

HISTOLOGIA DE AGALLAS EN DOS ESPECIES DE VERBENACEAE (*)

EUCARIZ VILLAZON DE PINZON

Universidad Nacional de Colombia, Departamento de Biología. Apartado Aereo 23227. Bogotá, Colombia.

RESUMEN

El propósito de este trabajo es dar a conocer, mediante el estudio histológico del tallo en dos especies de Verbenaceae, los cambios morfológicos que sufren los tejidos vegetales, ocasionados por las larvas de los Artrópodos. Dichas larvas inducen y dirigen la morfogénesis de la agalla en su propio beneficio. A medida que la larva se nutre, la planta responde aumentando el número de células en el órgano parasitado.

SUMMARY

The purpose of this paper is to show, by the histological study of the stem of two different species of Verbenaceae, the morphological changes undergone by the plant tissues caused by the Arthropods' larvae. Such larvae induce and organize the morphogenesis of the gall for their own benefit. As the larva is nourished, the plant's responses is to increase the number of cells in the affected organ.

Palabras Claves: Agallas, Cecidias, Morfología Vegetal, Verbenaceae, *Aegiphila*.

INTRODUCCION

Las agallas o cecidios en las plantas se consideran como formaciones patológicas que se originan por la interacción mutua entre el agente inductor y la célula vegetal. En el caso de los Artrópodos (Cecidozoarios) la formación de la agalla está

directamente relacionada con sus hábitos alimenticios, es decir, condicionado a la estructura de su aparato bucal con el cual succionan el contenido citoplasmático de las células vegetales. Esta estimulación obliga a la planta a producir los crecimientos neoplásicos y excrecencias patológicas que, de acuerdo con las observaciones de Mani (1964), van desde estructuras constituídas por tejidos casi normales, hasta la formación de tejidos complejos y anormales con la consiguiente hiperplasia e hipertrofia celular.

La inducción de agallas por Artrópodos, principalmente insectos y ácaros ha sido atribuida, según Maden y Stone (1984), a varios mecanismos, entre otros, a la aplicación de sustancias químicas a la planta, tales como: aminoácidos, ácido indol acético, oxidasas, polifenoles y complejo de Vitamina B durante el estado nutricional del parásito. Así mismo, los citados autores señalan que la remoción de pequeñas cantidades de citoplasma de la célula vegetal durante la nutrición del huésped, aumenta la actividad mitótica en la planta, ocasionando crecimientos neoplásicos.

Hovantz (1959), dedujo que la nutrición de la larva del insecto estimula a los tejidos de la agalla para producir nuevas células, pero el estímulo inicial es ocasionado por las secreciones de la hembra durante la oviposición sobre los tejidos de la planta.

El presente trabajo reporta los cambios morfológicos de los tejidos del tallo en dos especies de Verbenaceae: *Aegiphila bogotensis* (Spreng.) Moldenke y *Aegiphila sessiliflora* Moldenke.

MATERIALES Y METODOS

El material vegetal se coleccionó en los alrededores de Bojacá, Viotá, Zipacón y la Vega (Cundinamarca) y fue determinado en el Herbario Nacional Colombiano.

La fijación de los tallos seleccionados se hizo tanto en el campo como en el Laboratorio del Departamento de Biología de la Universidad Nacional, para ello se utilizó FAA y etanol al 70% (Gaviño et al., 1974). Posteriormente la inclusión se llevó a cabo en parafina, previa deshidratación con alcoholes seriados. Se elaboraron micropreparados en cortes transversales de 10 y 12 micras y se colorearon con Safranina Fast-green y Hematoxilina-Eosina (H-E).

Para analizar las alteraciones morfológicas de los tejidos en los primeros y últimos estadios de la cecidogénesis, se seleccionaron los cortes que presentaron una mejor evidencia de los tejidos cecidianos.

RESULTADOS

1. *Aegiphila bogotensis* (Spreng.) Moldenke.

Con el fin de establecer las anomalías que sufre la planta frente a los agentes parasitarios en la formación de las agallas, fue necesario conocer la organización y estructura de los tejidos en un corte transversal de tallo sano o normal (Fig. 1A).

