

Ed. J. Rita  
Taxonomía, Biogeografía y  
Conservación de Pteridófitos  
Soc. Hist. Nat. Bal. - IME  
Palma de Mallorca, 1990

# ESTUDIO COMPARATIVO DE LAS EPIDERMIS FOLIARES DE LAS LYCOPODIACEAS IBERICAS I. ESTOMAS.

A. M. IBARS, M. V. IBÁÑEZ, M. VILAR y J. IRANZO

Departament de Biologia Vegetal (Botànica).

Facultat de Farmàcia. Universitat de València.

Av. Blasco Ibáñez, 13. 46010 València.

## Resumen.

Se realiza un estudio comparativo de los estomas, tanto de los esporofilos como de los trofofilos, de *Huperzia selago* (L.) Bernh ex Schrank & Mart., *Lycopodium annotinum* L., *Lycopodium clavatum* L., *Diphasiastrum alpinum* (L.) Holub y *Lycopodiella inundata* (L.) Holub aportando datos sobre la localización de los estomas en la lámina foliar, su distribución y número.

**Palabras clave:** Lycopodiáceas, trofofilos, esporofilos, estomas.

## Summary.

A comparative study of stomates was made, both in sporophylles and trophophylles of *Huperzia selago* (L.) Bernh ex Schrank & Mart., *Lycopodium annotinum* L., *Lycopodium clavatum* L., *Diphasiastrum alpinum* (L.) Holub and *Lycopodiella inundata* (L.) Holub, giving new data about the localization of stomates on the foliar lamina, their distribution and number.

**Key words:** Lycopodiaceae, trophophylles, sporophylles, stomata.

## INTRODUCCION.

Al abordar el estudio de las epidermis de las lycopodiáceas ibéricas pudimos comprobar que en trabajos anteriores llevados a cabo por Wilce (1965), Rolleri (1972), Parihar (1977), Thomas & Masarati (1982), Rolleri & Deferrari (1986) y Ollgaard (1987) se ofrecen datos parciales sobre las epidermis foliares. Chu (1974) realiza una revisión más completa, analizando 31 táxones entre los cuales se encuentran las especies que nosotros estudiamos, pero sus resultados sólo coinciden en parte con los que hemos obtenido.

## MATERIAL Y METODOS.

El material estudiado procede tanto de herbario como de recolecciones realizadas por nosotros, de las que la mayor parte se incluyó en conservador, prensándose una pequeña muestra que quedó depositada en el herbario VF. En la addenda 1 se relaciona el material consultado.

El conservador utilizado es una mezcla a partes iguales de alcohol-glicerina-agua que en tiempos cortos proporciona buenos resultados.

El material procedente de herbario se rehidrató colocándolo en agua caliente con unas gotas de detergente hasta lograr su total expansión, lavándolo a continuación en abundante agua corriente.

Para las observaciones al microscopio óptico se procedió al aclarado del material mediante una solución de NaOH al 3 % a temperatura ambiente hasta la desaparición de cualquier resto de coloración (entre 8 y 12 horas). Tras sucesivos lavados, neutralización con ácido acético al 1 % durante unos segundos y nuevos lavados en agua corriente se procedió a la tinción. Los colorantes utilizados fueron safranina-verde rápido. El material se introdujo en la solución de safranina durante 12-24 horas eliminándose el exceso de colorante, y tras deshidratar con alcohol de 96 % se procedió a la tinción con verde rápido durante unos segundos. Los tiempos dependen del material y hay que vigilar todo el proceso para evitar una tinción excesiva o que el verde rápido enmascare la coloración de los refuerzos cutinizados de los estomas o del xilema.

Para la observación al microscopio electrónico de barrido se utilizó el procedimiento habitual (punto crítico-recubrimiento con oro-paladio). En algunas ocasiones se utilizó un baño de ultrasonidos para eliminar partículas o hifas adheridas que dificultaban la visualización de los estomas (Lam.3:H-I). El tiempo de inmersión en el baño osciló entre 10 y 20 minutos.

Para el estudio de los cinco táxones ibéricos se tomaron al menos diez muestras de cinco poblaciones, tanto de los esporofilos como de los trofofilos, diferenciando en este caso si se trataba de trofofilos del vástago erecto o del rastrero. En el caso de *Lycopodium annotinum* hubo que especificar si los trofofilos del tallo rastrero eran los que estaban en contacto con el suelo o los situados en la zona superior.

