

**RELACIÓN ENTRE ASPECTOS ANATÓMICOS DEL PECÍOLO DE
CROTALARIA JUNCEA L. (FABACEAE) Y EL MOVIMIENTO NÁSTICO
FOLIAR****María Ferrarotto y Damelis Jáuregui***Instituto de Botánica Agrícola, Facultad de Agronomía, Universidad Central de Venezuela. Maracay, Aragua, Venezuela. Apdo. postal 4579.**Correo electrónico: ferrarotom@agr.ucv.ve, jaureguid@agr.ucv.ve***RESUMEN**

Se estudiaron las características estructurales del pecíolo en hojas de *Crotalaria juncea* L. y su relación con el movimiento nictinástico foliar a fin de describir aspectos anatómicos relacionados con este fenómeno, ya que esta especie carece de pulvínulos. Secciones a mano alzada de los extremos proximal y distal del pecíolo fueron obtenidas de hojas en máxima expansión en posiciones contrastantes (vertical y horizontal), de plantas de 35 y 46 días de edad. Dichas secciones se tiñeron con azul de toluidina y se observaron al microscopio óptico. Se encontraron diferencias principalmente a nivel de la región cortical del extremo distal del pecíolo entre hojas en posición abierta (horizontal) y cerrada (vertical) tales como variaciones en el contorno celular, disposición de las células y volumen. Los cambios de volumen en las células de esta región podrían ser un indicador de que en la especie estudiada el movimiento nictinástico ocurre en respuesta a cambios en el turgor celular durante la sucesión día-noche.

Palabras clave: *Crotalaria juncea*, nictinastia, anatomía, pecíolo.

ABSTRACT

Structural characteristics of the petiole of *Crotalaria juncea* L. were studied in order to describe anatomical features related to the phenomenon of nyctinastic movement in the absence of a pulvinus. We examined fully expanded, completely erect leaves from 35- and 46-day-old plants. Free-hand sections were made at the proximal and distal ends of petioles, stained with toluidine blue and observed with light microscopy. Differences in cellular contour, cell disposition and volume were observed mainly in the cortical region of the distal end in open and closed leaves. Changes in volume of cells in this region should indicate that for the species studied foliar nyctinastic movement occurs in response to changes in cell turgor during the day-night sequence.

Key words: *Crotalaria juncea*, nyctinasty, anatomy, petiole.

INTRODUCCIÓN

Las nastias pueden ser definidas como movimientos inducidos en la planta por estímulos externos independientemente a su dirección. Tal es el caso de la nictinastia, fotonastia y termonastia. En cada una

de ellas la respuesta origina un cambio de posición en el órgano que la presenta. La nictinastia foliar se refiere a un cambio en la posición de las hojas en respuesta a la sucesión día-noche. En las plantas que presentan movimientos nictinásticos las hojas o folíolos se disponen en posición vertical (cerradas) quedando orientadas paralelas al tallo durante la noche y en dirección horizontal (abiertas) en el día (Salisbury y Ross, 1994, Barcello-Coll *et al.* 1987).

Aun cuando el movimiento nictinástico foliar es poco descrito en la literatura, la ocurrencia de este fenómeno ha sido usada inclusive, como herramienta auxiliar en la delimitación taxonómica de determinados géneros dentro de la tribu Phaseoleae (Papilionoideae), como: *Vatairea* Aubl., *Luetzelburgia* Harás, *Sweetia* Spreng., *Poecilanthus* Benth. y *Cyclolobium* Benth. (Schütz Rodríguez y Acevedo Tozzi, 2007).

El movimiento nástico foliar tiene su sede en el pulvínulo que es una estructura especializada sensible a los estímulos ambientales, capaz de controlar el movimiento de hojas y folíolos en muchas plantas (Esau, 1965). Por lo que en la especie en estudio, se esperaría que las células que conforman el pulvínulo tengan características particulares que faciliten tanto su cambio de forma, como el flujo de iones, lo cual en conjunto regularía el movimiento foliar.

