente en todas las células del tejido acuífero pero en forma de una débil lámina parietal. La celulosa finalmente es la sustancia predominante. La presencia, distribución y proporción de las 3 sustancias indican que se trata de un tejido parenquimático con paredes celulósicas delgadas, firmes, elásticas y plásticas.

CONCLUSIONES

La presencia de almidón, taninos, lípidos y sílice es común para *C. glauca* y *C. coccinea*, en proporción similar y distribución comparable (epidermis, hipodermis y parénquima del mesófilo). El oxalato de calcio es más abundante en *C. glauca* y los pigmentos antociánicos son exclusivos de *C. coccinea*, cuyos márgenes foliares, vainas y nervio medio aparecían coloreados de rojo.

La cutinización es notablemente diferente en ambas especies siendo muy marcada en *C. glauca*. Este carácter puede correlacionarse claramente con la consistencia foliar, la textura papirácea a cartácea y la superficie lineada a opaca de las hojas de esta especie (Ciciarelli, 1984).

El tejido acuífero se encontró desarrollado solamente en hojas de *C. coccinea*. El tipo de pared de las células de este tejido permite variaciones de turgencia respondiendo a condiciones hídricas fluctuantes. La elasticidad y capacidad de cambios de turgencia puede estar relacionada con la suberina presente en la pared.

Además de la retención y distribución de agua, el tejido acuífero funciona accesoriamente como área motora de la hoja. En *C. coccinea* es común que la lámina se doble por la mitad

a lo largo de la nervadura media, en condiciones naturales de evapotranspiración elevada o cuando se corta la hoja. Es decir: el déficit de agua promueve el plegamiento foliar y el tejido que acumula y distribuye el agua se encontraría preparado fisiológicamente para soportar el movimiento. A ésto coadyuvarían la suberina, otorgando elasticidad (además de impermeabilidad) y la lignina, otorgando resistencia.

Las hojas de *C. glauca*, de contorno lanceolado angosto y nervio medio apenas sobresaliente, carecen de tejido acuífero. La lámina foliar stá menos desarralada y es probable que este hecho, sumado a la marcada cutinización epidérmica permitan una regulación hídrica sin necesidad de un tejido acuífero especializado. Por otra parte las hojas de *C. glauca* no se pliegan como las de *C. coccinea*, eventualmente curvan parcialmente sus márgenes en sentido adaxial.

AGRADECIMIENTOS

Se agradece la lectura y revisión crítica del manuscrito a la Dra. Cristina Rolleri.

Las ilustraciones fueron cuidadosamente entintadas por la Lic. Virginia Dubarbier de Natoli. Técnica Profesional del CONICET.

BIBLIOGRAFIA

CICIARELLI, M. M., 1984. Aplicación del concepto de arquitectura foliar a la sistemática de especies de *Canna* L. (Cannaceae) de la ribera del Plata. *Rev. Mus. La Plata* (en prensa).

HABERLANDT, G., 1914. *Physiological Plant Anatomy*. Macmillan and Co. Ltd. Londres.

JACKSON, G., 1926. Cristal violet and erythrosin in plant anatomy. *Stain. Technology*. 1: 33-34.

JOHANSEN, W. A., 1940. *Plant Michrotechnique*. Nueva York.

LEBLOIS, A., 1887. Recherches sur l'origine et le developement des canaux secreteurs et des poches secretrices. *Ann. Sci. Nat. Bot.* (7) 6: 247-330.

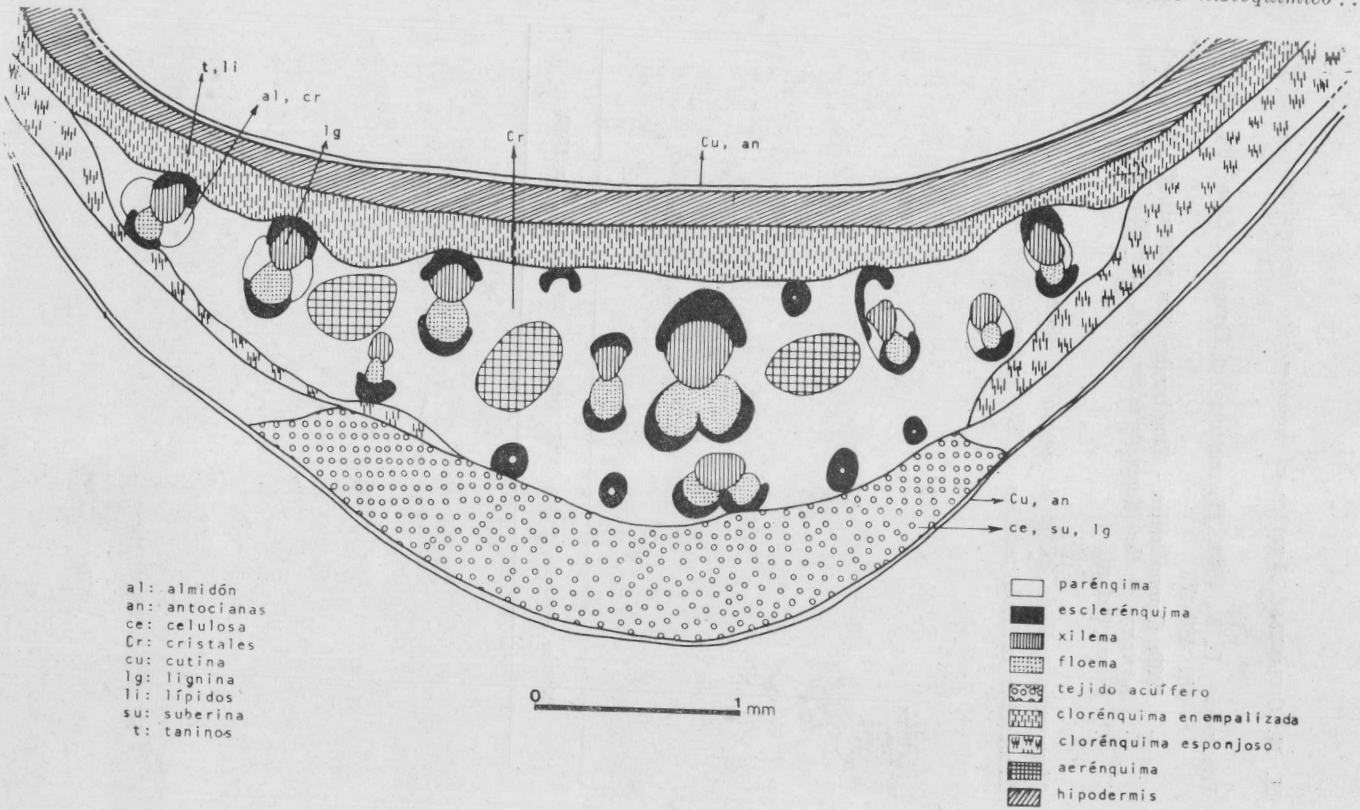
SOLFREDER, H. & MEYER, F. J., 1930. Cannaceae. En *Systematische Anatomie der Monokotiledonen*, Heft VI: 56-62.

TOMLINSON, P. B., 1961. The anatomy of *Canna*. *J. Linn. Soc.* (Bot.) 56: 467-473

— 1969. Commelinales - Zingiberales. En Metcalf, C. R. (Ed.). *Anatomy of the Monocotyledons*, Vol. III: 365-373. Clarendon Press. Oxford.

Manuscrito recibido el 30 de agosto de 1984.

Manuscrito revisado recibido el 13 de noviembre de 1984.



LÁM. 1. — Esquema de un mesófilo tipo, en *Cannaceae*.