

## CAMBIOS ANATOMICOS Y MORFOLOGICOS EN TALLOS DE *LOTUS TENUIS* Y *L. CORNICULATUS* (LEGUMINOSAE) GENERADOS POR EL ANEGAMIENTO

Por OSVALDO R. VIGNOLIO<sup>1</sup> Y OSVALDO N. FERNANDEZ<sup>1</sup>

**Summary** *Anatomical and morphological changes in Lotus tenuis and Lotus corniculatus* (Leguminosae) generated by flooding. *L. tenuis* Waldst. et Kit. ex Willd. and *L. corniculatus* L. plants were cultivated individually in pots and flooded. Underwater stem portions showed hypertrophy in the form of swelling and rupture of the epidermis. *L. tenuis* exhibited a higher development of aerenchyma than *L. corniculatus*, which could explain the differential tolerance to flooding between these two species.

### INTRODUCCION

La capacidad de las plantas de crecer en suelos sujetos a anegamientos periódicos puede ser explicada por el desarrollo de hipertrofia y aerénquima en los tallos, lo cual facilita la difusión de oxígeno hacia las raíces (Kawase & Whitmoyer, 1980; Kozłowski, 1984; Abbott & Gough, 1987; Laan *et al.*, 1989; Crawford, 1992; Rogers & West, 1993).

*Lotus tenuis* Waldst. et Kit. ex Willd. y *L. corniculatus* L. son dos leguminosas forrajeras que se siembran en la Depresión del Salado (Provincia de Buenos Aires), y la primera ha mostrado ser más tolerante al anegamiento en términos de crecimiento y supervivencia que la segunda (Mazzanti *et al.*, 1988; Vignolio *et al.*, 1994). Bajo condiciones de anega-miento, ambas especies presentan hipertrofia en sus tallos, siendo significativamente superior en *L. tenuis* que en *L. corniculatus* (Vignolio *et al.*, 1994). Se plantea la hipótesis de que la presencia de hipertrofia en los tallos se relaciona con el aerénquima, lo cual podría, en parte, explicar la tolerancia diferencial al anegamiento entre las especies.

El objetivo del presente trabajo es estudiar los cambios anatómicos y morfológicos en los tallos de *L. tenuis* y *L. corniculatus* creciendo en condiciones de anegamiento.

### MATERIALES Y METODOS

El trabajo se realizó en el campo experimental de la E.E.A. Balcarce del INTA, Provincia de Buenos Aires. Las plantas utilizadas correspondieron a un experimento donde se evaluaron las respuestas de

*Lotus tenuis* y *L. corniculatus* al anegamiento en términos de crecimiento y supervivencia (Vignolio *et al.*, 1994).

Las semillas de cada especie fueron inoculadas con *Rhizobium loti* y se sembraron por separado en el mes de febrero. El suelo empleado provenía del horizonte A de un Argiudol típico (pH: 6,9; P: 13,13 ppm; C: 2,92% y M.O.: 5,04%).

Se utilizaron 48 plantas en un diseño experimental formado por dos especies (*L. tenuis* y *L. corniculatus*), dos tratamientos (testigo y anegado) y 12 repeticiones para cada combinación de tratamiento. El experimento se realizó en condiciones de campo; las macetas se ubicaron en el exterior siguiendo un arreglo regular, con una separación equidistante de 50 cm. El anegamiento (A) se realizó seis meses después de la siembra y consistió en introducir las macetas en bolsas de plástico transparente, dejando la biomasa aérea expuesta al aire. Las macetas se llenaron con agua, manteniendo un nivel de aproximadamente 3 cm por encima del suelo, de manera de cubrir la corona. El anegamiento se prolongó durante 42 días (28/07/89 - 09/09/89). Las plantas correspondientes al tratamiento testigo (T), fueron ubicadas sobre bandejas de plástico y se regaron periódicamente, procurando que en la bandeja quedara un remanente de agua constante de aproximadamente 5 mm de altura.