En el tallo normal, la epidermis está constituida por una capa de células poco profundas, estrechamente unidas, cada una con un núcleo situado en la región basal y de escaso citoplasma. Toda la capa epidermal está cubierta por abundantes tricomas multicelulares, los cuales se proyectan hacia la región achatada de la célula. Debajo de la epidermis se encuentra el colénquima formado por tres o cuatro capas de células con paredes ligeramente engrosadas en los ángulos; inmediatamente después, está el parénquima cortical constituido por diez o doce capas de células de forma poliédrica, con paredes delgadas, abundante contenido citoplasmático y núcleos pequeños. En este tejido parenquimático se observan dos tipos de células: las más pequeñas se encuentran próximas al colénquima y otras más grandes, ligeramente ovaladas y con amplio lumen celular, se sitúan en las capas contiguas al floema. En este último tejido se observan células pequeñas de paredes delgadas, que conforman los tubos cribosos, los cuales están rodeados de células de parénquima, de mayor tamaño, que se distribuyen irregularmente; a continuación se observa el cambio vascular formado por células meristemáticas. Por último está el xilema cuyos elementos se distribuyen radialmente, con vasos de paredes engrosadas y lignificadas. Los paquetes conductores no se han integrado totalmente, lo cual indica que el crecimiento secundario no ha sustituido totalmente al crecimiento primario. Internamente y hacia el centro del corte se observa el parénquima medular constituido por células grandes con paredes delgadas y con muchas sustancias de reserva, en su mayoría, cristales de oxalato de calcio de diversas formas, predominando los de forma alargada, los cuales se presentan tanto en el parénquima cortical como en el medular (Fig. 1A).

En el tallo con agallas (Figs. 1B y C), las células de la epidermis, al igual que los tricomas, presentan ligera hipertrofia, poco citoplasma y un núcleo pequeño situado en la región basal de la célula. El colénquima es reemplazado por el parénquima cortical, conformado por abundantes capas de células grandes, vacuoladas, con un núcleo pequeño y un nucleolo prominente. Este parénquima aumenta desmesuradamente por la actividad mitótica de las células, posiblemente estimuladas por la nutrición de la larva del artrópodo inductor de la agalla (Fig. 1C). La hiperplasia de este tejido es muy marcada, y fácilmente puede contarse hasta 25 capas celulares; las células que se dirigen a la cavidad larvaria se orientan en hileras conformando el tejido del cual se nutrirá el parásito en su estado larvario. Este "tejido nutricio", cuyos caracteres citológicos concuerdan con los descritos por Rohfritsch (1971) y Meyer y Maresquelle (1983), está constituido por células pequeñas muy unidas, paredes delgadas, abundante citoplasma, con un núcleo grande, esférico y un nucleolo de gran tamaño; es decir, la hipertrofia nuclear y nucleolar es muy evidente en este tejido.

Hacia el sitio de implantación del parásito (Fig. 1C) las células se dividen aceleradamente, extendiéndose hasta el haz vascular primario, el cual queda en