Aun cuando el pecíolo de *Crotalaria juncea* carece de pulvínulo, el movimiento foliar que presenta es tan amplio como el de *Robinia pseudoacacia* L. (180°) a diferencia de otras Fabaceae como *Albizzia julibrissin* Durass. (90°) (Moysset y Simón, 1991).

La nictinastia se presenta frecuentemente en hojas pinnadas, sobre todo en fabáceas, tal

es el caso de *Albizzia julibrissin*, *Samanea saman* (Jacq.) Merr., *Phaseolus vulgaris* L. y *Robinia pseudoacacia*. Otras especies como *Mimosa pudica* L. exhiben un rápido movimiento inducido por estímulos mecánicos (seismonastia) y una lenta nictinastia, pudiendo responder también a la gravedad (Fleurat-Lessard, 1981). En esta familia el movimiento se produce por la acción de células motoras especializadas en el pecíolo, los cuales se curvan debido a cambios osmóticos (Moysset y Simón, 1991).

Otros investigadores atribuyen el movimiento nictinástico a la ocurrencia de cambios rítmicos en el volumen de las células debido a las acuaporinas (Tyerman *et al.*, 1999). Estas proteínas ejercen una función importante en la redistribución del agua durante el movimiento del pulvínulo en *Samanea saman* el cual a su vez es regulado por ritmos diurnos y circadianos (Kaldenhoff, 2002).

Afirmaciones similares se realizan para la tasa y duración de la nictinastia en folíolos de *Albizzia julibrissin*, la cual es regulada por ritmos circadianos y el fitocromo (Satter *et al.*, 1970). Los movimientos resultan de cambios simultáneos y coordinados en el volumen de las células corticales a ambos lados del pulvínulo. El hinchamiento de las células externas y la plasmólisis de las células flexoras dan como resultado la posición vertical de la hoja, mientras que en la posición horizontal ocurre lo contrario. Cambios en el contenido de solutos de las células motoras traen como consecuencia el flujo osmótico del agua, el cual es gobernado por las bombas de protones; por lo que el pulvínulo se ha transformado en un modelo para el estudio de regulación a nivel de membrana debido al flujo transcelular masivo de agua e iones, su gran tamaño y

factibilidad de manipulación (Moshelion *et al.*, 2002).

El género *Crotalaria* está representado en Venezuela por quince especies, muchas de ellas introducidas principalmente por actividades relacionadas con labores agrícolas (Matos, 1959). De las quince especies, *C. stipularia* Desv., *C. pilosa* Mill., *C. spectabilis* Roth, *C. retusa* L., *C. juncea*, *C. velutina* Benth., *C. nitens* Kunth y *C. acutiflora* Benth., presentan hojas simples, mientras que *C. purdiana* H. Senn, *C. pumila* Ortega, *C. incana* L., *C. mucronata* Desv., *C. vitellina* Ker Gawl., *C. anagyroides* Kunth y *C. maypurensis* Kunth, presentan hojas trifolioladas (Matos, 1959).

En el caso de la presente investigación se estudió *Crotalaria juncea* L. que es una planta tropical erecta, originaria de la India, de hojas simples, subsésiles, lineales o linear-oblongas hasta aovado-lanceoladas, agudas, de 3-9 cm de largo por 0.7-2.5 cm de ancho (Matos, 1959, Chee y Chen, 1992) que carece de pulvínulo. Es una planta de día corto, aunque su crecimiento vegetativo es favorecido por días largos; sin embargo, en estas condiciones el llenado de las semillas puede ser pobre (Duke, 1983).

Esta especie se ha distribuido hacia regiones tropicales y subtropicales donde se cultiva por su rápido crecimiento y abundante contenido en fibras (las que son más resistentes que el yute) y para su uso como abono verde y forraje fresco o seco a manera de heno (Duke, 1983). Otros usos señalados para este cultivo son el control de malezas y nemátodos (Rotar y Joy, 1983, Daimon *et al.*, 1995).

Observaciones *in situ* indican que *Crotalaria juncea* presenta movimientos nicti-

násticos aun cuando sus hojas son simples, subsésiles y carecen de pulvínulos, por lo que la presente investigación tiene como objetivo estudiar la anatomía del pecíolo y su posible relación con el movimiento nictinástico foliar.