De las observaciones realizadas se pudo concluir que las cinco especies muestran estomas del tipo anomocítico, aunque con diferentes pautas en su distribución: sobre toda la lámina, en los márgenes, en la zona apical, sobre el nervio. Por este motivo la utilización del índice estomático no es posible ya que no hay homogeneidad a la hora de elegir áreas patrón para el recuento de estomas. Así pues, de todas estas micrófilas se calculó el área y se efectuaron recuentos totales de los estomas del haz y del envés. Con estos datos obtuvimos el número de estomas por milímetro cuadrado para cada superficie de la micrófila.

## RESULTADOS.

En la tabla 1 se ofrece una síntesis de los resultados obtenidos para cada una de las especies estudiadas.

*Huperzia selago* (Fig.I:1) (Lam.1:A-E) apenas muestra diferencias morfológicas entre los trofofilos y esporofilos, distribuyéndose los estomas en la lámina foliar de modo que dejan libre la zona epinervial, los márgenes y el ápice.

Hay que hacer notar que se han observado estomas en haz y envés en los trofofilos de *Lycopodium annotinum* (Fig.I:4,5) (Lam.1:F-I) y no en los márgenes de los mismos, a diferencia de lo expuesto por Chu (1974), que señala la existencia de estomas en los márgenes y únicamente en la cara abaxial de los trofofilos. Asimismo indica que no encuentra estomas en los márgenes en *Lycopodium clavatum* (Fig.I:2,3) (Lam.2:A-E), mientras que nosotros los hemos hallado en el envés de los trofofilos de los tallos erecto y rastrero y en el haz de los trofofilos del tallo rastrero.

		AREA (mm <sup>2</sup> )		N° ESTOMAS $\bar{x}$	$\bar{x}$ ANCHURA ESTOMAS ( $\mu$ )		DENSIDAD N° ESTOMAS/MM <sup>2</sup>	PRESENCIA ESTOMAS		
					EJE POLAR	EJE ECUATORIAL		APICE	NERVIO	MARGEN
<i>Huperzia selago</i>	ESPOROFILO	8,00	H	66,9	46,05	35,10	8,24	-	-	-
			E	45,6	50,45	37,7	5,70	-	-	-
	TROFOFILO TALLO ERECTO	8,00	H	85,6	50,9	38,9	10,70	-	-	-
			E	154,4	50,6	38,5	19,3	-	-	-
	TROFOFILO TALLO RASTRERO	8,00	H	80,8	48,8	34,1	10,10	-	-	-
			E	128,8	52,2	34,1	16,10	-	-	-
<i>Lycopodium clavatum</i>	ESPOROFILO	6,77	H	41,1	32,1	22,9	6,07	-	+	-
			E	35,7	35,3	25,6	5,27	-	+	-
	TROFOFILO TALLO ERECTO	2,12	H	74,7	29,5	26,5	35,23	-	+	-
			E	33,8	30,3	24,1	15,94	-	+	+
	TROFOFILO TALLO RASTRERO	2,85	H	76,5	39,1	23,4	26,84	-	+	+
			E	62,9	36,2	29,7	22,07	-	+	+
<i>Lycopodium annotinum</i>	ESPOROFILO	5,65	H	12,1	40,01	23,15	2,14	-	+	-
			E	0	0	0	0	-	-	-
	TROFOFILO TALLO ERECTO	3,76	H	31,4	27,8	26,45	8,35	-	+	-
			E	91,7	35,1	30,05	24,38	-	+	-
	TROFOFILO TALLO RASTRERO†	3,40	H	97,2	31,2	25,7	28,58	-	+	-
			E	45,3	44,1	27,4	13,32	-	+	-
<i>Lycopodiella inundata</i>	ESPOROFILO	7,65	H	114,8	40,5	29,1	14,90	+	+	+
			E	114,7	42,05	31,8	14,99	+	+	+
	TROFOFILO TALLO ERECTO	2,48	H	164,2	38,6	31,7	66,21	+	+	+
			E	173,9	40,2	31,1	70,12	+	+	+
	TROFOFILO TALLO RASTRERO	1,31	H	130,7	38,5	29,2	99,77	+	+	+
			E	141,1	25,1	17,7	107,71	+	+	+
<i>Diphysastrum alpinum</i>	ESPOROFILO	3,29	H	38,3	40,5	23,7	11,64	-	+	-
			E	0	0	0	0	-	-	-
	TROFOFILO TALLO ERECTO	1,32	H	52,1	39,7	30,6	39,46	-	+	-
			E	0	0	0	0	-	-	-
	TROFOFILO TALLO RASTRERO	0,61	H	51,2	43,9	35,3	83,93	-	+	-
			E	0	0	0	0	-	-	-

Tabla 1. Síntesis de los principales valores obtenidos en el estudio de los estomas de cada una de las especies que se han tratado.

