

UNIVERSIDAD DE CHILE
FACULTAD DE CIENCIAS FORESTALES
ESCUELA DE CIENCIAS FORESTALES
DEPARTAMENTO DE SILVICULTURA

CARACTERIZACIÓN Y COMPARACIÓN ANATÓMICA DE HOJAS DE PEUMO
(Cryptocarya alba (Mol.) Looser) Y QUILLAY (Quillaja saponaria Mol.) **SOMETIDAS**
A CONDICIONES DE RIEGO PERMANENTE Y DE RESTRICCIÓN HÍDRICA

Memoria para optar al Título
Profesional de Ingeniero Forestal

BÁRBARA FRANCISCA GOTOR PEDREROS

Profesores Guía: Dr. Ing. Forestal, Sergio Donoso Calderón
Dra. Ing. Forestal, Karen Peña Rojas

SANTIAGO – CHILE
2008

UNIVERSIDAD DE CHILE
FACULTAD DE CIENCIAS FORESTALES
ESCUELA DE CIENCIAS FORESTALES
DEPARTAMENTO DE SILVICULTURA

CARACTERIZACIÓN Y COMPARACIÓN ANATÓMICA DE HOJAS DE PEUMO
(Cryptocarya alba (Mol.) Looser) Y QUILLAY (Quillaja saponaria Mol.) SOMETIDAS
A CONDICIONES DE RIEGO PERMANENTE Y DE RESTRICCIÓN HÍDRICA

Memoria para optar al Título
Profesional de Ingeniero Forestal

BÁRBARA FRANCISCA GOTOR PEDREROS

Calificaciones:

Profesor Guía	: Sr. Sergio Donoso C.	7,0	_____
Profesor Guía	: Srta. Karen Peña R.	7,0	_____
Profesor Consejero	: Sra. Adelina Manríquez L.	7,0	_____
Profesor Consejero	: Sra. María Teresa Serra V.	6,5	_____

SANTIAGO – CHILE
2008

AGRADECIMIENTOS

Quiero agradecer en forma general a todos quienes participaron y contribuyeron de alguna forma al desarrollo de este trabajo.

En particular, a los profesores que guiaron esta memoria, Sergio Donoso y Karen Peña, por sus consejos, tiempo y dedicación, y a las profesoras Adelina Manríquez y María Teresa Serra, por todo el apoyo y sus valiosos consejos.

A los amigos de tantos años y muchos más, Ivanka, Tatiana, Sandra, Gustavo, Sergio, Felix y Nicolás, en especial a Aldo y Gabriela, que brindaron parte de su trabajo para que pudiera realizar el mío.

A mi gran familia, por su constante preocupación. A mis padres Eduardo y Carmen, por creer en mi y darme la posibilidad de tomar mi camino. En especial a mi mamá, por los años de sacrificios y esfuerzos, y a mis queridos hermanos Carmen Luz, Eduardo y Claudia, por toda su ayuda y apoyo.

A la familia Toledo Araneda, por recibirme en su hogar y hacerme sentir parte de él.

Finalmente, quiero agradecer en forma especial a Luis, por acompañarme en cada paso de este largo camino, y por los sueños, que prometen un futuro juntos, y por lo tanto, mejor.

RESUMEN

Peumo (*Cryptocarya alba* (Mol.) Looser) y quillay (*Quillaja saponaria* Mol.), son especies arbóreas nativas, que crecen en el área mediterránea de Chile, que se caracteriza por presentar veranos secos y calurosos. Por lo tanto las plantas están sometidas a restricción hídrica regularmente.

Conocer las modificaciones anatómicas en estas especies como respuesta a la restricción hídrica, permitirá complementar estudios fisiológicos, cuyo fin es ayudar a comprender el efecto que tiene el ambiente sobre su desarrollo y productividad.

El objetivo de este trabajo fue identificar algunas modificaciones anatómicas que se producen en las hojas completamente desarrolladas, de plantas jóvenes de peumo y quillay, causadas por la restricción hídrica.

Se utilizaron hojas de diez plantas por especie, cinco sometidas a restricción hídrica y cinco bien regadas. En quillay, se colectaron diez hojas de cada planta, cinco hojas jóvenes (menor a un año) y cinco adultas (mayor a un año). Para peumo sólo se colectaron cinco hojas adultas de cada planta, puesto que las plantas sometidas a restricción hídrica no presentaron hojas juveniles. Las hojas fueron fijadas en F.A.A. (formaldehído, ácido acético glacial y alcohol etílico), incluidas en parafina, cortadas con micrótopo de rotación y teñidas con Safranina y Fast-green. Se obtuvieron microfotografías y se hicieron descripciones y mediciones utilizando el programa UTHSCSA image-tool.

A partir de observaciones microscópicas se midió el espesor de hoja y de cutícula, y la densidad celular de los tejidos parenquimáticos (empalizada y esponjoso), que forman parte del mesófilo.

En plantas de peumo desarrolladas bajo restricción hídrica, todos los parámetros estudiados sufrieron variaciones significativas. Aumentó el espesor de cutícula (16,8%), disminuyó el espesor de hoja (2,7%), y disminuyó la densidad celular del parénquima de empalizada (4,16%) y esponjoso (7,35%).

Las hojas jóvenes de quillay presentaron diferencias significativas en todas las variables estudiadas. En las hojas de plantas sometidas a restricción hídrica se observó un aumento del espesor de cutícula (12,7%) y de la hoja (37,87%), y una disminución

de la densidad de los parénquimas de empalizada y esponjoso (30,19% y 15,32%). Mientras que en las hojas adultas, sólo se observó una disminución (4,1%) significativa en el espesor de las hojas, sometidas a restricción hídrica.

PALABRAS CLAVES

Cryptocarya alba, *Quillaja saponaria*, restricción hídrica, anatomía foliar, bosque mediterráneo.

SUMARY

Peumo (*Cryptocarya alba* (Mol.) Looser) and Quillay (*Quillaja saponaria* Mol) are native trees that growth in the mediterranean area of Chile wich characterized by dry and warm summers. Therefore, plants are developed usually under water restriction.

Knowledge of morphoanatomics modifications in these species as a response to the water restriction, will allow to complement physiological studies. Elsewhere, could understanding the effect of the environment in their development and productivity.

The goal of the study was to identify morphoanatomic variations in completely developed leaves of peumo and quillay seedlings, caused by water restriction.

A total of ten seedlings per species were developed, five under water restricted and five under well-watered conditions. Ten quillay leaves were collected from each plant, five young (less one year growth) and five adults (more than one year). In Peumo only were collected five adult leaves from each plant, because the plants under restricted irrigation, did not developed young leaves. The leaves were fixed to F.A.A. (formaldehyde, glacial acetic acid and ethylic alcohol), including in paraffin, cut with rotation microtome and dyed with Safranina and Fast-Green. Microphotographies were obtaines and using program UTHSCSA image-tool descriptions and measurements were realized.

Was measured from microscopic observations thickness of the leaf and cuticle, and cell density of the parenchymatics tissues (palisade and spongy), that are a part of the mesophyll.

In peumo plants developed under water restriction, all parameters showed significant variations. The thickness of the cuticle increased (16.8%), thickness of leaves decreased (2.7%), and also decreased the cell density of the parenchyma of palisade (4.16%) and spongy (7.35%).

Quillay young leaves showed significative differences in all the variables studied. Leaves developed under water restriction increase in the thickness of cuticle (12.7%) and leaf (37.87%), and decrease the parenchyma density of palisade and spongy (30.19% and 15.32%) with respect to plants well-watered. In the other hand adult leaves under water restriction, only showed a significative decrease (4.1%) in thickness of the leaves.

KEYWORDS

Cryptocarya alba, *Quillaja saponaria*, water restriction, leaf anatomy, mediterranean forest.

INDICE

1	Introducción	1
2	Revisión Bibliográfica	3
2.1	Antecedentes de <i>Cryptocarya alba</i> (Mol.) Looser, (Lauraceae).....	3
2.1.1	Distribución y ecología.....	3
2.1.2	Descripción botánica.....	3
2.1.3	Anatomía de la hoja	4
2.2	Antecedentes de <i>Quillaja saponaria</i> Mol. (Rosaceae).....	5
2.2.1	Distribución y ecología.....	5
2.2.2	Descripción botánica.....	6
2.2.3	Anatomía de la hoja	6
2.3	Efectos de la restricción hídrica en las características anatómicas de las hojas. 7	
3	Material y Método	11
3.1	Material	11
3.1.1	Ensayo de restricción hídrica.....	11
3.2	Método.....	12
3.2.1	Colecta del material	12
3.2.2	Protocolo de preparación del material foliar	12
3.2.3	Observaciones y mediciones anatómicas.....	14
3.2.4	Análisis de resultados	15
4	Resultados y Discusión	17
4.1	Descripción anatómica	17
4.1.1	Peumo.....	17
4.1.2	Quillay	20
4.2	Mediciones anatómicas	26
4.2.1	Espesor de cutícula	26
4.2.2	Espesor de hoja	29
4.2.3	Densidad del tejido parenquimático.....	32
5	Comentarios Finales.....	36
6	Conclusiones	37
7	Bibliografía.....	38
8	Apéndices.....	40

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Esquema de obtención de muestras y del corte transversal de la hoja	12
Figura 2. Esquema de las mediciones realizadas	12
Figura 3. Corte transversal de la hoja de peumo mantenida bajo riego permanente.....	18
Figura 4. Corte transversal de hoja de peumo sometida a restricción hídrica controlada. 18	
Figura 5. Estoma visto en corte transversal de hoja adulta de peumo sometida a restricción hídrica controlada.	19
Figura 6. Cristal drusa de oxalato de calcio visto en corte transversal de hoja adulta de peumo sometida restricción hídrica controlada.	19
Figura 7. Corte transversal de hoja juvenil de quillay mantenida bajo riego permanente. 21	
Figura 8. Corte transversal de hoja juvenil de quillay sometida a restricción hídrica controlada.....	21
Figura 9. Estomas vistos en corte transversal de hoja juvenil de quillay mantenida bajo riego permanente.	22
Figura 10. Cristal drusa de oxalato de calcio visto en corte transversal de hoja juvenil de quillay sometida a restricción hídrica controlada.....	22
Figura 11. Corte transversal de hoja adulta de quillay mantenida bajo riego permanente	24
Figura 12. Corte transversal de hoja adulta de quillay sometida a restricción hídrica controlada.....	24
Figura 13. Estomas vistos en corte transversal de hoja adulta de quillay mantenida bajo riego permanente	25
Figura 14. Cristal drusa de oxalato de calcio visto en corte transversal de hoja adulta de quillay sometida a restricción hídrica controlada.....	25
Figura 15. Tricomos vistos en corte transversal de hoja adulta de quillay mantenida bajo riego permanente.	25
Figura 16. Valor promedio (\pm Error estándar), del espesor de cutícula de la hoja de plantas de peumo y quillay sometidas a restricción hídrica controlada y mantenidas bajo riego permanente.	27
Figura 17. Cutícula en corte transversal de hoja de peumo. (A) mantenida bajo riego permanente y (B) sometida a restricción hídrica;	28
Figura 18. Cutícula en corte transversal de hoja juvenil de quillay. (A) mantenida bajo riego permanente y (B) sometida a restricción hídrica;	28
Figura 19. Cutícula en corte transversal de hoja adulta de quillay. (A) mantenida bajo riego permanente y (B) sometida a restricción hídrica.	28
Figura 20. Valor promedio (\pm EE), del espesor de hoja de plantas de peumo y quillay sometidas a restricción hídrica y mantenidas bajo riego permanente.....	30
Figura 21. Corte transversal de hoja de peumo. (A) mantenida bajo riego permanente y (B) sometida a restricción hídrica.....	31
Figura 22. Corte transversal de hoja juvenil de quillay. (A) mantenida bajo riego permanente y (B) sometida a restricción hídrica.	31
Figura 23. Corte transversal de hoja adulta de quillay. (A) mantenida bajo riego permanente y (B) sometida a restricción hídrica.....	31
Figura 24. Valor promedio (\pm EE), de la densidad celular del parénquima de empalizada de las hojas sometidas a restricción hídrica y mantenidas bajo riego permanente.	33

Figura 25. Valor promedio (\pm EE), de la densidad celular del parénquima esponjoso de las hojas sometidas a restricción hídrica y mantenidas bajo riego permanente.	33
Figura 26. Parénquima de empalizada en corte transversal de hoja de peumo. (A) mantenida bajo riego permanente y (B) sometida a restricción hídrica	34
Figura 27. Parénquima de empalizada en corte transversal de hoja juvenil de quillay. (A) mantenida bajo riego permanente y (B) sometida a restricción hídrica.	34
Figura 28. Parénquima de empalizada en corte transversal de hoja adulta de quillay. (A) mantenida bajo riego permanente y (B) sometida a restricción hídrica.	34
Figura 29. Parénquima esponjoso en corte transversal de hoja de peumo. (A) mantenida bajo riego permanente y (B) sometida a restricción hídrica.	35
Figura 30. Parénquima esponjoso en corte transversal de hoja juvenil de quillay. (A) mantenida bajo riego permanente y (B) sometida a restricción hídrica.	35
Figura 31. Parénquima esponjoso en corte transversal de hoja adulta de quillay. (A) mantenida bajo riego permanente y (B) sometida a restricción hídrica	35

ÍNDICE DE APÉNDICES

Apéndice N°1: Análisis de varianza de las mediciones de hojas de peumo	41
Apéndice N°2: Análisis de varianza de las mediciones de hojas juveniles de quillay.....	42
Apéndice N°3: Análisis de varianza de las mediciones de hojas adultas de quillay	43

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro N°1: Características anatómicas de hojas de peumo (Alfaro y Sierra, 1973).....	4
Cuadro N°2: Características anatómicas de hojas de peumo de acuerdo a su nivel de exposición solar (Hurtado, 1969)	5
Cuadro N°3: Características anatómicas de hojas de quillay (Botti, 1976)	6
Cuadro N°4: Características anatómicas de hojas de quillay (Alfaro y Sierra, 1973).....	7
Cuadro N°5: Etapas de la deshidratación del material foliar	13
Cuadro N°6: Etapas de la tinción del material foliar	14
Cuadro N°7: Distribución de unidades muestrales de acuerdo a especie, tipo de hoja y tratamiento	16

1 INTRODUCCIÓN

Peumo (*Cryptocarya alba* (Mol.) Looser) y quillay (*Quillaja saponaria* Mol.), son especies arbóreas siempreverdes nativas, que pertenecen al bosque esclerófilo, el cual corresponde a una formación vegetal característica de la zona central de Chile, que presenta un clima mediterráneo.

