

CARACTERIZACIÓN DEL APARATO ESTOMATAL EN CÁRTAMO BAJO CONDICIONES DE INVERNADERO

Sathyanarayanaiah Kuruvadi¹
Alberto Madueño Molina²
Alfonso López Benítez³
Fernando Borrego Escalante⁴

RESUMEN

Con el objetivo de caracterizar el aparato estomatal, el haz y el envés de la hoja y estimar su heredabilidad en sentido amplio, se evaluaron 16 líneas de cártamo, en invernadero, bajo un diseño de bloques al azar con tres repeticiones.

El análisis de varianza indicó diferencias significativas para densidad y longitud de estomas en ambos lados de la hoja y para anchura de estomas en el haz, lo que reveló una variabilidad considerable para estos rasgos en los recursos genéticos incluidos. La frecuencia de estomas en el haz varió de 26.6 a 36.5, con un promedio de 32.3 por campo microscópico, mientras que en el envés, el rango fue de 29.6 a 42.2 con una media de 36.2 estomas. En cártamo se exhibieron 12.1% más estomas en el envés que en el haz de la hoja. Se identificaron tres variedades: Saffire (28.95), Kino 76(30.3) y Noroeste VF 84 (30.3), con menor densidad de estomas. Las variedades Jerusalem CM 1136, Egipto CM 1239, Río 70, Aceitera, CVF 36, Kino 76, N 4055, Saffola 208 y Mante 81 mostraron un tamaño pequeño de estomas. En lo ancho las diferencias de los estomas no fueron apreciables entre los tratamientos. Se presentaron valores altos de heredabilidad en sentido amplio para frecuencia de estomas en el haz (79.8%) y en el envés (85.7%), con una longitud de estomas en el haz (55.6%) y en el envés (53.2%).

Palabras clave: Cártamo, descripción, frecuencia, tamaño y estomas

1 y 3 Ph.D., 4. Ing. M.C. Maestros-Investigadores del Depto. de Fitomejoramiento. Div. de Agronomía. UAAAN.

2. Tesista

SUMMARY

Sixteen lines of safflower were evaluated in the greenhouse with and objective of characterizing the stomatal apparatus on the upper and lower surface of the leaf and to estimate broad sense heritability. A randomized block design was chosen with three replications.

The analysis of variance indicated significant differences for the stomatal frequency and its length on both the sides of the leaf and for stomatal width on the upper surface only, revealing considerable variability for these traits among the genetic resources studied. The stomatal frequency varied from 26.6 to 36.5 with a mean of 32.2 per microscopic field on the upper surface, meanwhile it ranged from 29.6 to 42.2 with a mean of 36.2 on the lower surface of the leaf. In safflower 12.1% more stomata were manifested on the lower surface when compared to the upper surface. The varieties saffire (28.95), Kino 76 (30.3) and Noroeste VF84 (30.3) were identified with lower stomatal density. The varieties Jerusalem 1136, Egipto CM 1239, Río 70, Aceitera, CVF 36, Kino 76, N.4055, Saffola 208 and Mante 81, contained smaller size stomata. The differences for stomatal width was not appreciable on the lower epidermis of the leaf. Higher values of broad-sense heritability was recorded for the stomatal frequency on the upper (79.8%), lower (85.7%), for stomatal length on the upper (55.6%) and lower (53.2%) epidermis of the leaf.

Key words: Safflower, description, frequency, size, stomats.

INTRODUCCIÓN

Tres procesos fisiológicos importantes de la planta (transpiración, respiración y fotosíntesis) son influenciados por el comportamiento, densidad y tamaño de los estomas. Por lo menos el 90% de humedad absorbida por las plantas, se pierde a través de estomas de la superficie de la hoja (Katellarpar, 1963). Bajo condiciones de temporal, los estomas juegan un papel muy importante en la regulación del contenido de humedad en la planta, por lo tanto, para los cultivos, los estomas son determinantes de resistencia a la sequía (Kuruvadi *et al.* 1989). Normalmente las variedades con baja frecuencia de estomas transpiran menos humedad que las líneas con alta frecuencia estomatal (Dobrenz *et al.* 1969 y Kuruvadi, 1989a). Hopeman (1971) reportó que el comportamiento de estomas es más importante que su dimensión. Los estomas responden a gran número de signos internos y externos de la planta para abrir y cerrar los ostiolos de los estomas (Zeigar, 1983). El objetivo de la presente investigación es la caracterización del aparato estomatal y estimar heredabilidad en sentido amplio, bajo condiciones de invernadero.

MATERIALES Y MÉTODOS

Este experimento se llevó a cabo en la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro (UAAAN), Buenavista, Saltillo, Coahuila, durante el período comprendido de junio a septiembre de 1989.