MATERIAL Y MÉTODOS

Plantas de *C. juncea* fueron obtenidas a partir de semillas colectadas en San Javier, estado Yaracuy, Venezuela. Éstas se sembraron a chorro corrido en tres hileras de 4.30 m en un cantero de 1.33 m³ de suelo serie Maracay, de textura franco-arenosa y 0.77% de materia orgánica, ubicado en el Instituto de Botánica Agrícola de la Facultad de Agronomía de la Universidad Central de Venezuela (10° 15' latitud norte y 67° 20' longitud oeste, a 450 m.s.n.m.). A los 10 días después de la siembra (dds) se entresacaron dejando 20 cm entre plantas. A los 35 dds, a las 14:30 horas, se muestrearon hojas en posición horizontal (abiertas), del tercio medio de tres plantas colectando los pecíolos de los nudos 12, 13, 14 y 15 enumerados en sentido ápice-base. A partir de los 45 dds, desde las 18:30 y el resto de horas nocturnas se observó la ocurrencia de movimiento nictinástico razón por lo cual las hojas se orientaron paralelas al tallo (verticales o cerradas) exhibiendo su cara abaxial. En este momento se tomaron los pecíolos de las hojas ubicadas en los nudos 18 al 25 numerados en sentido ápice-base.

Todas las secciones de pecíolos se tomaron de tres plantas distintas tanto en horas diurnas como nocturnas, se fijaron en FAA y posteriormente se obtuvieron secciones a mano alzada de la región proximal y distal del pecíolo respecto al limbo foliar, las cuales se tiñeron con azul de toluidina acuosa

(0.5%) y se montaron en agua-glicerina (1:1), realizando láminas semipermanentes para su observación y fotografiado en un microscopio óptico *Nikon E-200* con cámara digital *Evolution LC*.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Morfología de pecíolo

Las hojas de *C. juncea* son subsésiles presentando un pecíolo relativamente cilíndrico de 2-4 mm de largo y 1-1.5 mm de diámetro, con contorno regular. El mismo presenta una ligera variación morfológica en la superficie ventral, siendo ligeramente convexo en la porción proximal a la lámina foliar y ligeramente cóncavo en la porción distal (Fig. 1).

Aspectos anatómicos del pecíolo

El sistema dérmico del pecíolo está constituido por una epidermis uniestratificada con células de contornos cuadrangulares en sección transversal y paredes externas levemente convexas con cutícula ornamentada (Figs. 2 y 3), y presencia de numerosos tricomas unicelulares, de ápice agudo con paredes gruesas principalmente hacia la base de los mismos.

Al comparar las porciones adaxial y abaxial, en las regiones proximal y distal del pecíolo, de hojas en posición horizontal (abiertas) con paralelas al tallo (cerradas) se observaron diferencias anatómicas en la zona cortical.

a) Región proximal adaxial de hojas abiertas: formada por 12-14 capas de células, de diferentes tamaños, las más externas con paredes relativamente gruesas y con su eje

mayor orientado radialmente (Fig. 4a), al igual que las de la zona media (Fig. 4b), pero en este caso las paredes más delgadas, mientras que aquellas próximas al haz vascular son más pequeñas, de paredes también delgadas pero con su eje mayor orientado tangencialmente (Fig. 4c).

b) Región proximal abaxial de hojas cerradas: las células mostraron contornos relativamente poligonales (Fig. 4d), casi en toda la zona cortical.

c) Región proximal abaxial de hojas abiertas y cerradas: está constituida por nueve a diez capas de células, de contornos redondeados y de diferentes tamaños; las de mayor dimensión ubicadas en la zona media. Las células de la parte externa presentan paredes gruesas, mientras que en las más internas son delgadas.

d) Región distal adaxial de hojas abiertas y cerradas: constituida por ocho a 10 capas de células parenquimáticas, de contornos redondeados, las más externas de tamaños variables, con paredes relativamente gruesas, estas células se disponen principalmente con su eje mayor orientado radialmente en hojas abiertas (Fig. 2) o tangencialmente en las cerradas (Fig. 3). Las células ubicadas más internamente se observaron relativamente homogéneas en tamaño, de paredes más delgadas y con espacios intercelulares de mayor tamaño que las más externas.