La vegetación de los ecosistemas mediterráneos presenta una serie de particularidades que les permite adaptarse a las condiciones climáticas imperantes, donde el agua, unida a la elevada radiación solar y a la temperatura, se convierte en el principal factor limitante para las especies.

Las hojas son los órganos sensoriales por excelencia de los vegetales, a través de ella las plantas están en contacto directo con el entorno, son muy susceptibles a los cambios que se producen en el ambiente y tienen la capacidad de controlar y regular sus procesos metabólicos y de biosíntesis. Se cree que las hojas de las plantas, reflejan en su estructura las condiciones ambientales específicas en las que se desarrollan.

Variados son los estudios realizados con el fin de establecer las modificaciones, tanto anatómicas como estructurales, que presentan las especies vegetales frente a condiciones de restricción hídrica, observándose, en las hojas, variaciones a nivel del mesófilo, epidermis, cutícula, entre otras.

El conocimiento de las modificaciones o cambios anatómicos que se producen en las hojas de plantas jóvenes de peumo y quillay, cuando son sometidas a condiciones de restricción hídrica controlada, permitirá complementar estudios de carácter fisiológico que pretenden comprender el efecto de la falta de agua en el desarrollo y productividad de estas especies, así como también mejorar y desarrollar nuevas técnicas, tanto para la producción de plantas como para su manejo.

Este trabajo tuvo como objetivo general, caracterizar y comparar anatómicamente hojas de *Cryptocarya alba* y *Quillaja saponaria*, de plantas juveniles, sometidas a condiciones de riego permanente y restricción hídrica.

Los objetivos específicos planteados fueron: a) caracterizar la anatomía de hojas adultas de individuos juveniles de *Cryptocarya alba*, sometidos a condiciones de riego

permanente y de restricción hídrica controlada y b) caracterizar y comparar las características anatómicas de hojas jóvenes y adultas de individuos juveniles de *Quillaja saponaria*, sometidos a condiciones de riego permanente y de restricción hídrica controlada.

2 REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

2.1 Antecedentes de *Cryptocarya alba* (Mol.) Looser, (Lauraceae).

2.1.1 Distribución y ecología

Peumo, es una especie endémica de Chile, que crece desde el sur de la provincia de Limarí (IV Región), hasta la de Cautín (IX Región), especialmente en las Cordilleras de la Costa y de los Andes. Normalmente crece hasta una altitud de 1.000 msnm (Rodríguez *et al.*, 1983). Se encuentra distribuida principalmente en tres climas: mediterráneo marino, mediterráneo frío y mediterráneo temperado. En cuanto a las temperaturas en que se desarrolla, la mínima está entre los -3,2° y 9,4°C y la máxima entre los 16,5° y 31,3°C. La temperatura media es de 13°C y las precipitaciones a lo largo de toda la distribución están en un rango de 104,4 a 2.555,2 mm anuales (Del Fierro *et al.*, 1998).

Se desarrolla preferentemente en quebradas, y en valles húmedos y sombríos; en casos excepcionales se le encuentra en terrenos expuestos a una fuerte insolación, pero con cierto grado de humedad (Rodríguez *et al.*, 1983).

Martínez y Armesto (1983), citados por Del Fierro *et al.*, (1998), señalan que peumo es una especie que tolera la sombra, y sus tasas fotosintéticas se encuentran muy relacionadas con la disponibilidad de agua en el suelo, por lo que en la estación seca, disminuye drásticamente su crecimiento.

2.1.2 Descripción botánica

Corresponde a un árbol siempreverde que puede alcanzar entre 15 y 20 metros de altura. Su tronco es recto o ligeramente tortuoso, de hasta 1 m de diámetro. Ramas ascendentes; follaje denso. Hojas simples, alternas subopuestas u opuestas, coriáceas y aromáticas, de cara superior verde y la inferior verde-azulada; margen entero, ondulado. Sus flores son hermafroditas y se disponen en inflorescencias racimosas y axilares. Su fruto, de dispersión zoocora, es una drupa ovalada, carnosas, lisa, roja a rosada en la madurez (Rodríguez *et al.*, 1983).

2.1.3 Anatomía de la hoja

Montenegro (1984), señala que en el corte transversal de la hoja se observan cavidades oleíferas, entre las células parenquimáticas del mesófilo. Además, Alfaro y Sierra (1973), señalan que peumo presenta cutícula gruesa, estomas sólo en la cara abaxial (hipostomática), mesófilo dorsiventral y gran área foliar, (Cuadro 1).

Cuadro 1. Características anatómicas de hojas de peumo (Alfaro y Sierra, 1973).

Estructura Anatómica	Valor Promedio
Superficie foliar (cm ²)	9,7
Espesor de cutícula adaxial (µm)	4,8
Espesor de cutícula abaxial (µm)	1,5
Estomas (N°/mm ²)	650

Según Hurtado (1969), en la sección transversal de las hojas se puede observar que:

La epidermis adaxial está constituida por células muy pequeñas, de forma más o menos rectangular y de paredes externas engrosadas y altamente cutinizadas.

Bajo la epidermis se observa una hipodermis formada por dos capas de células. Estas células hipodérmicas, algo mayores que las epidérmicas, se hallan en contacto directo con las células del parénquima de empalizada.

El mesófilo es del tipo dorsiventral, y en él es posible distinguir numerosas glándulas secretoras de contorno circular y células con cristales de oxalato de calcio, en forma de drusas. El parénquima en empalizada, se encuentra dispuesto en forma discontinua entre las bandas del tejido de sostén y está constituido por 1 - 4 corridas de células alargadas transversalmente y con abundante clorofila. El parénquima esponjoso contiene grandes espacios intercelulares.

La epidermis abaxial está formada por células epidérmicas pequeñas, más o menos rectangulares y de paredes externas cutinizadas; en ella se ubican los estomas. En contacto con ella se nota una segunda capa de células esclerenquimatosas la cual se une al mesófilo de la hoja. Posee numerosos estomas, dispersos, de forma elíptica situados al mismo nivel que la epidermis

Las columnas de células esclerenquimatosas (tejido de sostén), son muy características. y se distribuyen a través de todo el mesófilo constituyendo así, tabiques que subdividen a

todo el limbo foliar en compartimentos donde se alojan los elementos celulares que forman el mesófilo.

De acuerdo al tipo de hoja, (luz o sombra), se puede observar diferencias en los distintos componentes anatómicos (Cuadro 2).

Cuadro 2. Características anatómicas de hojas de peumo de acuerdo a su nivel de exposición solar (Hurtado, 1969).

Estructura Anatómica	Valor Promedio	
	Hojas de Luz	Hojas de Sombra
Superficie foliar (cm ²)	9,68	8,68
Espesor corte transversal hoja (µm)	321,66	216,78
Espesor epidermis adaxial (µm)	21,00	15,19
Espesor epidermis abaxial (µm)	13,53	7,98
Espesor de cutícula epidermis adaxial (µm)	4,81	2,70
Espesor de cutícula epidermis abaxial (µm)	1,52	1,10
Estomas N°/mm ²	692	614

2.2 Antecedentes de *Quillaja saponaria* Mol. (Rosaceae).

2.2.1 Distribución y ecología

Especie endémica de Chile, se encuentra desde la provincia de Limarí (IV Región), hasta la de Bío-bío (VIII Región); en la zona litoral, central y andina desde los 15 a 1.600 msnm (Rodríguez *et al.*, 1983). Los principales climas en que está presente son mediterráneo marino, mediterráneo frío, mediterráneo subtropical semiárido y mediterráneo temperado. Las temperaturas, en las cuales se desarrolla, varían entre los -3,2°C a 9,4°C para la mínima y entre los 16,5°C y 31,3°C para la máxima. La temperatura media es de 14 °C y las precipitaciones varían entre los 104,4 y 1330 mm anuales (Del Fierro *et al.*, 1998).

Es un árbol adaptado a climas secos y cálidos, pero también se le encuentra en sitios más frescos y húmedos e incluso soporta nieve y heladas. En el valle central crece en lugares soleados y en los faldeos de los cerros más o menos secos y con escasa vegetación (Rodríguez *et al.*, 1983).

Vita (1993), señala que quillay soporta bien los asoleamientos fuertes cuando se encuentra en condiciones topográficas favorables, como son quebradas o bajos de ladera,

donde se cuenta con mayor humedad. Por las condiciones normales de desarrollo, quillay puede ser calificada como especie intolerante (Pérez, 1983).

2.2.2 Descripción botánica

Árbol siempreverde, polígamo-monoico o hermafrodita de hasta 15 m de altura. Tronco de hasta 1m de diámetro. Sus ramillas son pubescentes. De hojas simples, alternas, coriáceas, elípticas, glabras, lustrosas de color verde-amarillento, de margen entero o ligeramente denticulado. Sus flores son blanquecinas y aplanadas, dispuestas en pequeños corimbos terminales o bien, solitarias o sobre pedúnculos axilares con 3 a 5 flores. Su fruto es un polifolículo de 5 folículos bivalvos (Rodríguez *et al.*, 1983), y posee numerosas semillas de 1,3 cm de largo y 5 a 6 mm de diámetro, las que son aladas y dispersadas por el viento (Castillo *et al.*, 2002)

2.2.3 Anatomía de la hoja

Montenegro (1984), señala que en el corte transversal de la hoja se observan células parenquimáticas que constituyen un mesófilo de gran densidad, sin clara diferenciación entre un parénquima en empalizada y un parénquima esponjoso.

De acuerdo a Botti (1976), y Alfaro y Sierra (1973), quillay pertenece a un tipo anatómico que se caracteriza por presentar doble epidermis, que en el corte transversal presenta forma rectangular cuboidal, cutícula y pared celular epidermal gruesa, estomas a nivel y sólo en la cara abaxial, parénquima de empalizada y esponjoso con densidad media bien diferenciados, gran cantidad de tejido esclerenquimático rodeando al tejido vascular (especialmente el nervio medio), tejido vascular bien desarrollado (especialmente el xilema), resina en células del mesófilo y epidermis, y forma plana (Cuadros 3 y 4).

Cuadro 3. Características anatómicas de hojas de Quillay (Botti, 1976).

Estructura Anatómica	Valor promedio
Espesor corte transversal hoja (μm)	700
Tamaño de células epidermis adaxial (μm)	30
Tamaño de células epidermis abaxial (μm)	20
Nº corridas parénquima empalizada	1
Tamaño de células parénquima empalizada (μm)	100
Nº corridas parénquima esponjoso	6-7
Relación P. Empalizada : P. Esponjoso	1 : 2

Cuadro 4. Características anatómicas de hojas de quillay (Alfaro y Sierra, 1973).

Estructura Anatómica	Valor Promedio
Superficie foliar (cm^2)	6,5
Espesor de cutícula adaxial (μm)	0,5
Espesor de cutícula abaxial (μm)	0,25

2.3 Efectos de la restricción hídrica en las características anatómicas de las hojas.

De acuerdo a Hill *et al.*, (1964), la estructura de la hoja influye sobre la intensidad de la transpiración. En las plantas expuestas a condiciones que determinan una transpiración excesiva, se desarrolla frecuentemente una doble capa de células epidérmicas, una o más capas de células hipodérmicas, o bien una cutícula más gruesa, especialmente sobre la cara superior de la hoja. Las plantas perennifolias presentan por lo general hojas muy cutinizadas. La cantidad de espacios aéreos en la hoja y el grado de compactación del mesófilo son también importantes rasgos estructurales. En general, cuanto más suelta es la estructura de la hoja, más fácilmente pierde agua debido a una mayor superficie de transpiración. Las hojas xerofíticas generalmente poseen un mesófilo muy compacto.