Una vez finalizado el anegamiento, del grupo total de plantas se seleccionaron tres por especie y tratamiento. De cada una de ellas se tomaron pequeñas fracciones de tallos próximas a la corona y de igual orden de ramificación. Dichas fracciones se fijaron en una solución compuesta por alcohol (96%, 50 cc), ácido acético (5 cc), formol (40%, 10 cc) y agua destilada (35 cc), se deshidrataron con alcohol terbutílico (Sass, 1958) y fueron incluidas en parafina. Se realizaron cortes transversales de 20 µm de espesor con micrótopo rotatorio tipo Minot.

<sup>1</sup> Grupo de Ecología. Unidad Integrada Balcarce F.C.A. (UNMdP)/EEA-INTA, C.C. 276, 7620 Balcarce, Argentina.

Los cortes se colorearon con azul de toluidina, se montaron en Bálsamo de Canadá y se fotografiaron con un microscopio (Olympus BH2-RFC). Cada uno de los cortes fue dibujado con la ayuda de un tubo de dibujo. Sobre cada dibujo se trazaron de 3 a 4 transectas desde la epidermis hasta el centro del tejido medular. Sobre estas transectas se determinó el espacio ocupado por el tejido de la corteza (ec), el vascular (ev) y el de la médula (em). También se determinó en la corteza el porcentaje de célu-

las sanas, rotas y el espacio aéreo interceptado por la transecta. Se calculó el área de cada corte transversal mediante la ecuación,  $\text{área} = \pi * (\text{ec} + \text{ev} + \text{em})^2$ .

Las diferencias entre tratamientos fueron determinadas mediante análisis de la varianza y t de Student. Se verificó la homogeneidad de varianza mediante la prueba de Barlett (Sokal & Rohlf, 1981). Los datos expresados en porcentajes fueron transformados como  $\text{sen}^{-1} \sqrt{x}$ .