e) Región distal abaxial de hojas abiertas y cerradas: en esta región se evidenciaron ocho capas de células, las más externas de contornos redondeados, relativamente uniformes en tamaño, de paredes gruesas, y el resto de contornos ovalados y de paredes más delgadas, orientadas con su eje mayor en el plano radial, en hojas abiertas. Rasgos

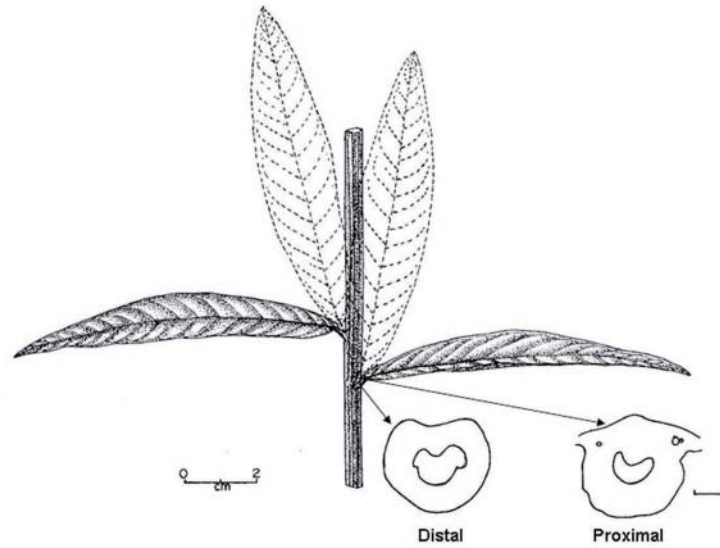


Fig. 1. Posición de las hojas en plantas de *Crotalaria juncea* L. abiertas durante el día (líneas continuas) y cerradas durante la noche (línea punteada). Se representa esquemáticamente la forma de la sección transversal del pecíolo en su región proximal y distal.



Fig. 2. Pecíolo de *Crotalaria juncea* L. en sección transversal, detalle de la región distal, en su cara adaxial, en una hoja abierta, nótese predominio de células con su eje mayor orientado radialmente.

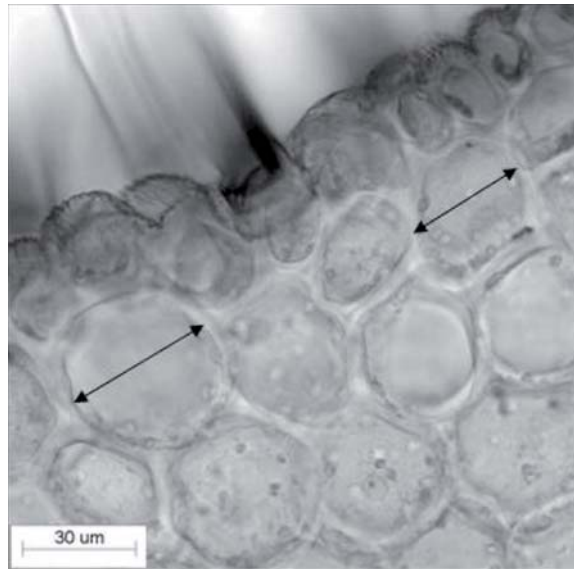


Fig. 3. Pecíolo de *Crotalaria juncea* L. en sección transversal, detalle de la región distal, en su cara adaxial, en una hoja cerrada, nótese predominio de células con su eje mayor orientado tangencialmente.

semejantes se presentan en hojas cerradas, pero las células adoptan formas poligonales y son menos voluminosas que sus homólogas en las hojas abiertas.

En la mayoría de las células corticales principalmente en aquellas próximas al tejido vascular, se observaron paredes con numerosos campos de punteaduras primarias (Fig. 4e). En estas células se esperaba la ocurrencia de flujo de iones que modificaría las condiciones osmóticas de las células facilitando la entrada y salida de agua. Ésta a su vez, modificaría el grado de turgor de las células involucradas en el movimiento nictinástico, causando el cambio de posición de las hojas. Sin embargo, la hora de ocurrencia del fenómeno indicó que además del turgor celular, la luz es un factor que influye en el movimiento.