De acuerdo a Noton (1976), el restricción hídrica en *Quillaja saponaria*, modifica la anatomía, morfología y fisiología de las plantas, con reducción general del su tamaño y de la superficie de las hojas; aumenta la cutinización, la pilosidad, la densidad de la nervadura, el espesor del tejido de empalizada y de las hojas enteras; disminuye y afecta la apertura y cierre de los estomas, reduce la fotosíntesis y la superficie sintetizadora, también disminuye la expansión de hojas y flores y los movimientos de la planta.

Se ha determinado en *Opuntia spp.* (Cactáceae), que la transpiración cuticular disminuye, cuando la cutícula aumenta en grosor y que además contribuye al balance energético de la planta debido a una reducción de la radiación neta y a un aumento de la reflectancia (Silva *et al.*, 2001).

Colmenares-Arteaga *et al.*, (2005), estudiaron la anatomía foliar de *Polylepis sericea* (Rosaceae), a dos altitudes contrastantes en Venezuela, con el fin de dar a conocer la estructura y determinar la existencia de caracteres disímiles dados por las diferencias altitudinales y/o por la estacionalidad hídrica, encontrando, a partir de este último, que en la estación seca respecto a la húmeda, se producen diferencias tales como engrosamiento cuticular, diferencias en la densidad estomática y el aumento en el espesor de la hoja, el cual se debe al pronunciado incremento del parénquima de empalizada mas que del esponjoso.

En un estudio realizado por Kofidis *et al.*, (2004), en *Persea americana* Mill. (Lauraceae), variedades “Hass” y “Fuerte”, se pudo observar que el estrés por sequía produce el aumento de la densidad de las células epidermales y de las células clorenquimáticas del mesófilo, junto con una disminución de sus tamaños. Aumenta el volumen de los espacios intercelulares del mesófilo y las células aceitosas se vuelven más numerosas, siendo estos rasgos más prominentes en la variedad “Hass”, lo que favorece la sugerencia de que ésta responde mejor frente a condiciones de restricción hídrica. Comparaciones de cortes consecutivos de la epidermis foliar, de “Hass”, mostraron que el estrés por sequía produce un aumento de la densidad celular en todos los componentes histológicos. Los estomas en la cara inferior de la hoja aumentan ligeramente su densidad y la cara superior se encuentra desprovista de ellos. En el caso de “Fuerte”, también se produce un aumento de la densidad de las células del mesófilo que, sin embargo, no es tan prominente como en “Hass”. Las células de la epidermis, en cambio, sufren una reducción ligera en su densidad.

Mediavilla *et al.*, (2001), determinaron a partir de un estudio realizado en cuatro especies leñosas de hoja caduca (*Quercus faginea* Lam., *Q. pyrenaica* Willd., *Pyrus bourgaeana* Decae. y *Crataegus monogyna* Jacq.) y dos de hoja perenne (*Q. rotundifolia* Lam. y *Q. suber* L.), que dentro de las especies, las hojas gruesas tienden a tener menor densidad de tejidos. En comparaciones intraespecíficas, se determinó que el aumento del volumen interno de aire en la hoja tiene efectos positivos en la eficiencia del uso del agua (WUE) y

que la anatomía interna de la hoja es un factor clave en la regulación de la eficiencia del uso de los recursos hídricos y gaseosos.

Chartzoulakis *et al.*, (2000), determinaron a partir del estudio del estrés hídrico en *Olea europaea* (Oleaceae), que, la densidad celular del mesófilo de la hoja aumenta en las plantas estresadas con respecto a las plantas bien regadas.

Por otra parte, los resultados obtenidos por Maia *et al.*, (1999), en un estudio realizado para determinar el efecto del estrés hídrico en la anatomía de la hoja y el tallo de rebrotes de *Eucalyptus camaldulensis* (Myrtaceae), provenientes de diferentes zonas climáticas, las alteraciones más típicas observadas en la hoja en respuesta al déficit de agua fueron:

- Las células epidérmicas tienden a desintegrarse con potenciales osmótico muy negativos.
- Menor diferenciación entre el mesófilo de empalizada y el esponjoso.
- En los potenciales osmóticos extremos tiende a desaparecer la formación de espacios intercelulares en el clorénquima observado en potenciales osmóticos intermedios.
- La desorganización del haz vascular con mayor compactación y espesor de la pared de los vasos y menor distinción entre el xilema y floema.

En forma particular, en los rebrotes de eucalyptus provenientes de la zona semiárida se pudo observar que a medida que disminuye el potencial osmótico el mesófilo se vuelve más denso, sin poder distinguir entre el mesófilo de empalizada y esponjoso, la epidermis adaxial también aumenta su densidad, las células epidérmicas se vuelven redondas con paredes delgadas y muestran señales de desintegración y el clorénquima es casi homogéneo, sin espacios intercelulares (Maia *et al.*, 1999).

Hernández *et al.*, (1990), estudiaron la influencia del régimen de humedad en el suelo sobre la morfología foliar de *Rottboellia exaltata* (Gramíneae), y encontraron que conforme se acentuó la restricción hídrica la longitud, el ancho y el espesor de la lámina foliar disminuyeron. Pudieron también determinar que, con los regímenes de agotamiento más severos, los elementos traqueales del haz vascular aumentaron el espesor de la pared secundaria, el mesófilo se desorganizó y hubo una reducción en el número y

tamaño de los cloroplastos, observándose que la mayor sensibilidad a la restricción hídrica la presenta el mesófilo.

Schratz's (1931), citado por Levitt (1980), determinó que las hojas de *Covillea tridentata*, (Zygophyllaceae), arbusto xerófito, sometidas a restricción hídrica, disminuyen el espesor, superficie y volumen foliar.

Por su parte, Cutler *et al.*, (1977), concluyó que en plantas de algodón (Malvaceae), sometidas a estrés hídrico el tamaño de las células es menor que en plantas no estresadas y el espesor de la pared celular es mayor. También indica que células más pequeñas mantienen el turgor a bajos valores de potencial hídrico. Finalmente, el autor sugiere que el menor tamaño celular puede contribuir a la resistencia de las plantas al estrés hídrico.

3 MATERIAL Y MÉTODO

3.1 Material

Para el desarrollo de esta memoria se utilizaron hojas de plantas de *Cryptocarya alba* y *Quillaja saponaria*, de dos años, que se obtuvieron de un ensayo de restricción hídrica controlada, realizado bajo condiciones climáticas naturales en la Región Metropolitana, en las dependencias del Vivero Antumapu de la Facultad de Ciencias Forestales de la Universidad de Chile.

3.1.1 Ensayo de restricción hídrica

Se seleccionaron para cada especie, 40 individuos procedentes de semilla, cultivados en el Vivero Antumapu, procurándose que éstos fueran homogéneos en cuanto a desarrollo (DAC y H), área foliar y estado sanitario.

Los individuos se ubicaron en macetas plásticas de alrededor de 9 litros, con una mezcla de sustrato conformada por suelo del lugar, perlita y arena en relación de 4:3:3 y un complemento nutricional consistente en superfosfato triple (1,2 g/l sust.) y urea (0,32 g/l sust). Los individuos fueron ubicados en un sector abierto del vivero bajo condiciones ambientales de verano. Se regó periódicamente las macetas durante un mes, a fin de que los individuos se adaptaran a la nueva condición.

Transcurrido el período de adaptación, se seleccionaron al azar 20 individuos de cada especie para someterlos a restricción hídrica controlada (T1) y 15 que se mantuvieron con aporte hídrico ininterrumpido (T0). Al inicio del ensayo, se agregó agua a saturación a todas las macetas, dejándolas al 100% de la capacidad hídrica del contenedor (CHC).

Los individuos de control (T0), se mantuvieron entre 90 y 100% de CHC durante todo el período de ensayo. Por su parte, en los sometidos a déficit (T1), se esperó que ésta disminuyera hasta un nivel de 40 a 30% CHC, que corresponde aproximadamente a -3,5 MPa de Potencial hídrico al alba (Ψ_{alba}), el cual se mantuvo adicionando agua, según fuese necesario, durante el ensayo.

3.2 Método

3.2.1 Colecta del material

Una vez finalizado el ensayo de restricción hídrica controlada se seleccionaron aleatoriamente diez individuos de cada especie, cinco sometidos a restricción hídrica controlada y cinco mantenidos bajo riego permanente.

Para peumo, se colectaron cinco hojas adultas de cada planta seleccionada, considerando que ellas provinieran del tercio superior de la planta. De éstas, sólo tres fueron utilizadas para el análisis, las demás fueron guardadas como material de reserva, para ser utilizado ante cualquier imprevisto. No se consideraron hojas juveniles, debido a que en las plantas sometidas a restricción hídrica no hubo formación de hojas nuevas.

En el caso de quillay, se colectaron 10 hojas del tercio superior de cada planta seleccionada, cinco jóvenes y cinco adultas, de las cuales, al igual que en el caso de peumo, sólo fueron utilizadas tres de cada tipo.

De esta manera se obtuvo un total de 90 muestras para analizar según especie, tipo de hoja y tratamiento al que fue sometida la planta (Cuadro 6).

3.2.2 Protocolo de preparación del material foliar

Previo a la preparación del tejido foliar, las hojas fueron cortadas para trabajar con la parte central de cada una de ellas, obteniéndose así 90 trozos de hoja (Figura 1).

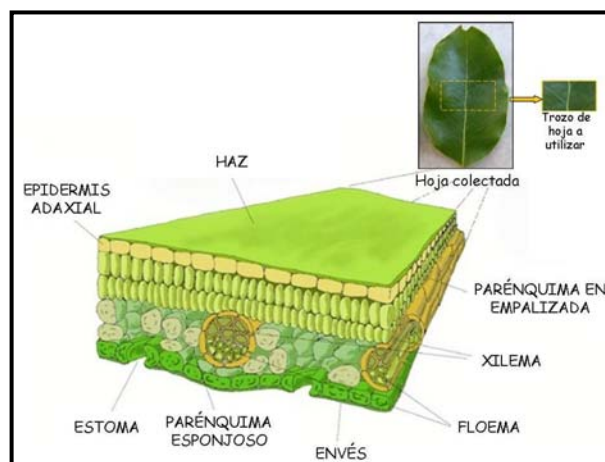


Figura 1. Esquema de obtención de muestras y del corte transversal de la hoja. (Fuente: http://recursos.cnice.mec.es/biosfera/alumno/1bachillerato/reino_vegetal/contenidos3.htm)

Para realizar las mediciones señaladas cada uno de los trozos de hoja fue preparado de acuerdo al método de Johansen (1940), como se describe a continuación:

3.2.2.1 Fijación

Cada trozo de hoja fue fijado en FAA, consistente en una mezcla de 50 partes de etanol al 95%, 10 partes de formalina, 5 partes de ácido acético glacial y 35 partes de agua destilada. La fijación del material duró 24 horas.

3.2.2.2 Deshidratación

Con el fin de reemplazar el agua de los tejidos, se hizo pasar los trozos de hoja por una serie de agentes deshidratantes, mezclas de alcohol y xilol, en diferentes concentraciones, (Cuadro 5).

Cuadro 5. Etapas de la deshidratación del material foliar.

Etapa	Solución				Tiempo (horas)
	Alcohol (%)	Agua destilada (%)	Xilol (%)	Nombre	
1	70	30	-	Alcohol 70	24
2	85	15	-	Alcohol 85	12
3	90	10	-	Alcohol 90	12
4	100	-	-	Alcohol 100 I	12
5	100	-	-	Alcohol 100 II	3
6	100	-	-	Alcohol 100 III	3
7	97,5	-	2,5	XAI	3
8	95	-	5	XAII	3
9	85	-	15	XAIII	3
10	75	-	25	XAIV	3
11	50	-	50	XAV	3
12	25	-	75	XAVI	3
13	-	-	100	XI	3
14	-	-	100	XII	3

3.2.2.3 Infiltración e inclusión con parafina

Finalizado el proceso de deshidratación, los trozos de hoja fueron transferidos gradualmente a parafina líquida, comenzando el proceso a temperatura ambiente y terminando en estufa a una temperatura aproximada de 55°C, donde se eliminó la mezcla completa y fue reemplazada por parafina pura fundida.

La inclusión finaliza colocando el material vegetal en un cubo con parafina pura a 56°, donde se le da la orientación requerida para la realización de los cortes, una vez que ésta se solidifique.

3.2.2.4 Corte y Tinción

De cada muestra de hoja se extrajeron 60 cortes, con el fin de obtener al menos 10 cortes, de buena calidad, por cubo para realizar las mediciones. Los cortes fueron de 10 µm de espesor y se realizaron con un micrótopo de rotación Wetzlar.

La tinción del material se efectuó con Safranina y Fast Green, mediante una batería de tinción compuesta por 22 etapas que se describen a continuación.