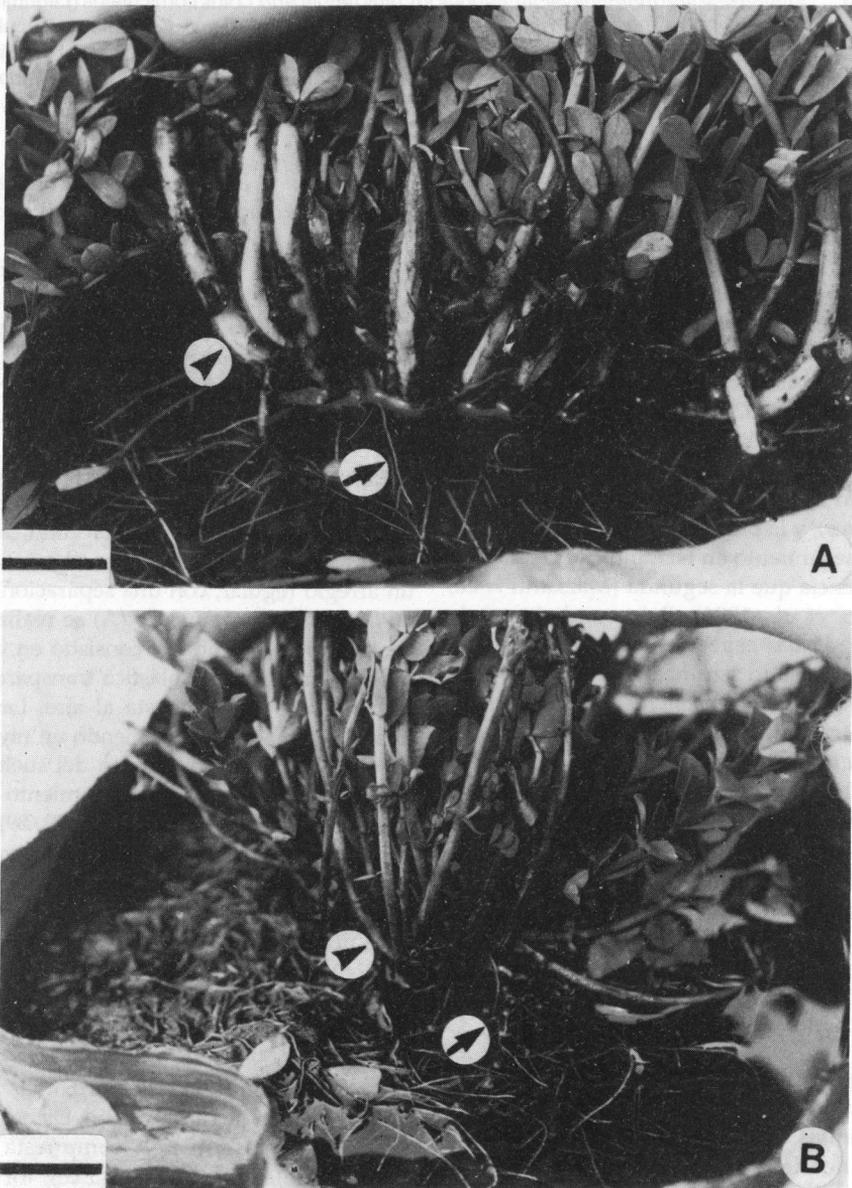


Fig. 1.— A: vista general de los tallos de una planta de *Lotus tenuis* anegada y B: vista general de los tallos de una planta de *Lotus corniculatus* anegada. Las cabezas de flechas señalan los tallos con hipertrofias. Las flechas señalan raíces adventicias con nódulos. Las barras representan 1 cm.

RESULTADOS

La fracción sumergida de los tallos de *L. tenuis* y *L. corniculatus* presentó hipertrofia y aerénquima. La interacción especie - tratamiento para la variable espacio ocupado por los tejidos de la corteza y vascular fue significativa (Tabla 1).

La fracción hipertrofiada de los tallos fue visible a simple vista y consistió en la ruptura de la epidermis, y la consecuente exposición de la corteza de color blanco y aspecto esponjoso (Fig. 1, A y B). La fracción sumergida de los tallos desarrolló raíces

Tabla 1.— Area y espacio ocupado por los distintos tejidos en cortes transversales de tallos de *Lotus tenuis* (L.t.) y *L. corniculatus* (L.c.), después de 42 días de anegamiento. Las letras distintas para cada variable indican diferencias significativas ( $p < 0,05$ ); \*\*, indica interacción significativa especie por tratamiento ( $p < 0,01$ ) y NS interacción no significativa ( $p > 0,05$ ).

Variable	Especie	Testigo	Anegado	Interac.
Area (mm <sup>2</sup> )	L.t.	2,628 b	7,794 a	NS
	L.c.	2,888 b	7,115 a	
Espacio corteza (mm)	L.t.	0,272 c	0,879 a	**
	L.c.	0,159 c	0,457 b	
Espacio vascular (mm)	L.t.	0,242 b	0,279 b	**
	L.c.	0,299 b	0,525 a	
Espacio medular (mm)	L.t.	0,399 a	0,416 a	NS
	L.c.	0,492 a	0,527 a	

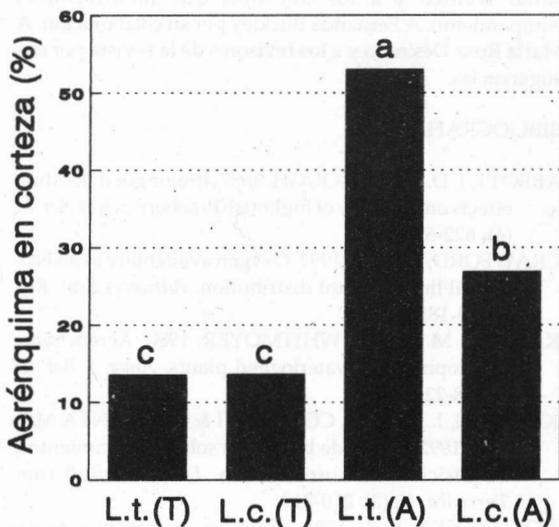


Fig. 2.— Porcentaje de aerénquima en tallos de plantas de *Lotus tenuis* (L.t.) y *L. corniculatus* (L.c.), bajo condiciones de anegamiento (A) y testigo (T). Se observó interacción significativa especie - tratamiento ( $p < 0,05$ ).