El sistema vascular consta de un haz colateral, cerrado, en forma de arco, el cual es más pronunciado en la región distal que en la proximal, tanto en hojas abiertas como cerradas. Está ubicado en la porción central del pecíolo el cual está rodeado por dos o tres capas de células colenquimáticas, y por fuera de éstas una vaina amilífera (Fig. 4f). No se observaron fibras ni esclereidas asociadas al tejido conductor.

La presencia de colénquima limitando el haz conductor, así como la presencia de campos de punteaduras primarias y la ausencia de tejido esclerenquimático en *C. juncea* probablemente son formas de garantizar la continuidad simplástica entre la región cortical y el tejido vascular, tal como ha sido indicado por Machado y Rodrigues (2004), para otras especies.

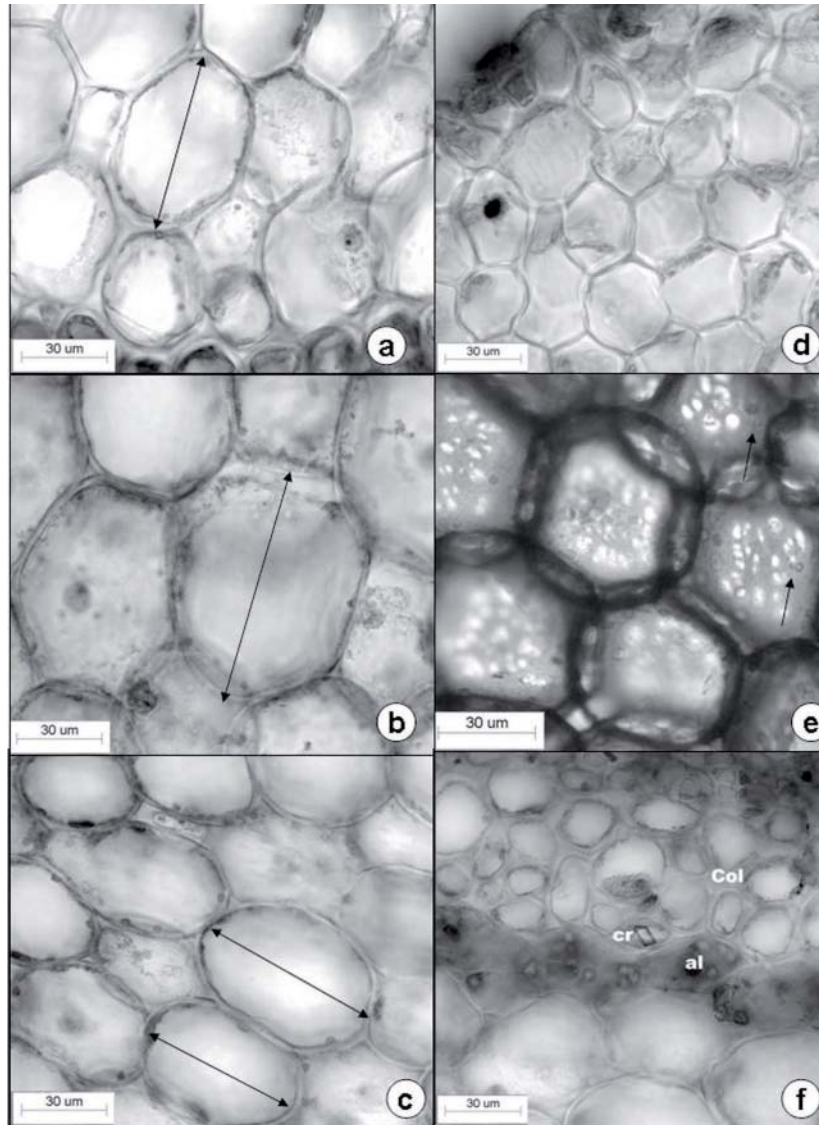


Fig. 4. Pecíolo de *Crotalaria juncea* L. en sección transversal. a-c. Detalles de la región proximal en su cara adaxial, en una hoja abierta, nótese orientación del eje mayor de las células (indicado con flechas), a. zona cortical externa, b. zona cortical media, c. zona cortical interna. d. Detalle de la región proximal del pecíolo en su cara adaxial, en una hoja cerrada, nótese contornos poligonales de células parenquimáticas. e. Detalle de células parenquimáticas adyacentes al sistema vascular, obsérvense campos de punteaduras indicadas con flechas. f. Detalle de la región proximal del pecíolo, en su cara abaxial, en una hoja extendida, obsérvese tejido colenquimático (Col), cristales (cr) y almidón (al).

La forma, los rasgos externos y las características histológicas del pecíolo de *C. juncea* son muy semejantes a las indicadas para el pulvínulo secundario de *Robinia pseudoacacia* (Moysset y Simón, 1991) y para el pulvínulo primario de *Pterodon pubescens* Benth. (Machado y Rodrigues, 2004). En los pulvínulos es común la presencia de una zona flexora y una extensora, la primera ubicada hacia la cara adaxial y la segunda hacia la abaxial, cuyos cambios celulares promueven el movimiento foliar.

En *C. juncea* se evidenciaron cambios tanto en la cara adaxial de las regiones distal y proximal del pecíolo, como en la región distal-cara abaxial, permaneciendo la cara abaxial de la zona proximal sin mayores modificaciones a pesar del cambio en posición de las hojas.

Al observar secciones de pecíolos de hojas abiertas, fue notorio el mayor volumen de las células con una clara expansión en el plano radial, mientras que, en hojas cerradas, las células presentaron menor volumen, llegando inclusive a modificar sus contornos debido a la pérdida de agua, cambiando de globosas a poligonales o expandiéndose en el plano tangencial.