Cuadro 6. Etapas de la tinción del material foliar.

Etapa	Solución	Tiempo (minutos)	Etapa	Solución	Tiempo (minutos)
1	Xilol	20	12	Etanol 50% x 3	3 c/u
2	Xilol	15	13	Safranina	2 – 24 horas
3	Etanol 100%	5	14	Agua destilada	3
4	Etanol 95%	5	15	Etanol 50%	3
5	Etanol 70%	5	16	Etanol 70% acidulado	3
6	Etanol 50%	5	17	Etanol 70%	3
7	Agua destilada x3	5 c/u	18	Etanol 95%	3
8	Ácido tánico	10	19	Etanol 100%	3
9	Agua destilada	5	20	Fast green + etanol	3 seg
10	Cloruro férrico	9	21	Etanol + Xilol (1:3)	5
11	Agua destilada x 3	5 c/u	22	Xilol x 2	5 c/u

3.2.2.5 Montaje

Después que los cortes fueron teñidos se procedió a montar el cubre objeto con el fin de darle a la preparación un carácter permanente. El medio de montaje utilizado fue Eukkit.

Posteriormente, las muestras fueron almacenadas en la microteca del laboratorio de Biología Vegetal de la Facultad de Ciencias Forestales de la Universidad de Chile.

3.2.3 **Observaciones y mediciones anatómicas**

Se midió el espesor de hoja y de cutícula adaxial, se determinó la densidad de los tejidos parénquimáticos (empalizada y esponjoso), que componen el mesófilo y se llevó a cabo la

descripción anatómica de los cortes de cada uno de los tipos de hoja analizadas (Figura 2).

La densidad celular de los componentes del mesófilo fue determinada a partir del número de células presentes en un área de 100x100 μm .

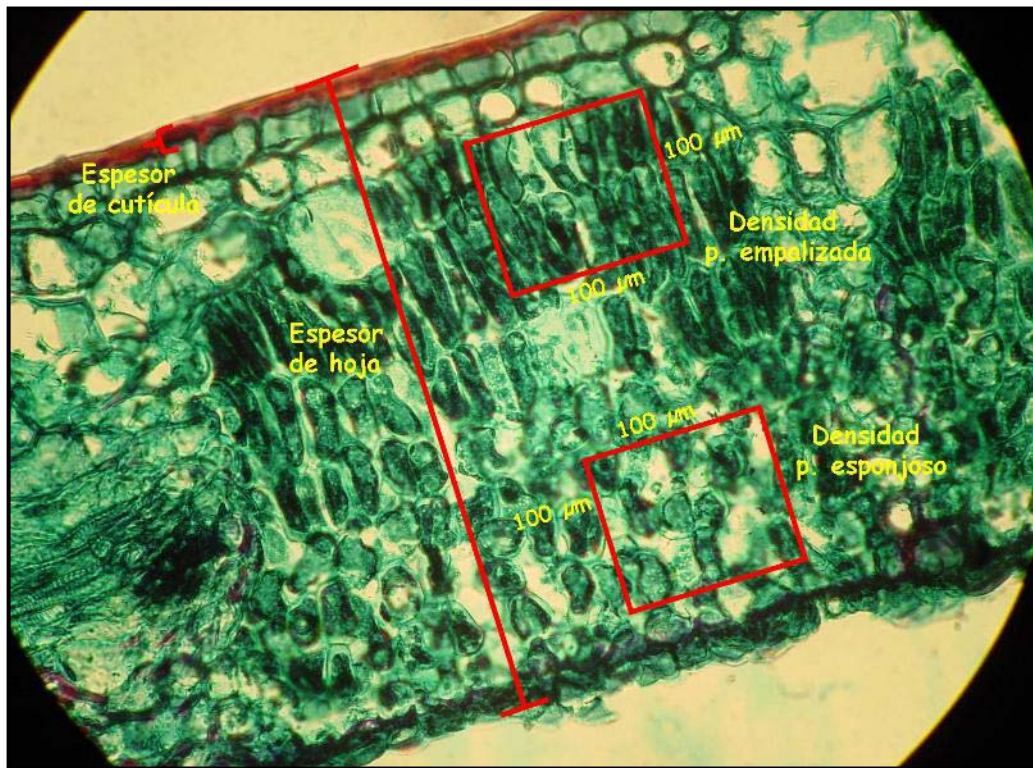


Figura 2. Esquema de las mediciones realizadas.

Las observaciones se hicieron con un microscopio óptico trinocular Zeiss. Las mediciones fueron realizadas utilizando el programa UTHSCSA Image Tool (University of Texas Health Science Center at San Antonio), especialmente diseñado para ello, a partir de microfotografías, que fueron tomadas con una cámara digital Cannon adosada al microscopio.

3.2.4 Análisis de resultados

Se analizaron los resultados obtenidos de acuerdo a la especie, tipo de hoja y tratamiento al que fueron sometidas las plantas, a través de un análisis de varianza para cada tipo de medición realizada.

Los análisis se realizaron utilizando un modelo con diseño completamente aleatorio, con 150 unidades muestrales por tratamiento, (Cuadro 7).

Se consideró como unidad muestral (U.M.), cada uno de los cortes utilizados para las observaciones y mediciones, y como tratamiento, a las condiciones de riego permanente (T0) y restricción hídrica controlada (T1), a las que fueron sometidas las plantas.

Cuadro 7. Distribución de unidades muestrales de acuerdo a especie, tipo de hoja y tratamiento.

Especie	Tratamiento	N° plantas	Tipo de Hoja	N° hojas por planta	N° cortes por hoja	N° U.M. Análisis
Peumo	T0	5	Adulta	3	10	150
	T1	5		3	10	150
Quillay	T0	5	Joven	3	10	150
			Adulta	3	10	150
	T1	5	Joven	3	10	150
			Adulta	3	10	150

4 RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1 Descripción anatómica

4.1.1 Peumo

En el corte transversal de las hojas mantenidas bajo riego permanente, es posible observar una cutícula lisa, engrosada en la cara adaxial, mientras que en la cara abaxial no es tan evidente su presencia.

La epidermis adaxial esta formada por 1 a 2 corridas de células, no así la epidermis abaxial, que sólo presenta una corrida de células, en la cual se encuentran insertos los estomas (Figura 5).

El mesófilo, mas bien denso, es de tipo dorsiventral, el parénquima de empalizada está compuesto por 3 – 4 corridas de células, en cambio el parénquima esponjoso se encuentra compuesto por 4 – 5 corridas. En él, es evidente la presencia de columnas de tejido esclerenquimático dispuestas regularmente a lo largo de la hoja, formadas por extensiones del haz vascular. También es común observar células secretoras conocidas como células odoríferas y la presencia de cristales de tipo drusa en el mesófilo esponjoso (Figura 6). En las paredes de las células que limitan el parénquima esponjoso y la epidermis abaxial, se observa un engrosamiento a lo largo de todo el corte, que debido a que se tiñe fuertemente con safranina, podría sugerirse que se trata de un compuesto con alguna función especial dentro de la hoja (Figura 3).

La principal diferencia de las hojas sometidas a restricción hídrica respecto a las hojas mantenidas bajo riego permanente se observa en la epidermis. En la cara adaxial, las células epidermales de la corrida interna tiende a volverse parte del parénquima de empalizada. Por su parte en la epidermis de la cara abaxial, la presencia de la cutícula se hace más evidente (Figura 4).

Esto concuerda con lo descrito por Montenegro (1984), Alfaro y Sierra (1973) y Hurtado (1969).

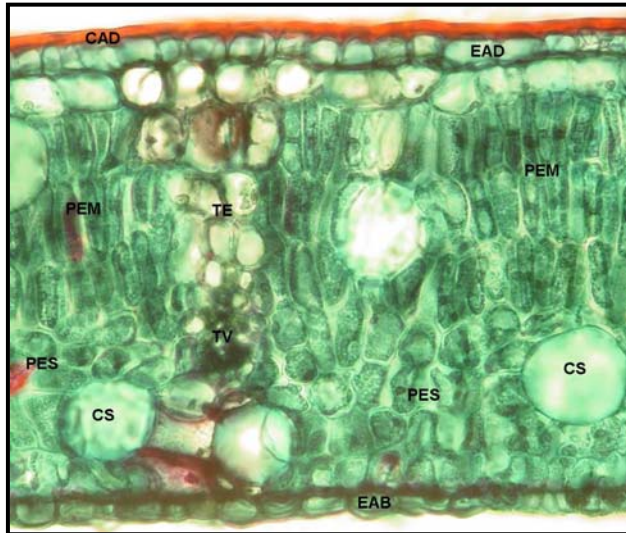


Figura 3. Corte transversal de la hoja de peumo mantenida bajo riego permanente (40X). Referencias: Cutícula adaxial (CAD); epidermis adaxial (EAD); parénquima de empalizada (PEM); parénquima esponjoso (PES); epidermis abaxial (EAB); tejido vascular (TV); tejido esclerenquimático (TE); células secretoras (CS).

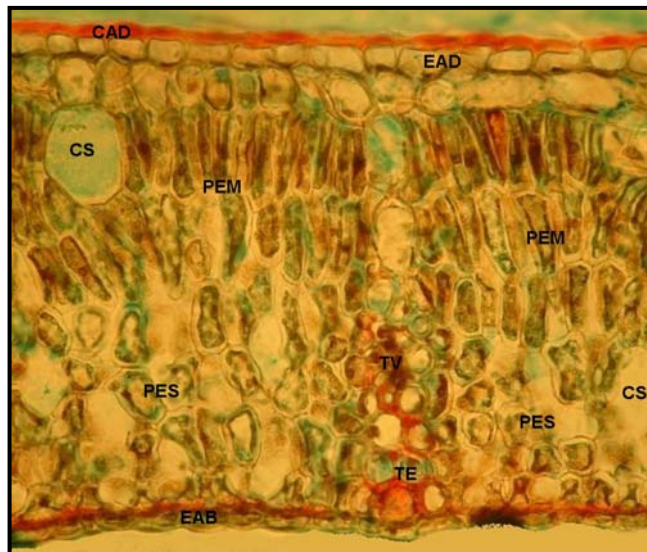


Figura 4. Corte transversal de la hoja de peumo sometida a restricción hídrica controlada (40X). Referencias: Cutícula adaxial (CAD); epidermis adaxial (EAD); parénquima de empalizada (PEM); parénquima esponjoso (PES); epidermis abaxial (EAB); tejido vascular (TV); tejido esclerenquimático (TE); células secretoras (CS).



Figura 5. Estoma visto en corte transversal de hoja adulta de peumo sometida a restricción hídrica controlada (40X).

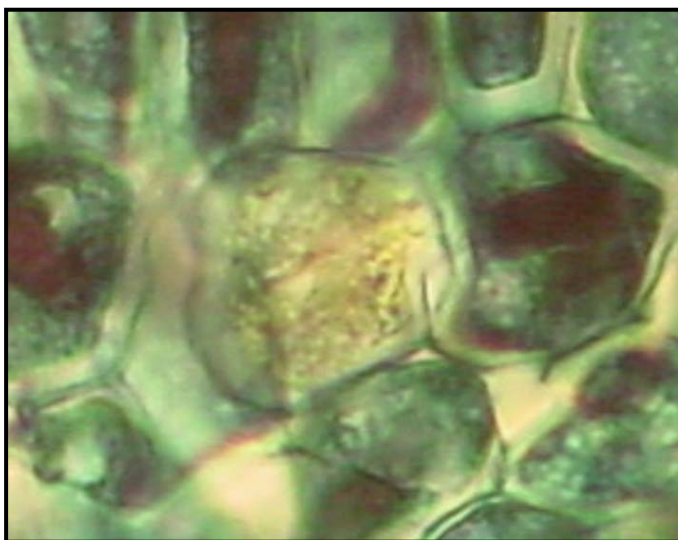


Figura 6. Cristal drusa de oxalato de calcio visto en corte transversal de hoja adulta de peumo sometida restricción hídrica controlada (40X).

4.1.2 Quillay

4.1.2.1 Hoja juvenil

Tanto las hojas mantenidas bajo riego permanente como aquellas sometidas a restricción hídrica poseen una cutícula adaxial ondulada. En las hojas sometidas a restricción hídrica ésta se encuentra bien desarrollada en ambas caras, no así en las hojas mantenidas bajo riego permanente que sólo es evidente en la cara adaxial (Figuras 7 y 8).

La epidermis adaxial y abaxial están, en general, formadas por una corrida de células (Figuras 7 y 8), siendo en esta última donde se encuentran los estomas (Figura 9). Sin embargo, es posible observar sectores de la cara adaxial en que aparentemente la epidermis podría ser biseriada.

En ambos casos se observa un mesófilo de tipo dorsiventral compuesto por 4 – 6 corridas de células de parénquima empalizada y 3 – 5 corridas de células de parénquima esponjoso, en el cual se encuentra abundante tejido vascular y la presencia de cristales drusas (Figuras 7, 8 y 10).