En *Lycopodiella inundata* (Fig.I:9,10,11) (Lam.2:F-I) los estomas están situados tanto en el haz como en el envés de las microfilas, disponiéndose en la totalidad de la lámina, siendo la única especie estudiada que muestra estomas en el ápice.

*Diphasiastrum alpinum* (Fig.I:6,7,8) (Lam.3:A-I) no presenta estomas en el envés de sus trofófilos rastreros ni de sus esporófilos. Las microfilas en los vástagos aéreos, que toman una morfología aplanada, son decurrentes. En las zonas libres de los trofófilos los estomas se disponen en la cara adaxial y en las bases foliares soldadas al tallo en lo que correspondería a la zona abaxial, pero no en la zona libre de la lámina.

## CONCLUSIONES.

Los resultados conseguidos (ver tabla 1) no coinciden en su totalidad con los obtenidos por los autores anteriormente citados.

Las especies que muestran mayores diferencias con la distribución estomática dada por Chu (1974) son *Lycopodium annotinum* cuyas microfilas son anfiestomáticas y no hipostomáticas, no mostrando nunca estomas en los márgenes, y *Lycopodium clavatum* cuyos estomas alcanzan los márgenes en el envés de los trofófilos de los vástagos erecto y rastrero así como en el haz de los del último.

Mientras en otros géneros con microfilas, por ejemplo *Selaginella* los esporófilos son trofoesporófilos, en los licopodios los esporófilos pronto pierden la clorofila y dejan de funcionar como hojas; no son por tanto trofoesporófilos sino esporófilos y presentan una densidad estomática menor que los trofófilos en los cinco táxones estudiados.

Los trofófilos de los vástagos erectos presentan mayor número de estomas en el haz que en el envés en *Huperzia selago*, *Lycopodium clavatum* y *Lycopodiella inundata*, mientras que en *Lycopodium annotinum* ocurre al contrario.

En cuanto a los trofófilos de los vástagos rastreros, presentan mayor número de estomas en el haz en *Lycopodium clavatum* y en *Lycopodiella inundata*, en tanto que en *Huperzia selago* y en *Lycopodium annotinum* su número es mayor en el envés.

La disposición de las microfilas en los vástagos aéreos de *Diphasiastrum alpinum* es desviante respecto del resto de licopodios estudiados, no siendo por tanto comparables. De acuerdo con Wilce (1967) los estomas se encuentran situados en la zona libre de la cara adaxial de las microfilas, actuando la totalidad de la ramita como una simple hoja (Fig.I:7).

*Lycopodiella inundata* presenta una densidad estomática mayor que el resto de los táxones estudiados. La transpiración se ve favorecida por el elevado número de estomas, lo que contribuye a la movilización de nutrientes y con ello al rápido desarrollo anual de esta planta a partir de los ápices de crecimiento del rizoma que es lo único que permanece vivo, aunque durmiente, de este licopodio. Sus necesidades hídricas están plenamente satisfechas, dado que coloniza los bordes de turberas y suelos higroturbosos decapitados o iniciales.

En cuanto al resto de los licopodios, presentan una ecología similar entre ellos con pequeñas variaciones que no parecen afectar a la densidad estomática, mostrando unas cifras semejantes en el número total de estomas aunque no en la disposición de los mismos.

---

### Nota sobre la escala de las láminas 1-3.

La escala que acompaña a \_ \_ \_ \_ \_ corresponde a 100  $\mu$ . \_ \_ \_ \_ \_ corresponde a 1000  $\mu$ .