Se evaluaron 16 líneas del cártamo con una amplia gama de variabilidad genética para diferentes características agronómicas. Estos materiales fueron proporcionados como líneas sobresalientes bajo condiciones de temporal y riego por el Programa de Oleaginosas de la UAAAN y Campo Experimental Forestal y Agropecuario de Ebano, San Luis Potosí. Estos recursos provienen de los siguientes países: México, Estados Unidos, Israel, Pakistán y Egipto. Estas líneas se sembraron en bolsas de polietileno de color negro de 120 cm de longitud y 30 cm de diámetro. El suelo dentro de la bolsa se colocó hasta una altura de 100 cm dejando libres para la aplicación del riego. Antes de la siembra se aplicó un riego hasta capacidad del campo y 35 días después se dio un riego ligero, debido a que las plantas mostraron síntomas de marchitez en las hojas. Estos genotipos se sembraron bajo un diseño de bloques al azar con tres repeticiones.

Cuando las plantas entraron en estado de floración (60 días después de la siembra), se llevó a cabo un muestreo con la recopilación de dos hojas localizadas en la cuarta rama (estrato medio) de cada planta. En las tres repeticiones las muestras fueron colectadas simultáneamente a las 9:00 a.m., hora fijada, debido a observaciones previas, como la adecuada para encontrar a los estomas completamente abiertos. Las hojas de cada tratamiento por repetición, fueron inmediatamente introducidas a frascos con la solución fijadora formaldehído-alcohol-ácido acético (FAA), cuya función fue la de fijar el estado fisiológico estomatal. La solución FAA se preparó de la forma siguiente: alcohol etílico al 70% (90cc), ácido acético glacial (5cc) y formaldehído 36-40% (5cc).

Las muestras fueron trasladadas al laboratorio donde se les dejó reposar durante 24 horas y, después, se les cambió la solución fijadora por otra de alcohol al 70%, con la finalidad de facilitar el manejo de los materiales. Posteriormente, se procedió a tomar las siguientes observaciones: frecuencia de estomas en el haz y envés de la hoja por campo microscópico (400X), longitud y anchura de estomas en ambos lados de la hoja.

De la parte central del folíolo se desprendió una fracción de la epidermis en ambos lados de la hoja (haz y envés) y se colocó un portaobjetos donde se aplicó una gota de agua y se montó el cubreobjetos. La preparación fue observada con el objetivo 40x y ocular 10x de un microscopio compuesto. Para la frecuencia de estomas se realizaron conteos en cinco campos diferentes por hoja individual y se calculó el promedio para cada genotipo por repetición. El estudio de tamaño de estomas comprendió mediciones de longitud y anchura de cinco de ellos tomados al azar y se obtuvo el promedio por tratamiento y repetición. Las mediciones fueron hechas a través de un micrómetro.

Los promedios de las diferentes características estudiadas se usaron para la realización de los análisis de varianza y cálculo de heredabilidad en sentido amplio.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El análisis de varianza (Cuadro 1) indicó diferencias significativas para densidad y longitud de estomas en ambos lados de la hoja y para anchura de estomas en el haz. Esto revela que existe una variabilidad considerable para estas características en los genotipos estudiados y que, por lo tanto, es factible identificar materiales con baja frecuencia y de reducido tamaño de estomas, dentro de un programa de mejoramiento en cártamo para resistencia a sequía. El coeficiente de variación presentó valores muy bajos de 3.51 a 6.81% por lo que, la conducción del experimento y los resultados obtenidos son muy confiables. Kuruva-di (1989a) estudió la frecuencia y tamaño de estomas en cultivares de trigo harinero y encontró diferencias altamente significativas para densidad y longitud de estomas en ambos lados de la hoja, mientras que para anchura no encontró significancia estadística; estos mismos resultados fueron obtenidos por Tanzarella *et al.* (1984) al estimar la frecuencia y tamaño de estomas en cultivares de *Vicia faba* L.

Los promedios para densidad, longitud y anchura de estomas de los genotipos estudiados se muestran en el Cuadro 2.

La frecuencia de estomas en el haz varió de 26.6 (Saffire) a 36.5 [N-4055 (14-12)] con un promedio de 32.3 estomas por campo microscópico (400x),

Cuadro 1. Análisis de varianza para frecuencia y tamaño de estomas en el haz y envés de la hoja en cártamo bajo invernadero.