Esta descripción concuerda, con lo descrito por Alfaro y Sierra (1973) y Botti (1976).

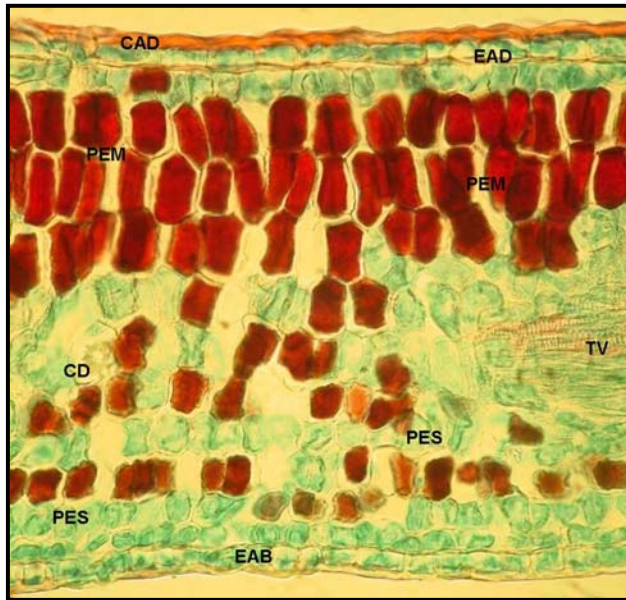


Figura 7. Corte transversal de hoja juvenil de quillay mantenida bajo riego permanente (40X). Referencia: Cutícula adaxial (CAD); epidermis adaxial (EAD); parénquima de empalizada (PEM); parénquima esponjoso (PES); epidermis abaxial (EAB); tejido vascular (TV); cristal drusa (CD).

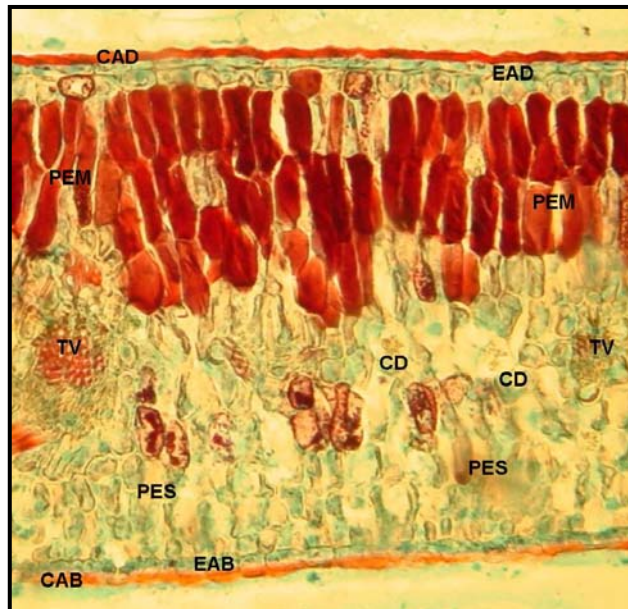


Figura 8. Corte transversal de hoja juvenil de quillay sometida a restricción hídrica controlada (40X). Referencia: Cutícula adaxial (CAD); epidermis adaxial (EAD); parénquima de empalizada (PEM); parénquima esponjoso (PES); epidermis abaxial (EAB); cutícula abaxial (CAB); tejido vascular (TV); cristal drusa (CD).

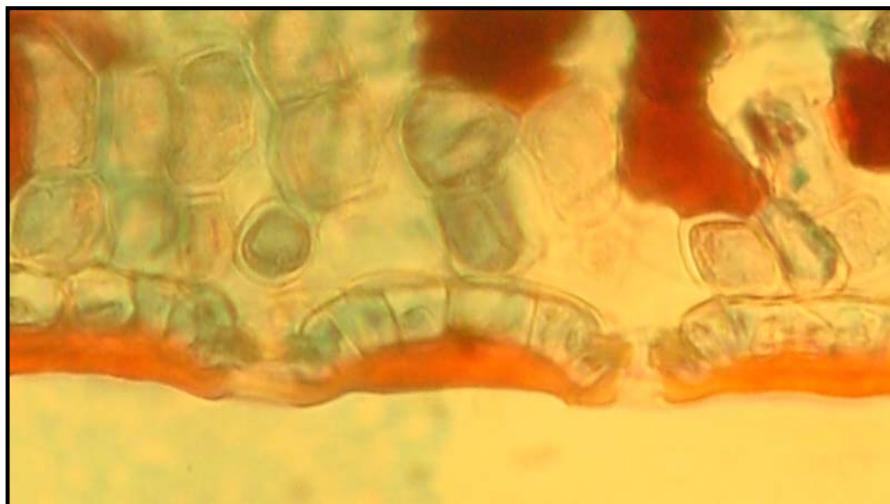


Figura 9. Estomas vistos en corte transversal de hoja juvenil de quillay mantenida bajo riego permanente (40X).



Figura 10. Cristal drusa de oxalato de calcio visto en corte transversal de hoja juvenil de quillay sometida a restricción hídrica controlada (10X).

4.1.2.2 Hoja adulta

Como en las hojas juveniles, la cutícula de la cara adaxial es ondulada. Pero en este caso, tanto en las hojas mantenidas bajo riego permanente como en las sometidas a restricción hídrica, la cutícula se encuentra bien desarrollada en ambas caras de la hoja (Figuras 11 y 12).

En las hojas mantenidas bajo riego permanente, aparentemente la epidermis adaxial es biseriada, pero, al igual que la epidermis abaxial, sólo está formada por una corrida de células. La segunda correspondería a tejido parenquimático del mesófilo (Figuras 9 y 10).

En las hojas sometidas a restricción hídrica, tanto la epidermis adaxial como la abaxial se encuentran formadas por una corrida de células, siendo en esta último, donde se encuentran los estomas (Figuras 11, 12 y 13).

En ambos casos se observa un mesófilo de tipo dorsiventral compuesto por 3 – 5 corridas de células de parénquima empalizada y 4 – 5 corridas de células parénquima esponjoso, entre las que se observan cristales drusas (Figuras 11, 12 y 14).

Esta descripción concuerda, con lo descrito por Alfaro y Sierra (1973) y Botti (1976).

Además es posible observar algunos tricomas en la cara adaxial de las hojas, elemento que no ha sido descrito por otros autores (Figura 15).

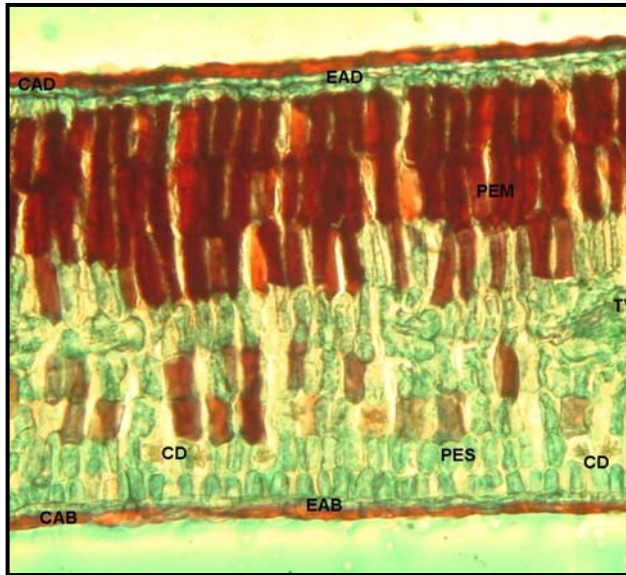


Figura 11. Corte transversal de hoja adulta de quillay mantenida bajo riego permanente (10X). Referencia: Cutícula adaxial (CAD); epidermis adaxial (EAD); parénquima de empalizada (PEM); parénquima esponjoso (PES); epidermis abaxial (EAB); cutícula abaxial (CAB); tejido vascular (TV); cristal drusa (CD).

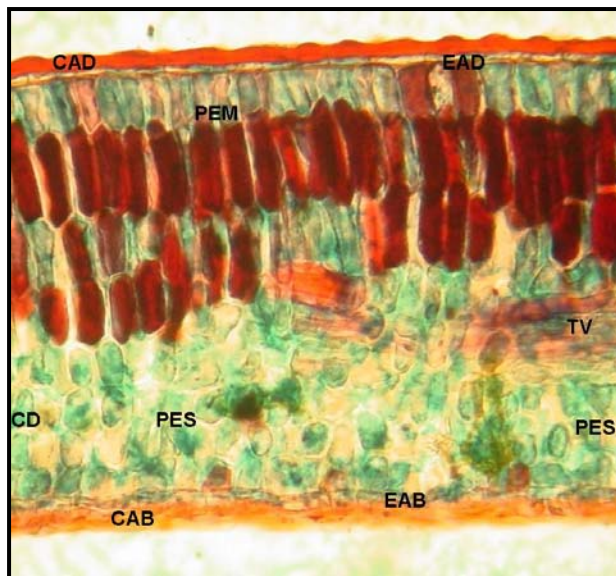


Figura 12. Corte transversal de hoja adulta de quillay sometida a restricción hídrica controlada (10X). Referencia: Cutícula adaxial (CAD); epidermis adaxial (EAD); parénquima de empalizada (PEM); parénquima esponjoso (PES); epidermis abaxial (EAB); cutícula abaxial (CAB); tejido vascular (TV); cristal drusa (CD).



Figura 13. Estomas vistos en corte transversal de hoja adulta de quillay mantenida bajo riego permanente (40X).

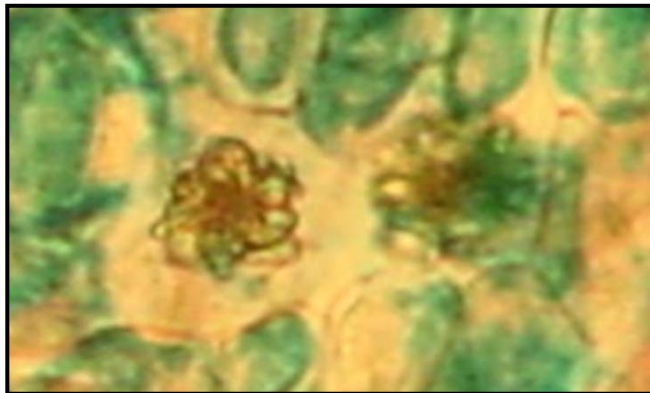


Figura 14. Cristal drusa de oxalato de calcio visto en corte transversal de hoja adulta de quillay sometida a restricción hídrica controlada (10X).

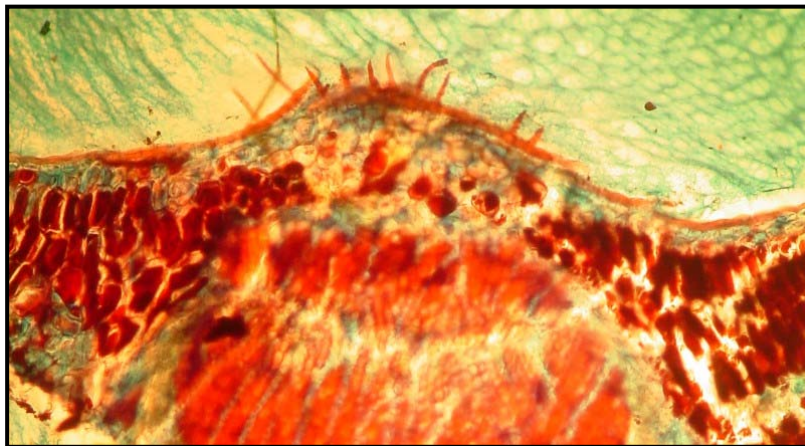


Figura 15. Tricomas vistos en corte transversal de hoja adulta de quillay mantenida bajo riego permanente (10X).

4.2 Mediciones anatómicas

4.2.1 Espesor de cutícula

En hojas adultas de peumo así como en hojas juveniles de quillay sometidas a restricción hídrica se produjo un aumento estadísticamente significativo del espesor de cutícula con respecto a las plantas mantenidas bajo riego permanente, observándose un incremento medio de un 16,8% y 12,7% para peumo y quillay respectivamente (Figuras 16, 17 y 18).

Esto concuerda con lo descrito por diferentes autores que señalan que el engrosamiento de la cutícula cuando la planta es sometida a restricción hídrica, protege a la planta de la pérdida de agua por transpiración y de la alta radiación, por el aumento de la reflectancia, y que además contribuye al balance energético de la planta (Colmenares-Arteaga *et al.*, 2005, Silva *et al.*, 2001, Noton, 1976 y Hill *et al.*, 1964).

Por el contrario, las hojas adultas de quillay sometidas a restricción hídrica tienen una leve tendencia a disminuir el espesor de cutícula (1,82%), respecto a las que se mantuvieron bajo riego permanente. No obstante, ésta reducción no fue estadísticamente significativa (Figuras 16 y 19).

Esto indicaría que en algunos tipos de hoja y en algunas especies el aumento del espesor de cutícula sería una respuesta de las plantas sometidas a restricción hídrica, ya que esto favorecería la disminución de la pérdida de agua y por lo tanto favorece la sobrevivencia de las plantas sometidas a sequía.