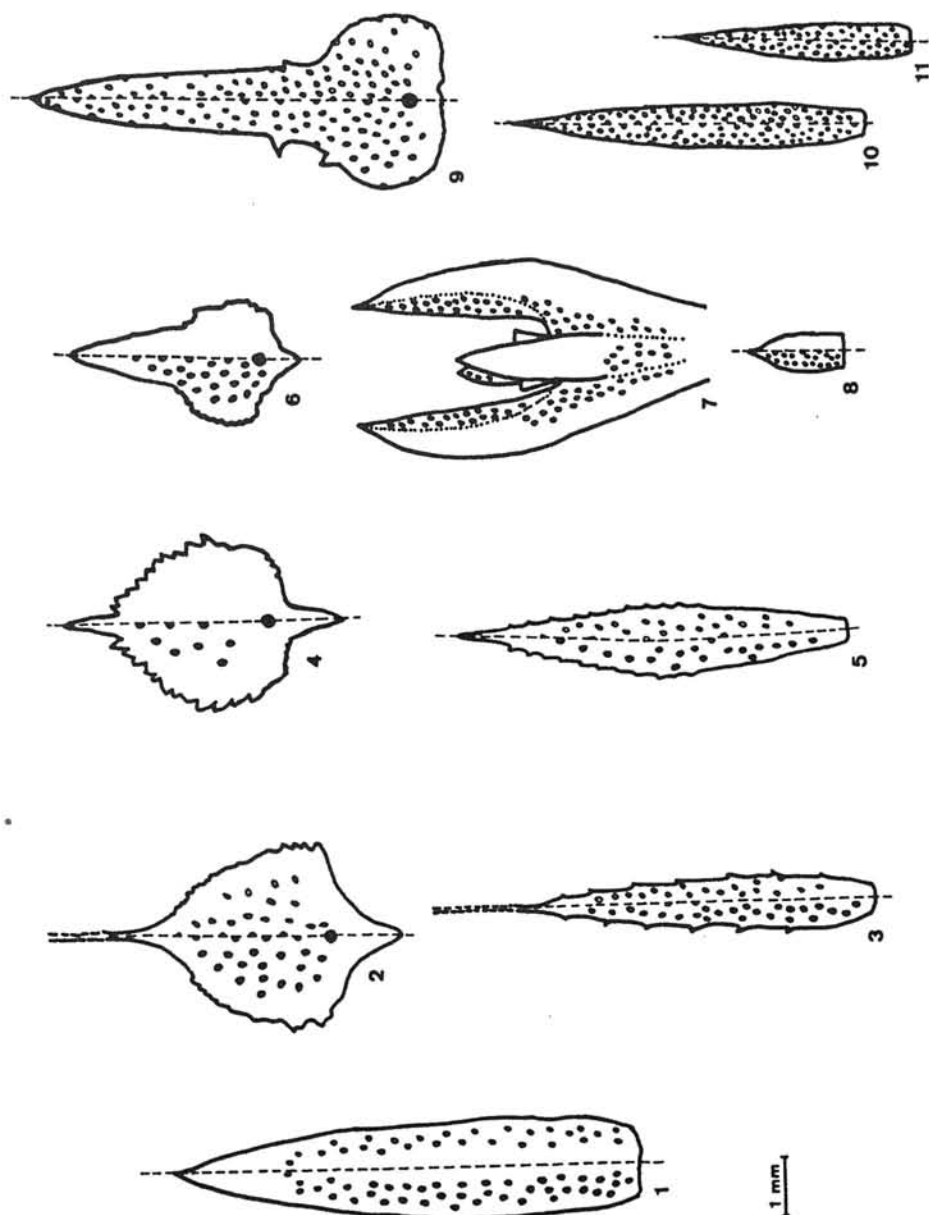


Fig. 1. Distribución de los estomas en las microfílas.

1: *Huperzia selago*: Esporofilo/Trofofilo.

2-3: *Lycopodium clavatum* (arista representada con trazo discontinuo). 2: Esporofilo. 3: Trofofilo.

4-5: *Lycopodium annotinum*. 4: Esporofilo. 5: Trofofilo.

6-7-8: *Diphasiastrum alpinum*. 6: Esporofilo. 7: Vástago erecto (porción).

8: Trofofilo vástago rastrero.

9-10-11: *Lycopodiella inundata*. 9: Esporofilo. 10: Trofofilo vástago erecto. 11: Trofofilo vástago rastrero.

En las microfílas dibujadas se ha representado a la izquierda el haz, con los estomas sombreados, y a la derecha el envés, con los estomas perfilados.