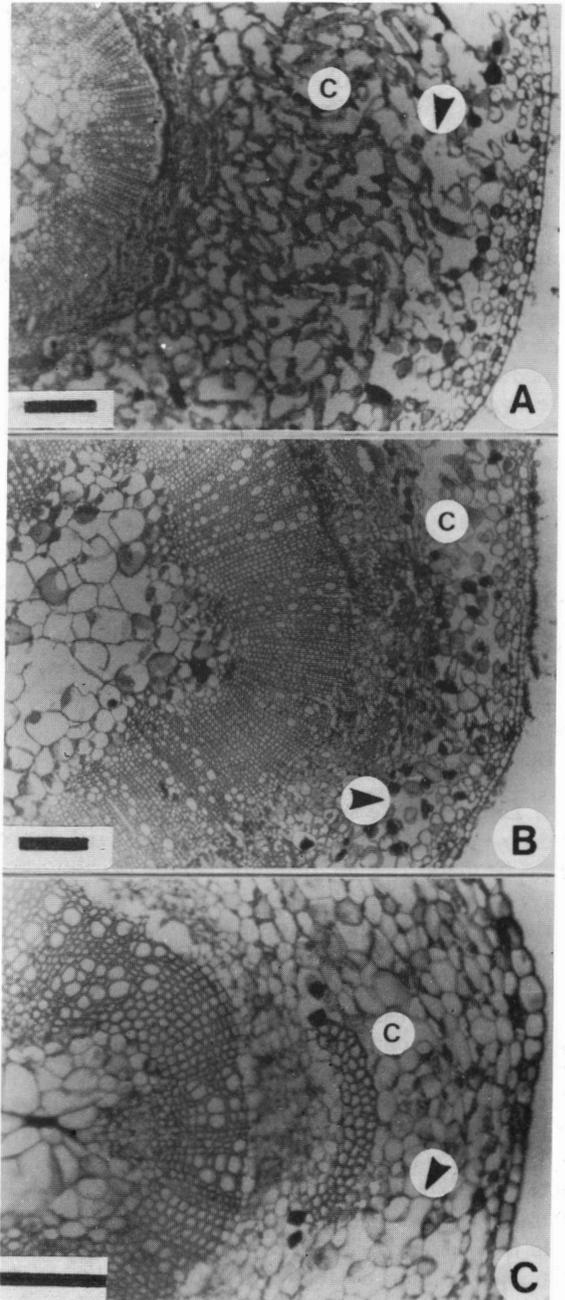


Fig. 3.— A-B: cortes transversales de un tallo bajo condiciones de anegamiento, A: *Lotus tenuis*, B: *Lotus corniculatus*. Las flechas señalan algunos espacios intercelulares. C: Corte transversal de un tallo de *Lotus tenuis* correspondiente al tratamiento testigo. La flecha señala algunos espacios intercelulares. Abreviatura: C, corteza. Las barras representan 200  $\mu$ m.

adventicias con nódulos de color rosado (Fig. 1, A y B).

Las plantas anegadas de ambas especies presentaron tallos con un área transversal mayor que los

respectivos testigos (Tabla 1). El espacio ocupado por la corteza fue superior en las plantas anegadas que en el tratamiento testigo, siendo en *L. tenuis* (A) significativamente mayor que en *L. corniculatus* (A) (Tabla 1). En *L. corniculatus* (A) se observó un incremento en el espacio ocupado por el tejido vascular con respecto al testigo y a *L. tenuis* (T y A). El espacio medular no difirió entre especie y tratamiento (Tabla 1).