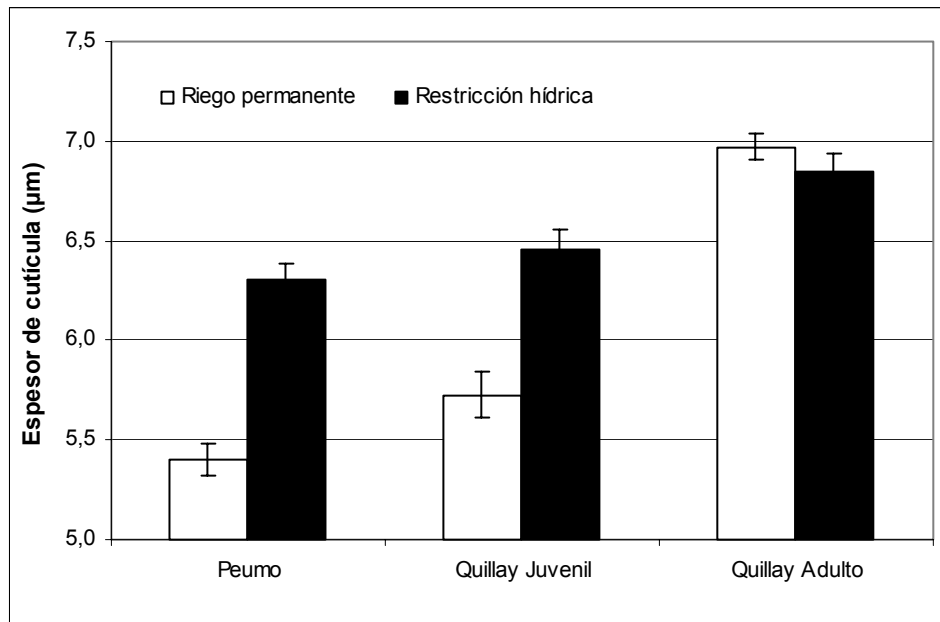


Figura 16. Valor promedio (\pm Error estándar), del espesor de cutícula de la hoja de plantas de peumo y quillay sometidas a restricción hídrica controlada y mantenidas bajo riego permanente (N=150).

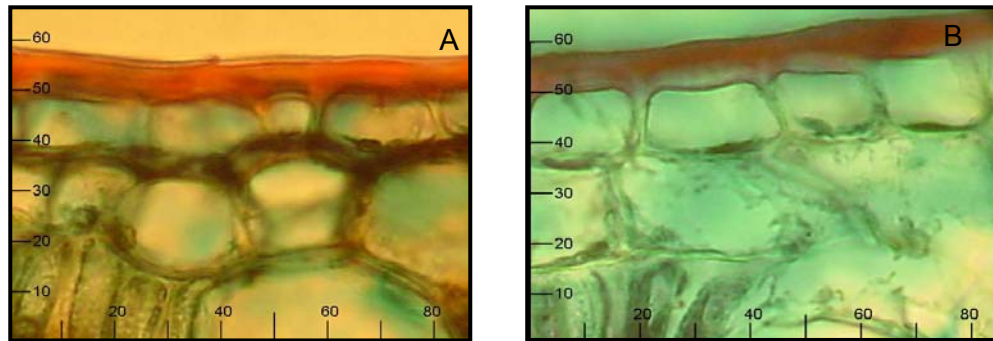


Figura 17. Cutícula en corte transversal de hoja de peumo. (A) mantenida bajo riego permanente y (B) sometida a restricción hídrica; (40X).

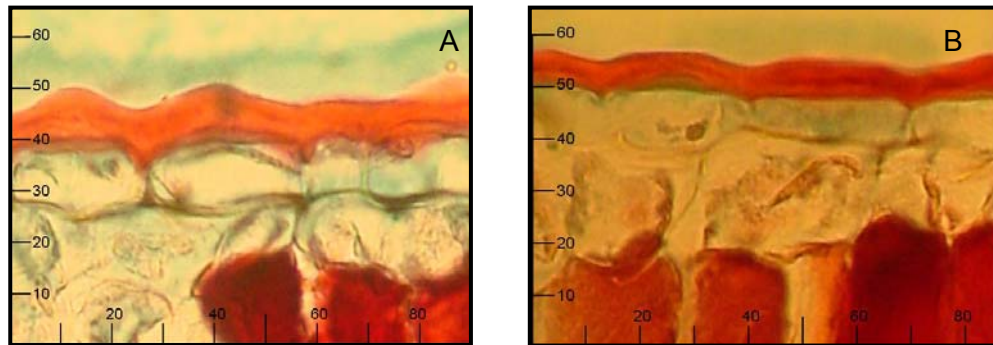


Figura 18. Cutícula en corte transversal de hoja juvenil de quillay. (A) mantenida bajo riego permanente y (B) sometida a restricción hídrica; (40X).

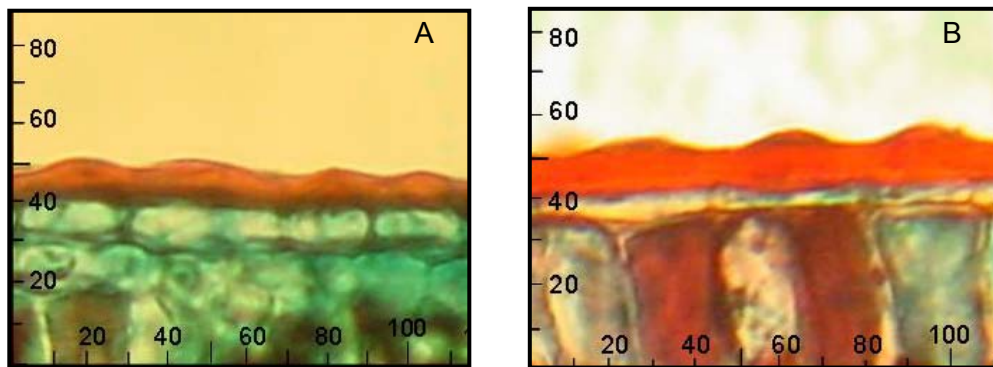


Figura 19. Cutícula en corte transversal de hoja adulta de quillay. (A) mantenida bajo riego permanente y (B) sometida a restricción hídrica; (10X).

4.2.2 Espesor de hoja

En las hojas adultas de peumo y de quillay sometidas a restricción hídrica se produjo una disminución significativa del espesor de hoja respecto a las plantas mantenidas bajo riego permanente, correspondiente al 2,7% y 4,1% respectivamente (Figuras 20, 21 y 23). En ambos casos es posible observar una incipiente desorganización del mesófilo, especialmente del parénquima de empalizada.

Esto concuerda con los resultados obtenidos por Levitt (1980) y Hernández *et al.*, (1990), quienes, atribuyen este comportamiento a la reducción y desorganización del mesófilo como respuesta a la restricción hídrica, lo cual, en altos niveles de déficit se vuelve irreversible, provocando la reducción de la eficiencia fotosintética de la planta.

Por el contrario, las hojas juveniles que se desarrollaron durante el ensayo en las plantas de quillay sometidas a restricción hídrica aumentaron el espesor de hoja en un 37,87% con respecto a las plantas mantenidas bajo riego permanente, lo cual es estadísticamente significativo (Figuras 20 y 22). En ellas es posible observar el alargamiento de las células del parénquima de empalizada y el evidente aumento de los espacios intercelulares en el parénquima esponjoso.

El aumento del espesor de hoja coincide con lo descrito por Colmenares-Arteaga *et al.*, (2005), y Noton (1976), quienes señalan que éste debería al incremento que se produce del parénquima de empalizada y que estaría relacionado con un transporte más eficiente del agua.

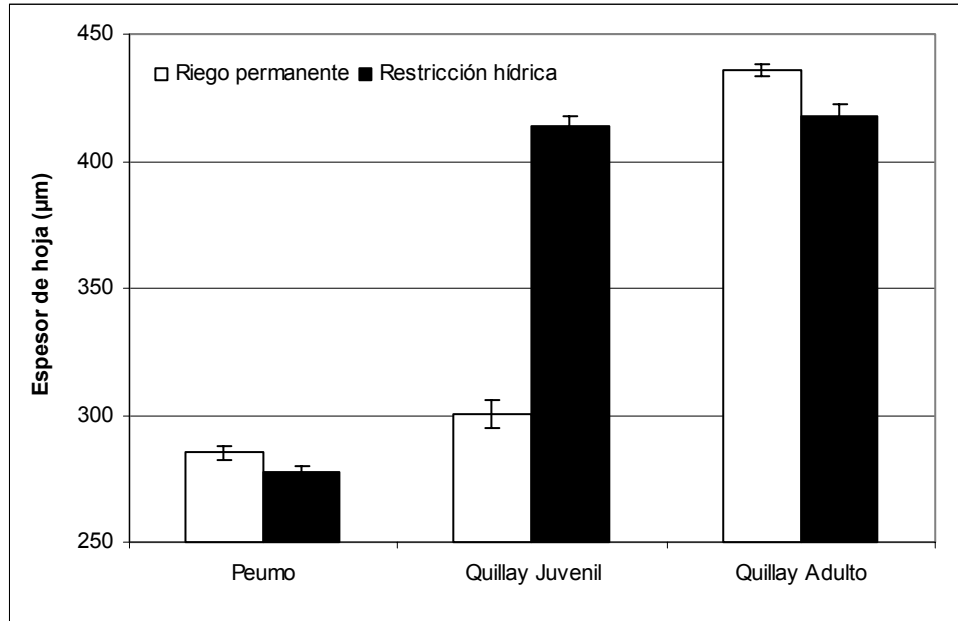


Figura 20. Valor promedio (\pm EE), del espesor de hoja de plantas de peumo y quillay sometidas a restricción hídrica y mantenidas bajo riego permanente (N=150).

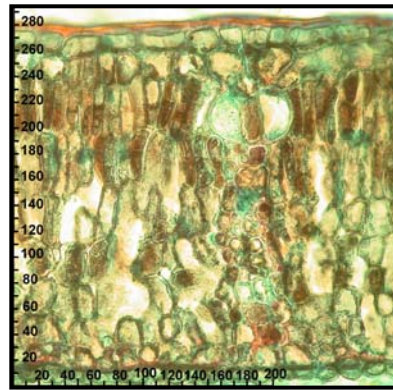
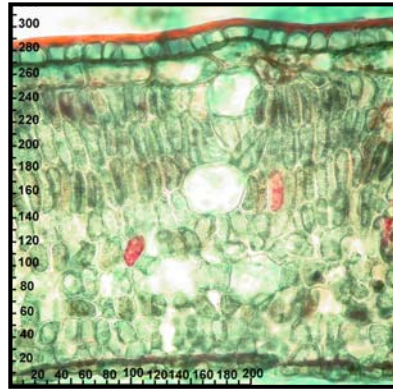


Figura 21. Corte transversal de hoja de peumo. (A) mantenida bajo riego permanente y (B) sometida a restricción hídrica; (40X).

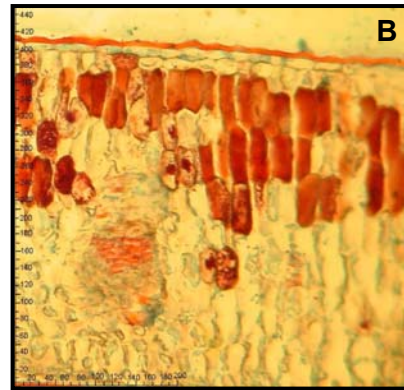
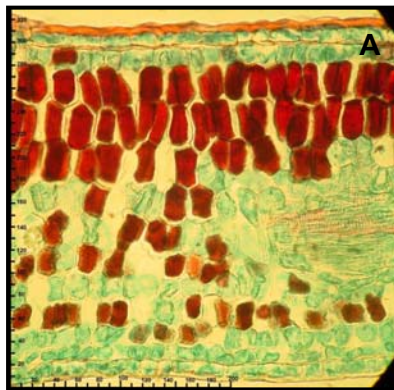


Figura 22. Corte transversal de hoja juvenil de quillay. (A) mantenida bajo riego permanente (40X) y (B) sometida a restricción hídrica (10X).

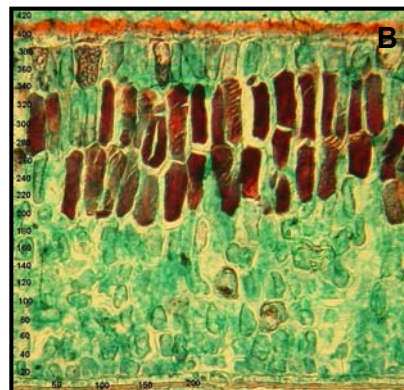
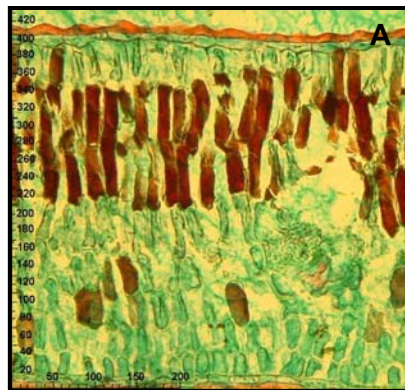


Figura 23. Corte transversal de hoja adulta de quillay. (A) mantenida bajo riego permanente y (B) sometida a restricción hídrica; (10X).