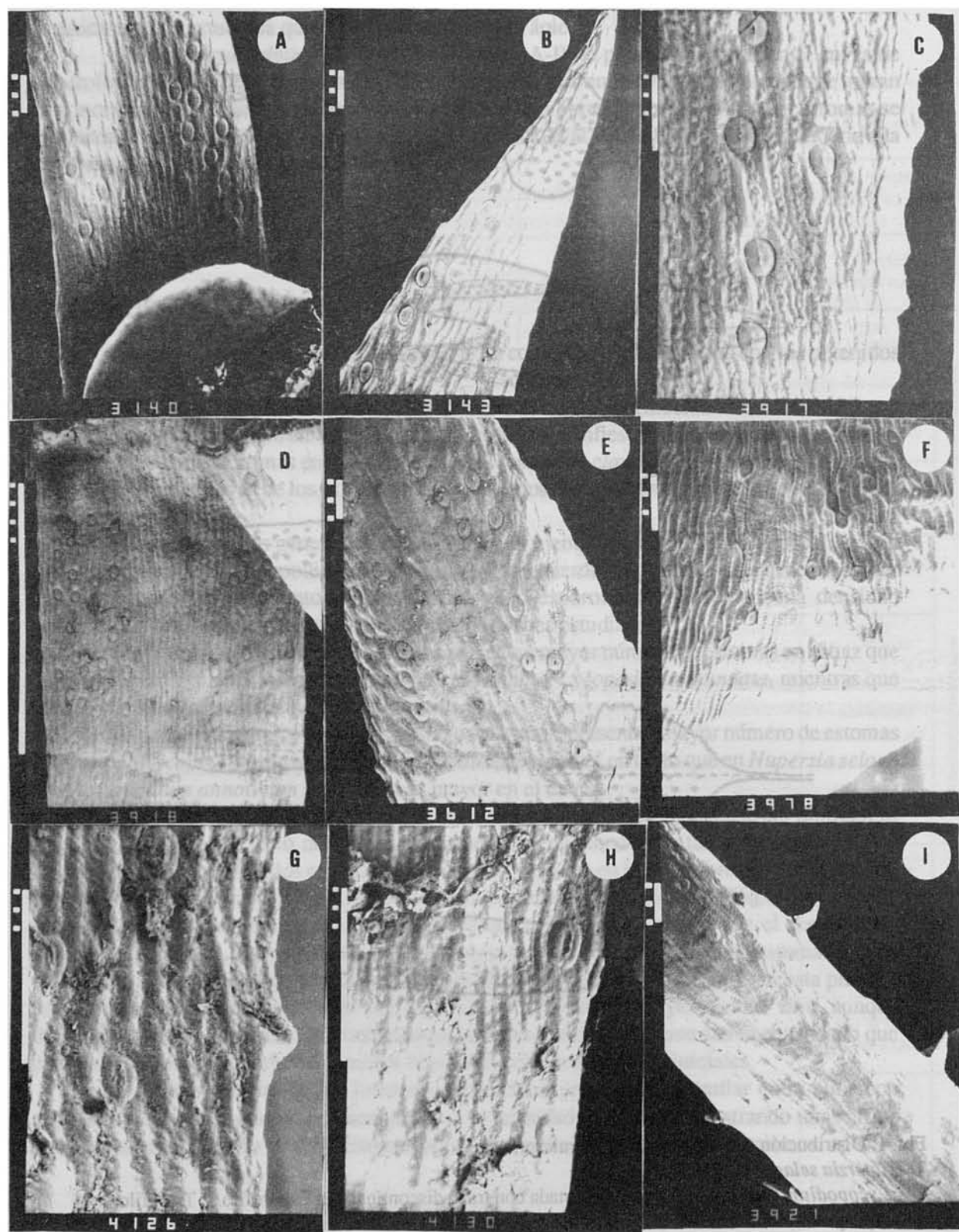


Lámina 1.

**A-E: *Huperzia selago*** . A: Esporofilo: haz. B: id : ápice. C: Trofofilo vástago erecto: envés, zona marginal. D: id : base foliar. E: Trofofilo vástago rastrero: haz, zona media.

**F-I: *Lycopodium clavatum*** . F: Esporofilo: envés, zona marginal. G: Trofofilo vástago erecto: haz. H: id : envés. I: Trofofilo vástago rastrero: envés, zona media.