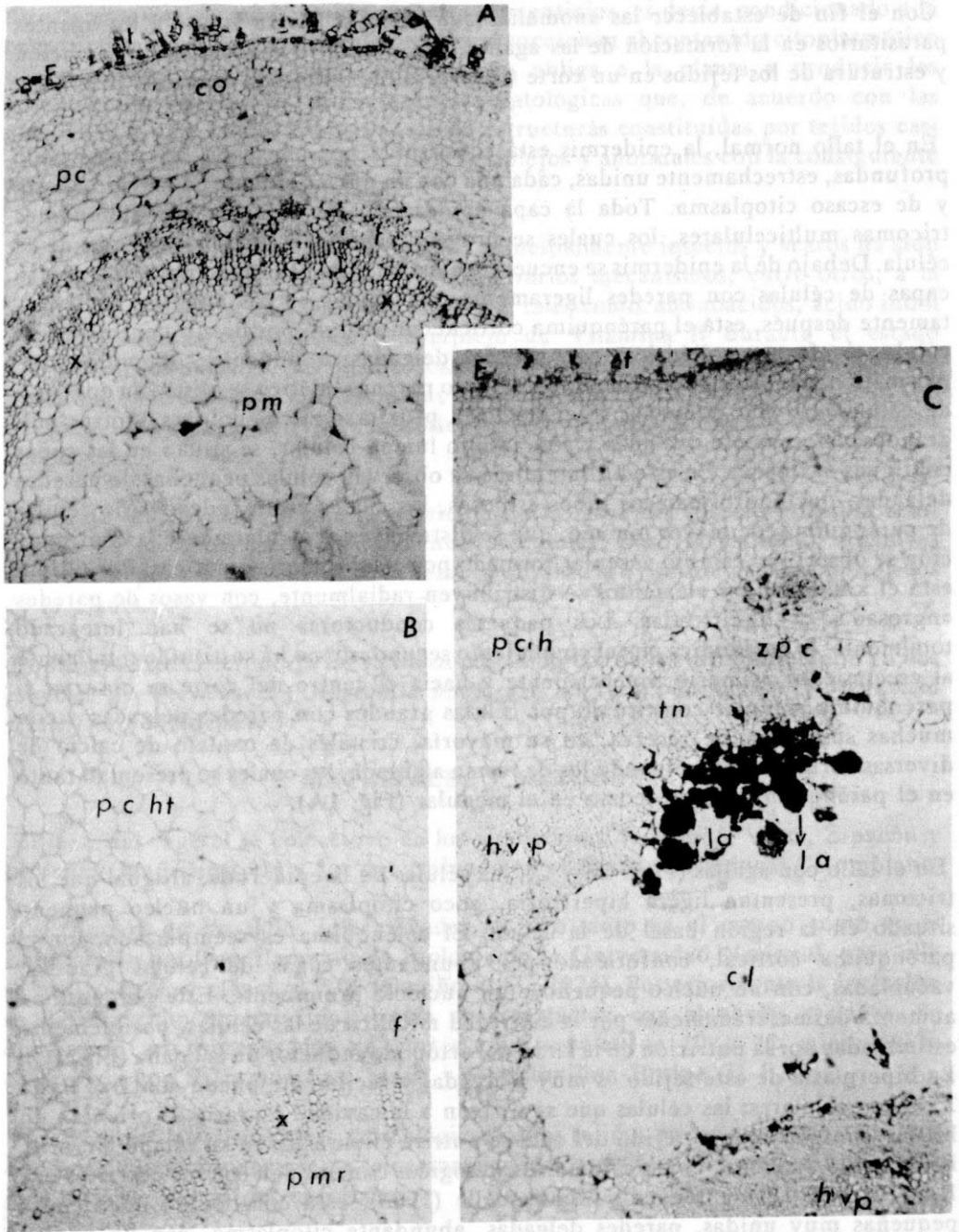


Fig.1 *Aegiphila botensis* (Spreng.) Moldenke. A: Sección transversal de un tallo sano. B: Sección transversal de un tallo con agallas mostrando alteraciones por la hipertrofia en las capas externas del parénquima cortical e hiperplasia en las capas internas, afectando los haces conductores y el parénquima medular. C: Tejido cecidiano con el agente inductor de la agalla en la cavidad larvaria, rodeada por tejido nutritivo e irrigada por los haces vasculares. E= epidermis, t= tricomas, co = colénquima, pc = parénquima cortical, pcht = parénquima cortical hipertrofiado, f= floema, x = xilema, hv p = haz vascular parenquimatizado, tn = tejido nutritivo, zpc = zona de proliferación celular, la = larva del artrópodo, cl = cavidad larvaria, pm = parénquima medular, pmr = parénquima medular reducido.

contacto con la cavidad larvaria. La cavidad, amplia y de bordes irregulares, se encuentra localizada dentro del parénquima cortical, de tal manera que puede observarse la disociación de los haces vasculares parenquimatizados alrededor de la cavidad. Parece que el parásito actúa sobre el cambium vascular ya que éste se hiperactiva; el floema localizado debajo de la cavidad larvaria posee células muy pequeñas, con núcleos polimorfos y con 3 ó 4 nucleolos, producto de su alta capacidad de división. A continuación, el xilema, formado por escasos vasos, se dispone radialmente hacia la médula acompañado por células de tejido parenquimático.

El crecimiento secundario es incompleto, ya que los elementos de los haces vasculares se reducen y los vasos de leño son más escasos que en el corte sano, debido a la hiperactividad del parénquima cortical, en especial hacia el sitio de implantación de la larva. El parénquima medular también es afectado y se reduce, quedando constituido por pocas células con ligera hipertrofia, algunas con núcleo pequeño y un solo nucleolo. Estas células contienen abundantes sustancias de reserva, como cristales de oxalato de calcio de diversas formas, predominando los alargados. Puede decirse que estos cristales se encuentran, de igual forma, en el parénquima cortical y en el medular, pero son más abundantes en este corte con agallas (Figs. 1B y C).