El aerénquima formado en la corteza fue significativamente mayor en *L. tenuis* que en *L. corniculatus* (Fig. 2, Fig. 3, A y B). El centro de la médula de los tallos de ambas especies (T y A) tenía células con la pared destruida, dando lugar a la formación de espacios aéreos. El porcentaje de células sanas en la corteza de las plantas anegadas fue significativamente mayor ( $p < 0,05$ ) en *L. corniculatus* (73,1%, ES = 5,1;  $n = 3$ ) que en *L. tenuis* (39,0%, ES = 4,7;  $n = 3$ ), siendo ES el error estándar.

En la corteza de los tallos testigo se observaron espacios intercelulares. Dado que en ambas especies el tipo y distribución de los tejidos son similares, sólo se muestra el corte transversal de un tallo de *L. tenuis* (Fig. 3, C).

#### DISCUSION

La ruptura de la epidermis en los tallos anegados se podría vincular con el incremento del espacio ocupado por los distintos tejidos (Kozlowski, 1984; Larson *et al.*, 1991). En *L. tenuis* (A) se atribuiría al aumento del tejido de la corteza, asociado con un mayor desarrollo del aerénquima; en tanto que en *L. corniculatus* (A), al aumento del tejido vascular y en menor medida al de la corteza. La ruptura de la epidermis y la exposición al exterior de la corteza, junto con el aerénquima, permitirían la difusión de oxígeno desde los tejidos a las raíces (Kozlowski, 1984; Abbott & Gough, 1987; Laan *et al.*, 1989; Thomson *et al.*, 1990; Larson *et al.*, 1991).

Otro aspecto que contribuye a explicar la tolerancia diferencial de las especies al anegamiento es la formación de raíces adventicias. En el presente trabajo, si bien no fueron cuantificadas las raíces adventicias, los antecedentes destacan que las mismas, junto con el aerénquima, guardan relación con la capacidad de la planta para seguir creciendo bajo condiciones de anegamiento (Kramer, 1951; Kozlowski, 1984; Laan *et al.*, 1989; Kleiman *et al.*, 1992; Loreti *et al.*, 1994; Vignolio & Fernández, 1995).

La presencia de hipertrofia y de raíces adventicias en tallos de *L. tenuis*, también ha sido observada por los autores en plantas que crecían en campos bajos anegables de Ayacucho (Prov. de Buenos Aires). Estas respuestas han permitido explicar la distribución de algunas especies que crecen en am-

bientes sujetos a inundaciones. Laan *et al.* (1989), trabajando con seis especies del género *Rumex* y Moog & Janiesch (1990) con tres del género *Carex*, que crecen a lo largo de un gradiente de elevación, señalan que la distribución y tolerancia de las especies al anegamiento se relaciona con el desarrollo de nuevas raíces y aerénquima.

La tolerancia de las plantas al anegamiento no sólo es explicada por cambios anatómicos y morfológicos, sino también por los metabólicos (Kozlowski, 1984; Marschner, 1986). Las plantas menos tolerantes al anegamiento sintetizan compuestos tóxicos tales como el etanol, y sus efectos dependen de la tasa de acumulación y de la tasa con que dicho producto es eliminado (Kozlowski, 1984; Marschner, 1986). En cambio, las plantas tolerantes producen malato y se supone que es menos tóxico que el etanol (Kozlowski, 1984; Marschner, 1986). Estudios en estos aspectos también contribuirían a explicar la tolerancia diferencial de *L. tenuis* y *L. corniculatus* al anegamiento.

Bajo las condiciones del presente trabajo, los tallos de *L. tenuis* exhibieron mayor desarrollo de aerénquima que *L. corniculatus*, lo cual podría explicar la tolerancia diferencial de estas especies al anegamiento y la capacidad de la primera de crecer en los suelos de la Depresión del Salado, sometidos a inundaciones periódicas.

#### AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen a la E.E.A. de Balcarce, INTA y a la Facultad de Ciencias Agrarias (UNMDP) por haber subsidiado el trabajo y facilitado las instalaciones. Al personal técnico y a los docentes que facilitaron el equipamiento. A Fernanda Buckley por su colaboración. A María Rosa Desirello y a los revisores de la revista por sus sugerencias.