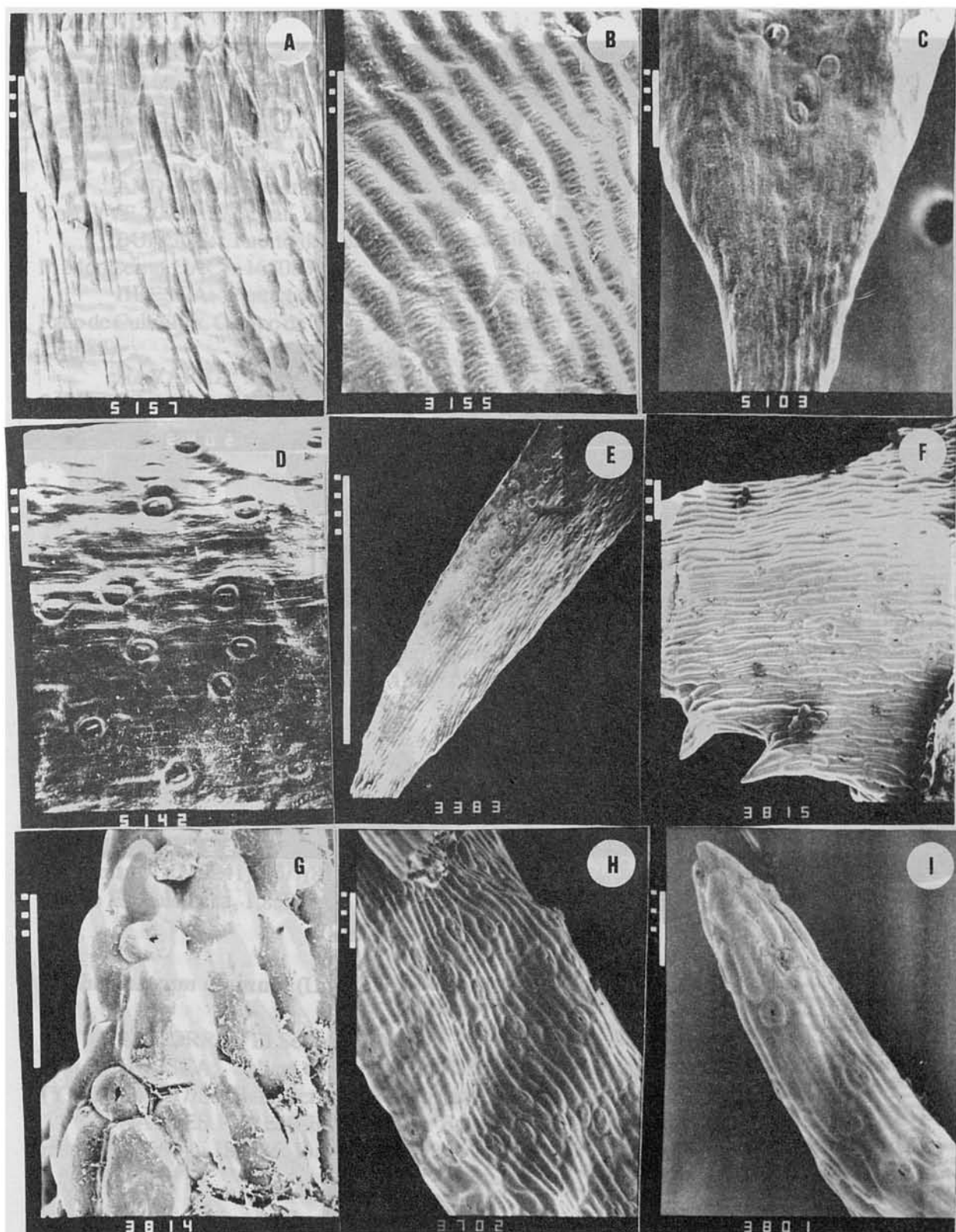


Lámina 2.

**A-E: *Lycopodium annotinum*.** A: Esporofilo: haz. B: id : envés. C: Trofófilo vástago erecto: haz. D: id : envés. E: Trofófilo vástago rastro: haz.

**F-I: *Lycopodiella inundata*.** F: Esporofilo: envés. G: id : zona marginal basal. H: Trofófilo vástago erecto: haz zona basal. I: Trofófilo vástago rastro: ápice.