4.2.3 Densidad del tejido parenquimático

En las hojas adultas de peumo como en las hojas juveniles de quillay la densidad celular media de los parénquimas de empalizada y esponjoso, de las plantas sometidas a restricción hídrica, disminuyó respecto a las mantenidas bajo riego permanente. Para ambas especies las diferencias observadas fueron estadísticamente significativas.

En las hojas de peumo la disminución de la densidad celular fue de un 4,16% y 7,35%, para los parénquimas de empalizada y esponjoso respectivamente. Esto se debe a la desorganización del mesófilo en general y al aumento de los espacios intercelulares en el parénquima esponjoso, en el cual además se puede observar un aumento del tamaño celular (Figuras 24, 25, 26 y 29).

Así mismo, en las hojas juveniles de quillay la disminución media fue de un 30,19% y 15,32%, para los parénquimas de empalizada y esponjoso respectivamente. Esto se observa como respuesta al aumento del tamaño de las células de ambos parénquimas y al evidente aumento de los espacios intercelulares del parénquima esponjoso (Figuras 24, 25, 27 y 30).

Esto concuerda con los resultados obtenidos por Kofidis *et al.*, (2004) y Mediavilla *et al.* (2001), quienes determinaron que el aumento del volumen interno de aire en la hoja tiene efectos positivos en la eficiencia del uso del agua. Sin embargo, este comportamiento es opuesto al descrito por Chartzoulakis *et al.*, (2000) y Maia *et al.*, (1999), quienes determinaron el aumento de la densidad del mesófilo en plantas sometidas a restricción hídrica, debido a la disminución del tamaño celular, que favorece la mantención del turgor celular en bajos potenciales hídricos.

La densidad del parénquima de empalizada de las hojas adultas de quillay tiende a disminuir (4,04%), cuando son sometidas a condiciones de restricción hídrica, mientras que la del parénquima esponjoso tiende a aumentar su densidad (3,02%), sin embargo, ninguna de estas variaciones fue estadísticamente significativa (Figuras 24, 25, 28 y 31).

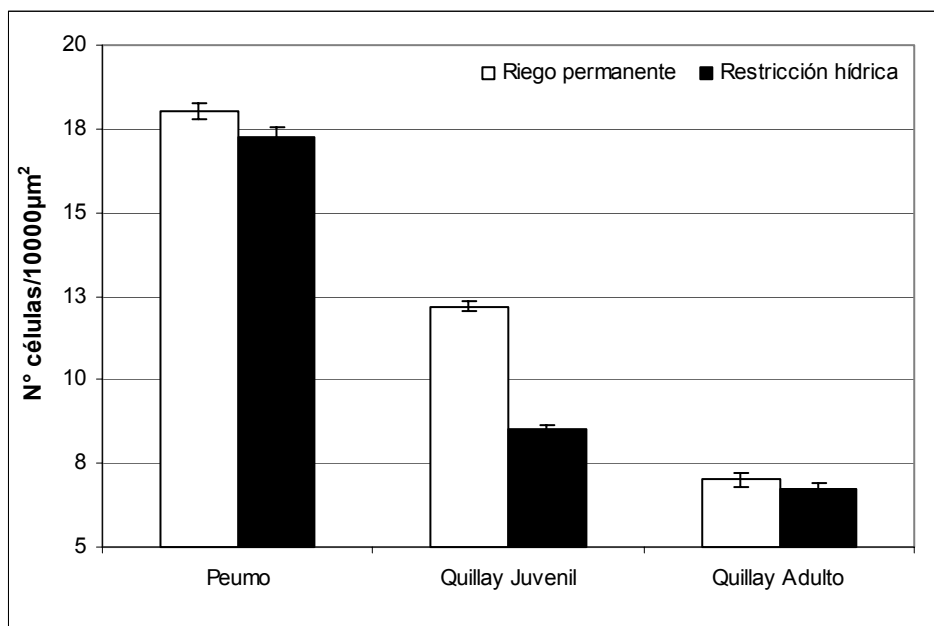


Figura 24. Valor promedio (\pm EE), de la densidad celular del parénquima de empalizada de las hojas sometidas a restricción hídrica y mantenidas bajo riego permanente (N=150).

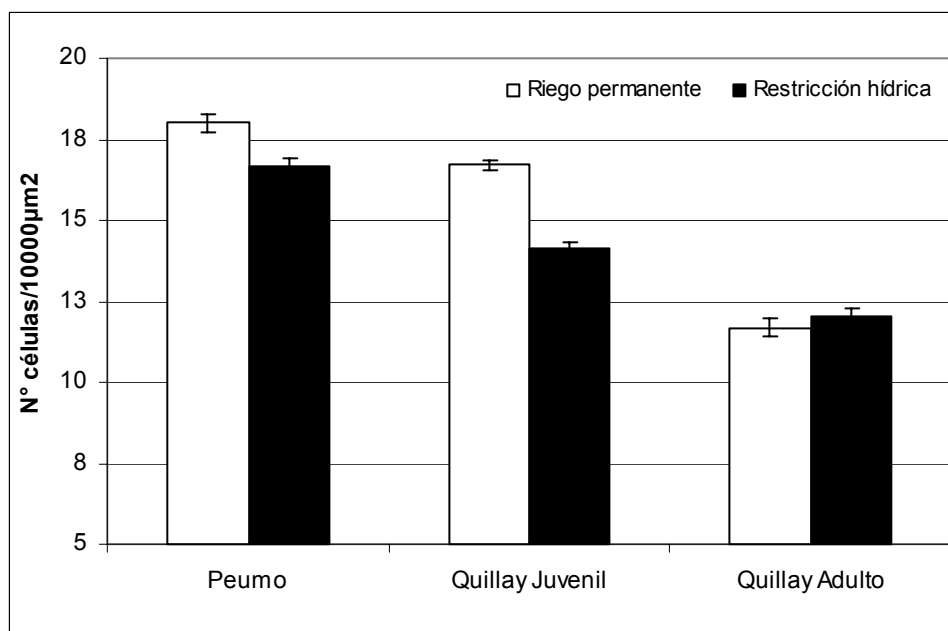


Figura 25. Valor promedio (\pm EE), de la densidad celular del parénquima esponjoso de las hojas sometidas a restricción hídrica y mantenidas bajo riego permanente (N=150).

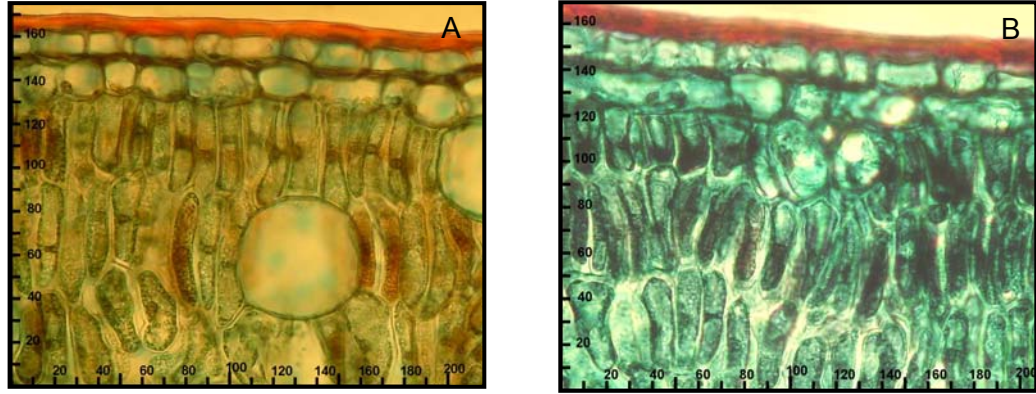


Figura 26. Parénquima de empalizada en corte transversal de hoja de peumo. (A) mantenida bajo riego permanente y (B) sometida a restricción hídrica; (40X).

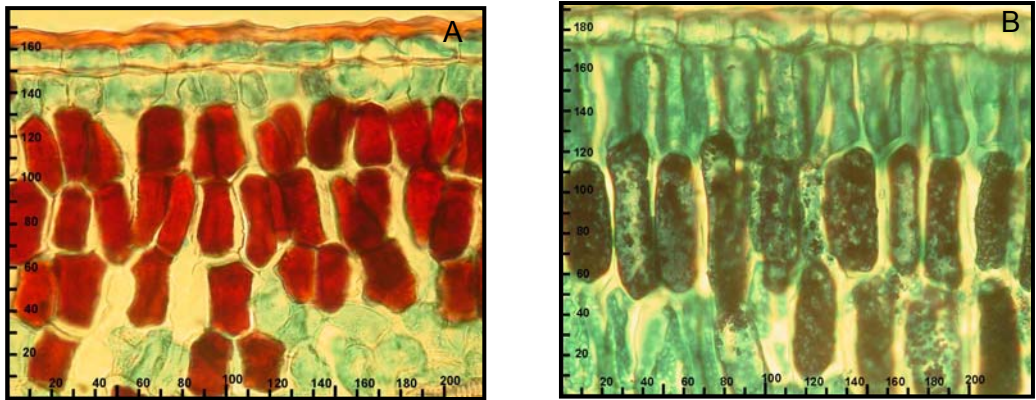


Figura 27. Parénquima de empalizada en corte transversal de hoja juvenil de quillay. (A) mantenida bajo riego permanente y (B) sometida a restricción hídrica; (40X).

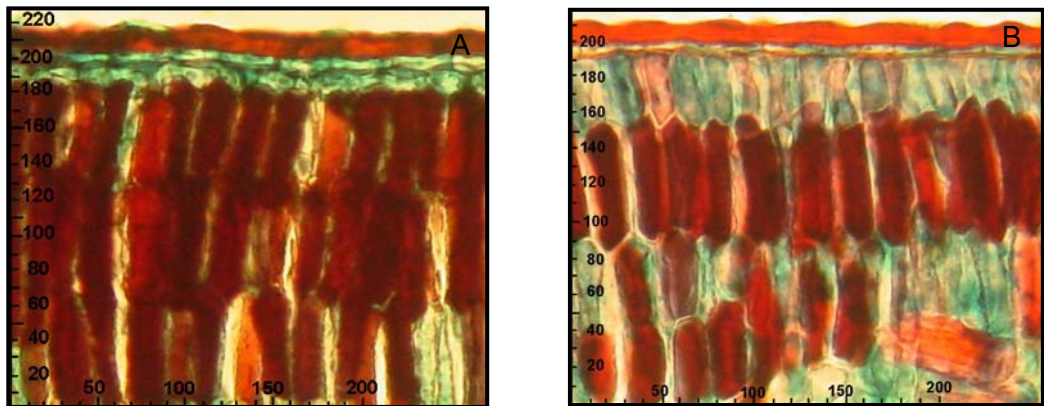


Figura 28. Parénquima de empalizada en corte transversal de hoja adulta de quillay. (A) mantenida bajo riego permanente y (B) sometida a restricción hídrica; (10X).

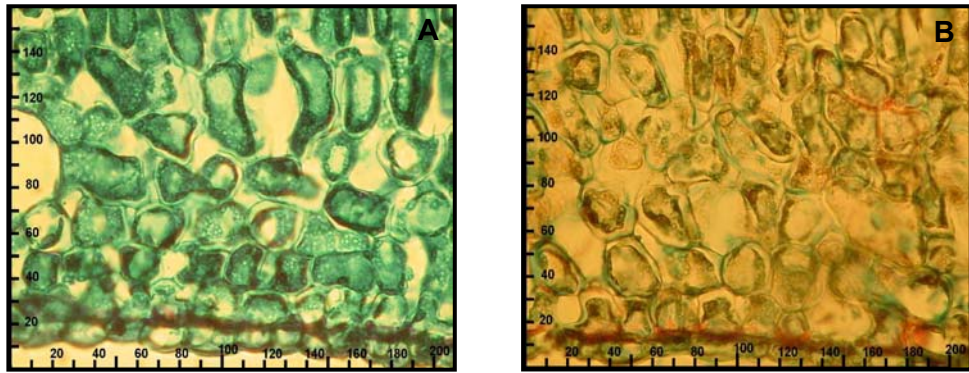


Figura 29. Parénquima esponjoso en corte transversal de hoja de peumo. (A) mantenida bajo riego permanente y (B) sometida a restricción hídrica; (40X).