Se ha indicado que la abundancia de compuestos fenólicos y escasez de granos de almidón en las células corticales externas son características distintivas de las células motoras en los pulvínulos. En las células del pecíolo de *C. juncea* no fueron evidentes compuestos fenólicos, los cuales se han reportado en vacuolas de células corticales de *Robinia pseudoacacia* (Moysset y Simon, 1991), *Mimosa pudica* y *Pterodon pubescens* (Machado y Rodrigues, 2004), no así en *Samanea* y *Albizia* (Satter *et al.*,

1970). La relación de estos compuestos con los movimientos nictinásticos no está clara, aunque se cree que intervienen en el almacenamiento y liberación de iones, especialmente el calcio, el cual está particularmente involucrado en la formación de los microfilamentos de actina en células motoras (Toriyama y Sató, 1971).

Respecto a los granos de almidón, fueron escasos en las células periféricas, pero abundaron en las proximidades del haz vascular en las dos regiones del pecíolo estudiadas, lo cual se ha observado también en el pulvínulo de otras especies, y se ha relacionado con la percepción de la gravedad (Machado y Rodrigues, 2004).

En las adyacencias del haz principalmente hacia la superficie abaxial, tanto en la región proximal como distal se observaron cristales (Fig. 4f). La deposición de cristales en las adyacencias del haz vascular, aunque escasos, ha sido asociada con la velocidad del movimiento, siendo lento en aquellas especies donde éstos se evidencian (Moysset y Simón, 1991).

Por lo antes descrito, puede concluirse que la especie *C. juncea* presentó nictinastia ascendente en la cual las hojas giran hacia arriba quedando paralelas al tallo, mostrando su cara abaxial. Aun cuando carece de pulvínulo, las células parenquimáticas de la región cortical del pecíolo exhibieron rasgos estructurales similares a aquellas reportadas en células homólogas de pulvínulos en otras especies. Estas células realizan funciones motoras y extensoras, lo cual indica que la diferenciación de un pulvínulo propiamente dicho no es un rasgo estrictamente necesario para que ocurra el movimiento nictinástico.

Por otra parte, sería interesante estudiar si otras especies de este género presentan movimientos nictinásticos y correlacionarlo con la existencia de pulvínulo o con la presencia de folíolos en hojas compuestas. Asimismo, es recomendable realizar estudios ultraestructurales en las distintas zonas descritas en este trabajo correlacionándolos con el estado hídrico de la planta a fin de definir otros caracteres que puedan estar involucrados en el movimiento nictinástico foliar.