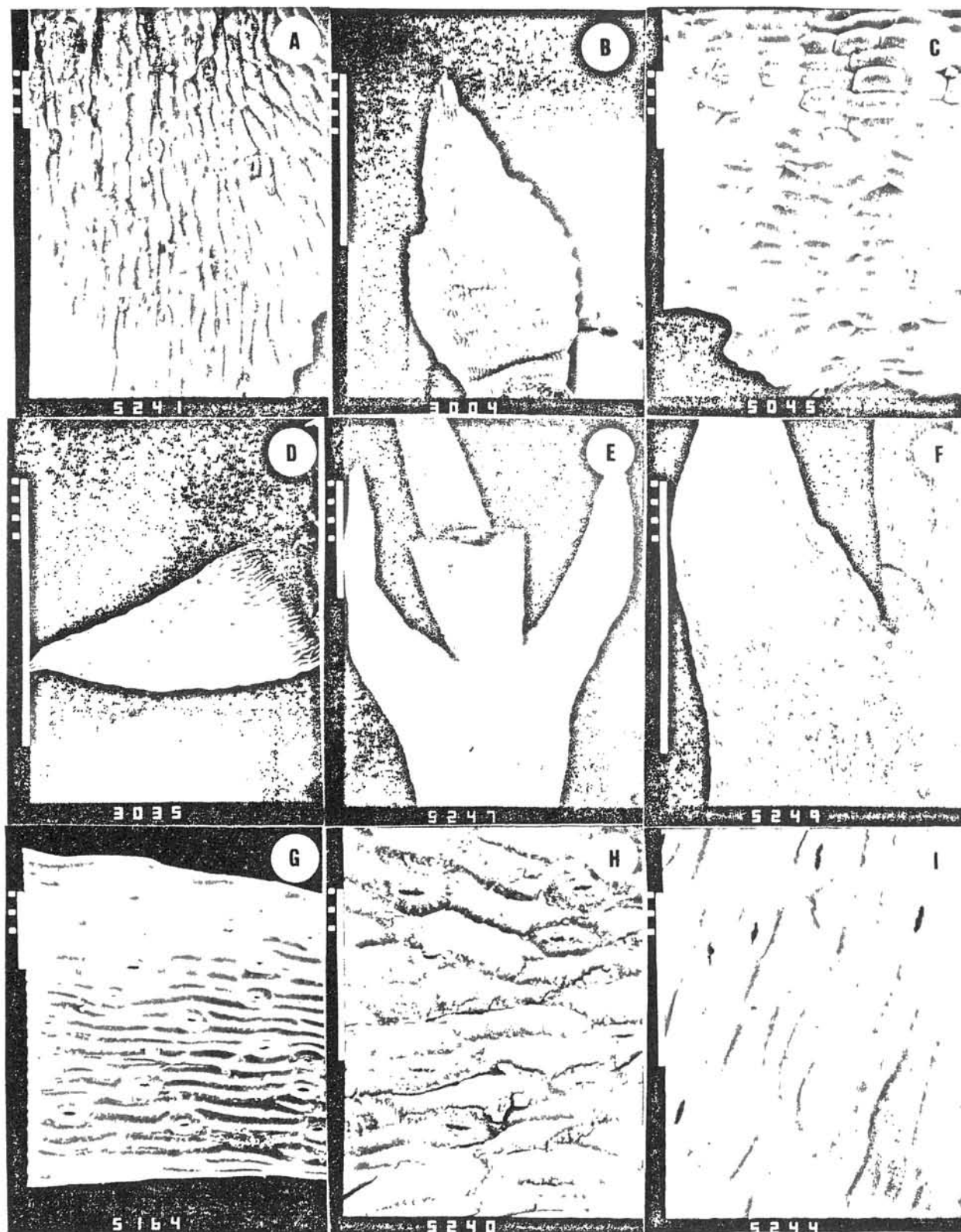


Lámina 3.

**A-I:** *Diphasiastrum alpinum*. A: Esporofilo: haz zona media. B: id : envés. C: id : envés zona media. D: Trofofilo vástago erecto: haz. E: Vástago erecto: porción del mismo. F: id : inserción de la microfila. G: Trofofilo vástago rastrero: haz zona media. H: Esporofilo: haz (sin tratar con ultrasonidos). I: id : haz (tratado con ultrasonidos).