2. *Aegiphila sessiliflora* Moldenke

Las alteraciones tisulares en el corte de tallo con agallas (Fig. 2), comienzan en la región externa. Allí se observa una ligera suberificación representada por tres capas de células hipertrofiadas, con paredes ligeramente engrosadas. El colénquima está ausente y en su lugar se encuentra el parénquima cortical constituido por células hipertrofiadas, con bordes irregulares, escasos cloroplastos y un núcleo pequeño localizado periféricamente. Esta hipertrofia o gigantismo celular de las células del parénquima cortical se continúa con la hiperplasia del mismo parénquima, la cual se extiende a los elementos del floema y xilema secundarios y, principalmente, a los radios medulares. Como en el caso anterior *A. bogotensis*, el artrópodo actúa sobre el cambium vascular hiperactivándolo; consecuencia de ello es el gran número de células de parénquima xilemático secundario neoformado, cuyos elementos se hipertrofian. Inmediatamente, las células y vasos que han sido sometidas a esta hiperplasia e hipertrofia se esclerifican y lignifican sus paredes para formar una cubierta de varias capas, la cual no es continua en su espesor, pero sí alcanza a rodear externamente gran parte de la cavidad larvaria; antes de llegar a la cavidad, la esclerificación cesa, y las células que no han sufrido esta metaplasia continúan dividiéndose estimuladas por la nutrición del parásito; la mayoría de las células se orientan en hileras hacia la cavidad larvaria; otras células medulares se dividen repetidamente formando paquetes celulares de más o menos 10 células, unidas estrechamente sin espacios intercelulares (Figs.2). La cavidad larvaria se encuentra localizada excéntricamente a la médula; su forma es oval y tiene bordes muy bien delimitados y lignificados.

Las células del parénquima medular alejadas del área parasitada son grandes y poseen paredes delgadas, con gran contenido de sustancias de reserva como cristales

de oxalato de calcio de diversas formas geométricas. Alternando con las células del parénquima medular se observan algunas células de soporte, principalmente esclereidas.

La agalla adulta no muestra los caracteres citológicos del tejido nutricional; sin embargo, los cambios morfológicos más notorios en esta agalla del tallo son: la hipertrofia e hiperplasia del parénquima cortical, la multiplicación de las células de parénquima xilemático secundario, el anillo incompleto de células esclerificadas y la hiperplasia de las células medulares que se dividen en todos los sentidos formando paquetés celulares que rodean gran parte de la cavidad larvaria (Fig. 2).

Los tejidos que conforman el tallo en el lado opuesto a la cavidad larvaria, son completamente normales en su crecimiento secundario y organización general de las células.

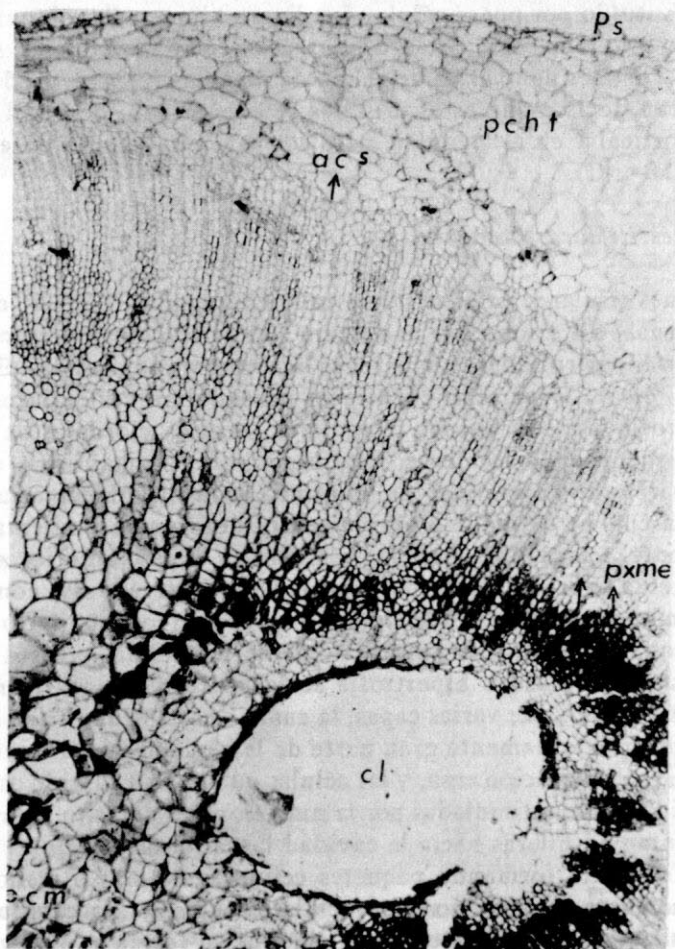


Fig. 2. *Aegiphila sessiflora* Moldenke con agallas. Obsérvese la forma de la cavidad larvaria, la cubierta de células esclerificadas y los paquetés celulares en la médula. Ps = peridermis suberificada; pcht = parénquima cortical hipertrofiado; acs = alteración del crecimiento secundario; pxme = parénquima xilemático y medular que se esclerifica; pcm = paquetés celulares de la médula; cl = cavidad larvaria.