#### BIBLIOGRAFIA

- ABBOTT, J. D. & R. E. GOUGH. 1987. Prolonged flooding effects on anatomy of highbush blueberry. *Hort. Sci.* 22 (4): 622-625.
- CRAWFORD, R. M. M. 1992. Oxygen availability as an ecological limit to plant distribution. *Advances Ecol. Res.* 23: 93-185.
- KAWASE, M. & R. E. WHITMOYER. 1980. Aerenchyma development in waterlogged plants. *Amer. J. Bot.* 67 (1): 18-22.
- KLEIMAN, I. D., D. H. COGLIATTI & G. E. SANTA MARIA. 1992. Efecto de la hipoxia sobre el crecimiento y adquisición de nutrientes en *Lolium multiflorum*. *Turrialba* 42 (2): 210-219.
- KOZLOWSKI, T. T. 1984. *Flooding and Plant Growth*. Academic Press, New York. 356 Págs.
- KRAMER, P. J. 1951. Causes of injury to plants resulting from flooding of the soil. *Pl. Physiol.* 26: 722-736.
- LAAN, P., M. J. BERREVOETS, S. LYTHER, W. ARMS-

- TRONG & C. W. P. M. BLOM, 1989. Root morphology and aerenchyma formation as indicators of the flood-tolerance of *Rumex* species. *J. Ecol.* 77: 693-703.
- LARSON, K. D., F. S. DAVIES & B. SCHAFFER. 1991. Floodwater temperature and stem lenticel hypertrophy in *Mangifera indica* (Anacardiaceae). *Amer. J. Bot.* 78 (10): 1397-1403.
- LORETI, J., M. OESTERHELD & R.J.C. LEON. 1994. Efectos de la interacción del pastoreo y la inundación sobre *Paspalum dilatatum*, un pasto nativo de la Pampa Deprimida. *Ecología Austral* 4: 49-58.
- MARSCHNER, H. 1986. *Adaptation of plants to adverse chemical soil conditions*. En: *Mineral Nutrition of Higher Plants*. Marschner, H. (Ed.). Academic Press INC. San Diego. pp 499-509.
- MAZZANTI, A., L. MONTES, D. MIÑON, H. SARLANGUE & C. CHEPPI. 1988. Utilización de *Lotus tenuis* en establecimientos ganaderos de la Pampa Deprimida: Resultados de una encuesta. *Rev. Arg. Prod. Animal* 8 (4): 301-305.
- MOOG, P. R. & P. JANIESCH. 1990. Root growth and morphology of *Carex* species as influenced by oxygen deficiency. *Funct. Ecol.* 4: 201-208.
- ROGERS, M.E. & D.W. WEST. 1993. The effects of rootzone salinity and hypoxia on shoot and root growth in *Trifolium* species. *Ann. Bot.* (Oxford) 72: 503-509.
- SASS, J. E. 1958. *Botanical Microtechnique*. (3 rd.). IOWA State University. Press: Ames, IOWA.
- SOKAL, R. R. & ROHLF, F. J. 1981. *Biometry*. Second Edition. W.H. Freeman and Company San Francisco. 859 págs.
- THOMSON, C. J., W. ARMSTRONG, I. WATERS & H. GREENWAY. 1990. Aerenchyma formation and associated oxygen movement in seminal and nodal roots of wheat. *Pl. Cell Environim.* 13: 395-403.
- VIGNOLIO, O.R., N. O. MACEIRA & O. N. FERNANDEZ. 1994. Efectos del anegamiento en invierno y verano sobre el crecimiento y la supervivencia de *Lotus tenuis* y *Lotus corniculatus*. *Ecología Austral* 4: 19-28.
- VIGNOLIO, O.R. & O.N. FERNANDEZ. 1995. Respuestas al anegamiento en plántulas de distintas poblaciones de *Lotus tenuis*. XVII Reunión Argentina de Ecología. Mar del Plata, 24 al 28 de abril. Pp. 111.