**ADDENDA I*****Huperzia selago* (L.) Bernh. ex Schrank & Mart.**

ANDORRA: Por encima del lago Tristaina. 2.400 msm. 27/8/70. Rivas-Martínez & Costa (VF 2009). El Serrat. 2.200 msm. (CH 75 21). 13/9/81. Villar (VF 6235).

BURGOS: Puerto de Lunada. Pie de cantil calizo. 1.360 msm. (VN 47 80). 20/6/83. P. Montserrat (JACA 163083).

HUESCA: Panticosa. 9/82. Villar, Stübing & Iranzo. (VF 6253). Sallent de Gállego, Paco de Culivillas. Campo de Troya. 1.950-2.000 msm. (YN 1138-1238). 25/8/83. Villar (JACA 253083).

NAVARRA: Macizo de Cincovillas, base del cantil norte de Mendaur. 1.100 msm. (XN 0479). 23/7/84. J. Balaguer & A. M. Ibars (VF 13772). Ibidem (VF 13773). Isaba. Karst con pino negro. Solanas y umbrías calizas. 1.700-1.900 msm. (XN 8157-8257). 12/7/83. L. Villar et al. (JACA 204783).

***Lycopodium annotinum* L.**

ANDORRA: El Serrat. Carretera de la Cabaña de Abarsetar d'Arcalís. 1.900 msm. 8/8/78. Villar (VF 06231).

HAUTES PYRENEES (Francia): Entre Lac de Cap de Long y Lac d'Orédon. (BH 6644). 28/7/84. Ibars & Balaguer (VF 13777); Ibidem 18/9/86, Ibars, Iranzo, Leal & Vilar. (VF 14042).

***Lycopodium clavatum* L.**

HUESCA: Canfranc. 9/81. Villar, Stübing & Iranzo. (VF 6251); Ibidem Somport, 1.650 msm. (YN 0241), 25/7/84 Ibars (VF 13774); Ibidem Sallent de Gállego, proximidades del arroyo Espeluciecha, 1.850 msm. (YN 1041) 25/7/84 Ibars & Balaguer (VF 13775).

***Diphasiastrum alpinum* (L.) Holub**

ANDORRA: El Serrat. 2.000 msm. (CH 7621) 13/9/81. Villar (VF 6254).

HUESCA: Sallent de Gállego. Proximidades del Barranco de Culivillas. 1.800 msm. (YN 1139) 27/7/84. Balaguer, Villar & Ibars (VF 13776).

HAUTES PYRENEES (Francia): Entre Lac de Cap de Long y Lac d'Orédon. 2.100 msm. (BH 6644). 18/9/86. Ibars, Iranzo, Leal & Vilar (VF14041).

***Lycopodiella inundata* (L.) Holub**

SALAMANCA: Emplazamientos hidroturbosos junto a la pista de El Maíllo a Monsagro. 15/8/78. Rico (VF 08002). Ibidem 24/9/81 Ladero & Valle (VF 6252); Ibidem 29/9/84 Ibars, Iranzo, Verdú & Vilar (VF 13795).

**BIBLIOGRAFIA.**

- CHU, M. C. (1974). A comparative study of the foliar anatomy of *Lycopodium* species. *Amer. J. Bot.*, 61 (7): 681-692.
- OLLGAARD, B. (1987). A revised classification of the Lycopodiaceae s. lat. *Opera Bot.*, 92: 155-173.
- PARIHAR, N. S. (1977). *The biology and morphology of the Pteridophytes*. Central Book Depot. Allahabad. 660 pp.
- ROLLERI, C. (1972). Morfología comparada de las especies de *Lycopodium* (Lycopodiaceae-Pteridophyta) del noroeste argentino. *Rev. Mus. La Plata (N. S.) Bot.*, 12 (68): 223-317.
- ROLLERI, C. & A. M. DEFERRARI. (1986). Modelos epidérmicos y otros caracteres foliares en la sistemática y ecología de *Lycopodium* L. sección *Crassistachys* Herter. *Rev. Mus. La Plata (N. S.) Bot.*, 14 (91): 65-87.
- THOMAS, B. A. & D. L. MASARATI. (1982). *Cuticular and epidermal studies in fossil and living lycophytes. The Plant Cuticle*. Academic Press, pp. 363-378.
- WILCE, J.H. (1965). Section *Complanata* of the genus *Lycopodium*. *Beih. Nova Hedwigia*, 19: 1-233.