LITERATURA CITADA

- Barcello-Coll, J., G. Rodrigo, B. Sabater y R. Sánchez, 1987. *Fisiología Vegetal*. Ediciones Pirámides S.A. Madrid. España. 818 pp.
- Chee, Y.K. & C.P. Chen, 1992. “*Crotalaria juncea* L.” In: ‘tMannetje, L & Jones, R. M. Eds: *Plant Resources of South-East Asia N°4. Forages*. Pudoc-DLO, Wageningen, the Netherlands. pp. 98-100.
- Daimon, H., S. Takada, M. Ohe & H. Mimoto, 1995. “Inter-specific differences in growth and nitrogen uptake among *Crotalaria* species”. *Jpn. J. Crop. Sci.*, **64**: 115-120.
- Duke, J.A., 1983. *Handbook of Energy Crops*. Unpublished. URL: <http://www.hort.Purdue.edu/newcrop/duke_energy/crotalaria_juncea.html#uses> 1983. [Consulta: 23 de Mayo de 2003].
- Esau, K., 1965. *Plant anatomy*. 2nd Ed., J. Wiley and Sons, New York, London, Sydney.
- Fleurat-Lessard, P., 1981. “Ultrastructural features of the starch sheath cells of the primary pulvinus after gravistimulation of the sensitive plant (*Mimosa pudica* L.)”. *Protoplasma*, **105**: 177-184.
- Kaldenhoff, R., 2002. “Plasma membrane aquaporins in the motor cells of *Samanea saman*”. *Plant Cell*, **14**: 727-739.
- Machado, S. & T. Rodrigues, 2004. “Anatomia e ultra-estrutura do pulvinulo primário de *Pterodon pubescens* Benth. (Fabaceae-Faboideae)”. *Rev. bras. Bot.*, **27**: 135-147.
- Matos, F.G., 1959. “El género *Crotalaria* en Venezuela”. *Mem. Soc. Cienc. Nat. La Salle*. pp. 213-233.
- Moshelion, M.D., A. Becker, N. Biela, R. Uehlein, B. Hedrich, H. Otto, N. Levi, N. Moran & R. Kaldenhoff, 2002. “Plasma membrane aquaporins in the motor cells of *Samanea saman*”. *Plant Cell*, **14**: 727-739.
- Moysset L.E. & E. Simón, 1991. “Secondary pulvinus of *Robinia pseudoacacia* (Leguminosae); structural and ultrastructural features”. *Am. J. Bot.*, **78**: 1467-1486.
- Rotar, P.P. & R.J. Joy, 1983. ‘*Tropic Sun*’ *sun hemp*, *Crotalaria juncea* L. College of Tropical Agr. and Human Resources, Institute of Tropical Agr. and Human Resources. Research Extension Series 036. University of Hawaii.

- Salisbury, F. y C. Ross, 1994. "Fisiología Vegetal". Editorial Iberoamericana. México. 759 pp.
- Satter, R., D. Sabnis & A. Galston, 1970. "Phytochrome controlled nyctinasty in *Albizia julibrissin*. I. Anatomy and fine structure of the pulvinule". *Am. J. Bot.*, **57**: 374-381.
- Schütz Rodrigues, R. & A. M. Goulart de Acevedo Tozzi, 2007. "Morfología de plántulas de cinco leguminosas genistóides arbóreas do Brasil (Leguminosae-Papilionoideae)". *Acta Bot. Bras.*, **21**:1-9.
- Toriyama H. & S. Sató, 1971. "On the contents of the central vacuole in the *Mimosa* motor cell". *Cytology*, **36**: 359-375.
- Tyerman SD., H.J Bohnert, C. Maurel, E. Steudle & J.A.C. Smith, 1999. "Plant aquaporins: their molecular biology, biophysics and significance for plant water relations". *J. Exp. Bot.*, **50**: 1055-1071.

Recibido: 17 marzo 2008. Aceptado: 17 junio 2008.