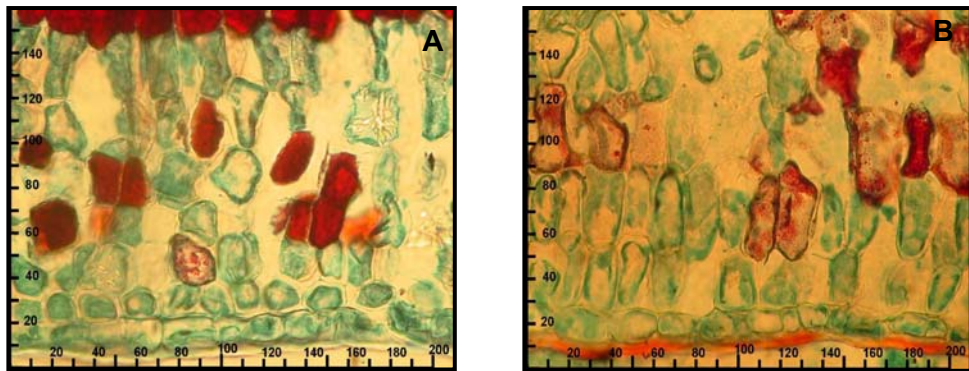


Figura 30. Parénquima esponjoso en corte transversal de hoja juvenil de quillay. (A) mantenida bajo riego permanente y (B) sometida a restricción hídrica; (40X).

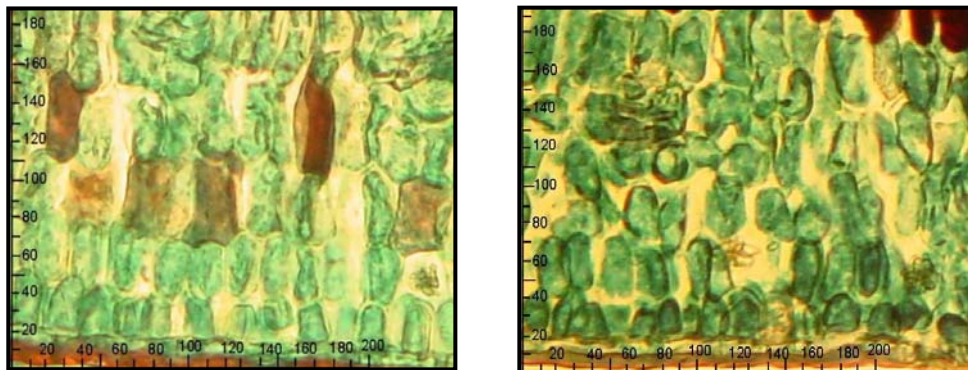


Figura 31. Parénquima esponjoso en corte transversal de hoja adulta de quillay. (A) mantenida bajo riego permanente y (B) sometida a restricción hídrica; (10X).

5 COMENTARIOS FINALES

Las diferencias observadas en la respuesta de hojas adultas de quillay y peumo, podrían estar relacionadas con otras respuestas ecofisiológicas observadas en estas especies. Las plantas de quillay sometidas a sequía, tienden a eliminar las hojas cuando el potencial hídrico es demasiado negativo (-3,5 Mpa), mientras que peumo tiende a mantener las hojas adultas y elimina los brotes jóvenes. Esto explicaría la razón de que peumo modifica todas las variables anatómicas analizadas, mientras que en quillay sólo cambia el espesor de hoja.

6 CONCLUSIONES

Aunque peumo y quillay poseen una distribución geográfica similar, ambas presentan distintas respuestas anatómicas foliares cuando se ven enfrentadas a restricción hídrica prolongada.

Las hojas adultas de Peumo cuando es sometido a restricción hídrica prolongada presentan cambios significativos, aumentando el espesor de cutícula, y disminuyendo el espesor de hojas y la densidad celular de los parénquimas del mesófilo..

La respuesta anatómica de las hojas de quillay cuando están bajo restricción hídrica varía según el estado de desarrollo. En hojas adultas sólo disminuye el espesor de hoja, mientras que las juveniles aumentan el espesor de cutícula y de hoja, además, disminuye la densidad del parénquima de empalizada y esponjoso.

7 BIBLIOGRAFÍA

- ALFARO, R. y SIERRA, V. 1973. Absorción foliar de humedad atmosférica y relaciones hídricas en *Cryptocarya alba* (Mol.) Looser, *Quillaja saponaria* Mol., *Prosopis chilensis* (Mol.) Stuntz y *Acacia caven* Mol. Tesis para optar al título de Ingeniero Forestal, Universidad de Chile, Facultad de Ciencias Forestales, Santiago, Chile. 69 p.
- BOTTI, C. 1976. Anatomía foliar y xerofitismo en algunas especies chilenas. En: Investigación Agrícola 3: 95-104.
- CASTILLO, J. C. y MORENO, G. 2002. Semillas forestales del bosque nativo chileno. Editorial Universtaria , Santiago Chile. 241 p.
- CHARTZOULAKIS, K.; BOSABALIDIS, A.; PATAKAS, A. and VEMMOS, S. 2000. Effects of water stress on water relations, gas exchange and leaf structure of olive tree. In: Acta Hort. (ISHS) 537:241-247.
- COLMENARES-ARTEAGA, M.; RADA, F. y LUQUE, R. 2005. Anatomía foliar de *Polylepis serica* Wedd. (Rosaceae) a dos altitudes en los Altos andes venezolanos. En: Plántula 3: 141-148.
- CUTLER, J.; RAINS, W. and LOOMIS, R. 1977. The importance of cell size in the water relations of plants. In: Physiol. Plant. 40: 225-260.
- DEL FIERRO, P.; PANCEL, L.; RIVERA, H. y CASTILLO, J. 1998. Experiencia silvicultural del bosque nativo de Chile. CONAF- GTZ, Santiago, Chile. 420 p.
- HERNÁNDEZ, R.; SOTO, A. y VALVERDE, R. 1990. Influencia del régimen de humedad en el suelo sobre la morfología foliar de *Rottboellia exaltata*. En: Agronomía Costarricense 2: 197-200.
- HILL, J.; OVERBOLTS, L.; POPP, H. And GROVE, A. 1964. Tratado de botánica. Omega, Barcelona, España. 747 p.
- HURTADO, P. 1969. Observaciones sobre la anatomía foliar y la transpiración en Peumo (*Cryptocarya alba* (Mol.) Looser). Tesis para optar al título de Ingeniero Forestal, Universidad de Chile, Facultad de Agronomía, Santiago, Chile. 81 p.
- JOHANSEN, D. 1940. Plant microtechnique. McGraw-Hill Book, New York, EE. UU. 580 p.
- KOFIDIS, G; BOSABALIDIS, A; CHARTZOULAKIS, K. 2004. Leaf anatomical alterations induced by drought stress in two avocado cultivars. Journal of Biological Research 1: 115– 120.

- LEVIT, J. 1980. Responses of plants to environmental stresses. Academic Press, New York, E.E.U.U. . 697 p.
- MAIA, G.; NATAL, A. and DE ALMEIDA, M. 1999. Water deficit in relation to leaf and stem anatomy of *Eucalyptus camaldulensis* Dehn. shoots cultivated in vitro. In: Sci. agric. 3: 723-731.
- MEDIAVILLA, S.; ESCUDERO, A. and HEILMEIER, H. 2001. Internal leaf anatomy and photosynthetic resource-use efficiency: interspecific and intranspecific comparisons. In: Tree Physiology 21: 251-259.
- MONTENEGRO, G. 1984. Atlas de anatomía de especies vegetales autóctonas de la zona central. Universidad Católica de Chile, Santiago, Chile. 153 p.
- NOTON, C. 1976. Déficit hídrico en plántulas de Quillay (*Quillaja saponaria* Mol.). Tesis para optar al título de Ingeniero Forestal. Universidad de Chile, Facultad de Ciencias Forestales, Santiago, Chile. 51 p.
- PÉREZ, V. 1983. Manual de propiedades físicas y mecánicas de maderas chilenas. CONAF-FAO, Santiago, Chile. 451 p.
- RODRÍGUEZ, R.; MATTHEI, S. y QUEZADA, M. 1983. Flora arbórea de Chile. Universidad de Concepción, Concepción, Chile. 408 p.
- SILVA, H. E, ACEVEDO y P, SILVA. 2001. Anatomía del tejido fotosintético de diez taxa de *Opuntia* establecidos en el secano árido mediterráneo de Chile. Revista Chilena de Historia Natural 74(2): 341-352.
- VITA, A. 1993. Ecosistemas de bosques y matorrales mediterráneos y sus tratamientos silviculturales en Chile. Investigación y desarrollo de áreas silvestres; zonas áridas y semi-áridas de Chile. FO:DP/CHI/83/017 2° edición. Documento de trabajo N°21. 243 p.

8 APÉNDICES

Apéndice N°1: Análisis de varianza de las mediciones de hojas de peumo

Análisis de Varianza (ANDEVA) para el espesor de cutícula de peumo.

Fuente de Variación	Suma de Cuadrados	Grados de Libertad	Cuadrado Medio	F cal	F (1- α = 0,95)
Tratamiento	61,75	1	61,75	65,53	3,88
Error	280,83	298	0,94		
Total	342,58	299			

Análisis de Varianza (ANDEVA) para el espesor de hoja de peumo.

Fuente de Variación	Suma de Cuadrados	Grados de Libertad	Cuadrado Medio	F cal	F (1- α = 0,95)
Tratamiento	4374,36	1	4374,36	4,29	3,88
Error	303521,78	298	1018,53		
Total	307896,14	299			

Análisis de Varianza (ANDEVA) para la densidad del parénquima de empalizada de peumo.

Fuente de Variación	Suma de Cuadrados	Grados de Libertad	Cuadrado Medio	F cal	F (1- α = 0,95)
Tratamiento	42,19	1	42,19	4,08	3,88
Error	3078,36	298	10,33		
Total	3120,54	299			

Análisis de Varianza (ANDEVA) para la densidad del parénquima esponjoso de peumo.

Fuente de Variación	Suma de Cuadrados	Grados de Libertad	Cuadrado Medio	F cal	F (1- α = 0,95)
Tratamiento	131,34	1	131,34	11,13	3,88
Error	3517,24	298	11,80		
Total	3648,58	299			

Apéndice N°2: Análisis de varianza de las mediciones de hojas juveniles de quillay

Análisis de Varianza (ANDEVA) para el espesor de cutícula de la hoja juvenil de quillay.

Fuente de Variación	Suma de Cuadrados	Grados de Libertad	Cuadrado Medio	F cal	F (1- α = 0,95)
Tratamiento	39,74	1	39,74	38,74	3,88
Error	305,71	298	1,03		
Total	345,44	299			

Análisis de Varianza (ANDEVA) para el espesor de la hoja juvenil de quillay.

Fuente de Variación	Suma de Cuadrados	Grados de Libertad	Cuadrado Medio	F cal	F (1- α = 0,95)
Tratamiento	969368,50	1	969368,50	492,83	3,88
Error	586148,41	298	1966,94		
Total	1555516,91	299			

Análisis de Varianza (ANDEVA) para la densidad del parénquima de empalizada de la hoja juvenil de quillay.

Fuente de Variación	Suma de Cuadrados	Grados de Libertad	Cuadrado Medio	F cal	F (1- α = 0,95)
Tratamiento	1013,84	1	1013,84	186,37	3,88
Error	1621,07	298	5,44		
Total	2634,91	299			

Análisis de Varianza (ANDEVA) para la densidad del parénquima esponjoso de la hoja juvenil de quillay.

Fuente de Variación	Suma de Cuadrados	Grados de Libertad	Cuadrado Medio	F cal	F (1- α = 0,95)
Tratamiento	491,52	1	491,52	51,54	3,88
Error	2841,87	298	9,54		
Total	3333,39	299			

Apéndice N°3: Análisis de varianza de las mediciones de hojas adultas de quillay

Análisis de Varianza (ANDEVA) para el espesor de cutícula de la hoja adulta de quillay.

Fuente de Variación	Suma de Cuadrados	Grados de Libertad	Cuadrado Medio	F cal	F (1- α = 0,95)
Tratamiento	1,21	1	1,21	0,71	3,88
Error	507,30	298	1,70		
Total	508,51	299			

Análisis de Varianza (ANDEVA) para el espesor de la hoja adulta de quillay.

Fuente de Variación	Suma de Cuadrados	Grados de Libertad	Cuadrado Medio	F cal	F (1- α = 0,95)
Tratamiento	23514,10	1	23514,10	6,65	3,88
Error	1053158,48	298	3534,09		
Total	1076672,58	299			

Análisis de Varianza (ANDEVA) para la densidad del parénquima de empalizada de la hoja adulta de quillay.

Fuente de Variación	Suma de Cuadrados	Grados de Libertad	Cuadrado Medio	F cal	F (1- α = 0,95)
Tratamiento	6,02	1,00	6,02	1,90	3,88
Error	945,29	298,00	3,17		
Total	951,31	299,00			

Análisis de Varianza (ANDEVA) para la densidad del parénquima esponjoso de la hoja adulta de quillay.

Fuente de Variación	Suma de Cuadrados	Grados de Libertad	Cuadrado Medio	F cal	F (1- α = 0,95)
Tratamiento	9,36	1	9,36	1,89	3,88
Error	1478,03	298	4,96		
Total	1487,40	299			