DISCUSION

Tal como se observa en las figuras 1 C y 2, la ubicación de la cámara o cavidad larvaria no es la misma en las dos especies; en *A. bogotensis* la agalla es joven, el tejido colenquimático es reemplazado por el parénquima cortical, la actividad mitótica aumenta dando lugar a una hiperplasia celular para formar el "tejido nutricio" del cual se alimentará la larva. Esta, como se observa en la Fig. 1C, succiona el contenido citoplasmático de las células vegetales, que reaccionan aumentando el número de células con caracteres citológicos específicos, tales como: presencia de abundante citoplasma, núcleo grande y un nucleolo prominente.

En *A. bogotensis* la larva se localiza dentro del parénquima cortical; la cavidad de bordes irregulares se amplía, los haces vasculares con abundante tejido parenquimático se distribuyen alrededor de ésta, aunque algunos llegan directamente hasta ella, posiblemente para suministrarle el transporte de nutrientes al artrópodo durante su estado larvario (Villazón de P, E. 1987, 1989).

La histología de la agalla de *A. sessiliflora* difiere en algunos aspectos de la anterior, ya que se observa una mayor diferenciación de los tejidos cecidianos, al igual que la presencia de una cubierta de células que se esclerifican y lignifican. Las observaciones concuerdan con las de West y Shorthouse (1982) en las agallas del abeto inducidas por un díptero. Este caso es típico de una agalla adulta, donde los tejidos que la constituyen presentan una mayor diferenciación; es así como se aprecia un aumento en el número de células del parénquima xilemático secundario y medular, cuyas células se dividen para formar paquetes celulares. La cavidad larvaria se localiza excentricamente a la médula, tiene bordes lignificados, bien delimitados y su forma es oval.

CONCLUSIONES

1. La acción parasitaria inhibe la diferenciación de los tejidos de soporte y conductores secundarios, estos últimos adquieren las características de tejidos parenquimáticos, debido a la hiperactivación del cambium vascular.
2. En las dos especies se observó la presencia de abundantes cristales de oxalato de calcio con diversas formas geométricas.
3. En la agalla joven los caracteres citológicos del tejido nutricio son muy evidentes; en la agalla adulta desaparecen, pero se acentúa la diferenciación de los tejidos en cuanto a la estructura misma del cecidio.
4. La forma de la cavidad larvaria y su ubicación son diferentes en las dos agallas trabajadas, observación que permite sugerir que el inductor, en cada una de las especies, *Aegiphila bogotensis* (Spreng.) Moldenke y *Aegiphila sessiliflora* Moldenke, puede ser diferente.

BIBLIOGRAFIA

- GAVIÑO, G., J.C. JUAREZ y H.H. FIGUEROA. 1974. Técnicas Biológicas Selectas de Laboratorio y de Campo. Limusa. Mexico. 251p.
- HOVANTZ, W. 1959. Insects and plant galls. Sci. Amer. 201(5): 151-162.
- MADDEN, J.L., and CHRISTINE STONE. 1984. Induction and Formation of Pouch and Emergence Galls in *Eucalyptus pulchella* Leaves. Aust. J. Bot. 32: 33-42.
- MANI, M.S. 1964. Ecology of plant galls, W.Junk Publishers The Hague. 434 pp.
- MEYER, J. y H.J. MARESQUELLE. 1983. Anatomie des galls. Gebrüder Borntraeger - Berlin, Stuttgart. 662 pp.
- ROHFRITSCH, O. 1971. Développement cécidien et rôle de parasite dans quelques galls d'Arthropodes. Marcellia. 37: 233-339.
- VILLAZON DE P., E. 1987. Estudio Histológico de Agallas Inducidas por Artrópodos en algunas especies de Compositae. I Agallas en Tallo. Bol. Depto. Biol. Univ. Nal. de Col. 2(7): 9-25.
- VILLAZON DE P., E. 1989. Estudio Histológico de Agallas Inducidas por Artrópodos en algunas especies de Compositae. II Agallas en Hojas. Acta Biol. Col. 1(5): 81-89.
- WEST, R.J., and J.D. SHORTHOUSE. 1982. Morphology of the balsam fir needle gall induced by the midge *Paradiplosis tumifex* (Diptera: Cecidomyiidae). Can. J. Bot. 60: 131-140.