Fuente de variación	Grados de libertad	Cuadrados Medios					
		Frecuencia		Longitud		Anchura	
		Haz	Envés	Haz	Envés	Haz	Envés
Bloques	2	10.517	4.463	0.187	1.445	1.762	0.178
Tratamientos	15	22.639**	42.159**	4.280*	4.439*	1.285*	0.668
Error	30	4.639	6.070	1.902	2.075	0.492	0.510
C.V. (%)		6.68	6.81	5.04	5.27	3.51	3.68

* Significancia al 5%

** Significancia al 1%

C.V. Coeficiente de Variación

Cuadro 2. Promedio de longitud, anchura (micras) y frecuencia de estomas por campo microscópico en el haz y envés de la hoja de cártamo bajo invernadero.

Genotipos	Frecuencia		Promedio		Promedio		Anchura		Promedio
	Haz	Envés	Haz	Envés	Haz	Envés	Haz	Envés	
Kino-76	28.9	31.7	30.30	27.2	26.4	26.80	20.0	19.8	19.90
Gila	33.2	37.3	35.25	26.9	28.5	27.70	19.0	19.9	19.45
Alhúey	31.0	29.6	30.30	29.1	28.8	28.95	19.5	19.0	19.25
Noroeste-VF84	33.1	37.1	35.10	29.8	30.1	29.95	21.3	20.0	20.65
Mante-81	33.0	36.3	34.65	26.9	26.9	26.90	19.0	18.9	18.95
CVF-36	28.4	34.2	31.30	26.2	27.2	26.70	20.2	19.0	19.60
N-40055(14-21)	36.5	41.3	38.90	26.6	27.0	26.80	19.0	19.4	19.20
Washington	31.4	33.1	32.25	28.2	28.5	28.35	20.6	20.3	20.45
Egipto-CM-1239	30.4	37.5	33.95	27.2	25.4	26.30	19.7	19.0	19.35
Saffola-208	31.3	40.5	35.90	26.6	27.0	26.80	20.2	19.0	19.60
Humaya-65	33.2	36.9	35.05	27.4	26.7	27.05	20.0	18.7	19.35
Río-70	35.5	40.5	38.00	26.7	26.2	26.45	20.3	19.7	20.00
Acetiera	32.9	33.6	33.25	26.9	26.4	26.65	20.2	19.0	19.60
Saffire	26.6	31.3	28.95	29.0	27.5	28.25	20.8	19.7	20.25
Jerusalem-CM-1136	34.7	35.9	35.30	25.1	26.1	25.60	20.5	19.7	20.10
Pakistan-CM-799	35.5	42.2	38.85	28.2	28.3	28.25	19.5	19.0	19.25
Media General	32.3	36.2	34.21	27.4	27.3	27.34	20.0	19.4	19.68
Tukey (0.05)	6.5	7.4		4.2	4.3		2.1	2.2	

mientras que en el envés la variación fue de 29.6 (Alhuey) a 42.2 (Pakistán-CM-799) con una media de 36.2 estomas. Al examinar la densidad de estomas en ambos lados de la hoja se encontraron las variedades Saffire (28.95), Kino-76 y Noroeste-VF84 (30.30) con los valores más bajos, por lo que estos materiales probablemente pueden perder poca agua por transpiración.

La extensa variabilidad de los caracteres morfológicos en el aparato estomatal de las especies cultivadas es de primordial importancia, dado el papel esencial de los estomas en la regulación del intercambio gaseoso por las hojas (Hsiao, 1973 y Quarrie y Jones, 1977). Esta variación puede ser usada por modificar el uso del agua y la fotosíntesis en los cultivos a través del mejoramiento y selección (Tanzarella *et al.* 1984). La frecuencia, tamaño y grado de apertura de los estomas afectan la tasa de transpiración y fotosíntesis, la intensidad de intercambio de agua y gases entre la planta y atmósfera y, al mismo tiempo, constituyen un eficiente mecanismo de control para la pérdida de agua, principalmente cuando se presenta el estrés de sequía (Chia y Brun, 1975 y Sapa *et al.*, 1975). Por lo tanto, una reducción en el número y dimensión de los estomas puede usarse para crear genotipos con resistencia a sequía, lo cual es un importante objetivo de los programas de mejoramiento de plantas para regiones con climas calientes y secos (Tanzarella *et al.* 1984).

En forma general se observó que en cártamo se exhibieron 12.1% más estomas en el envés que en el haz de la hoja. Esta misma tendencia fue observada en variedades de haba (Tanzarella *et al.* 1984) y en frijol común (Kuruvadi *et al.* 1989). En cambio, en cultivares de diferentes especies de trigo se han encontrado una mayor frecuencia de estomas en el haz que en el envés (Teare *et al.* 1971 y Kuruvadi, 1989a).

La comparación entre variedades para rendimiento biológico y frecuencia de estomas mostró que los genotipos de más alta producción de materia seca tuvieron una densidad estomática por abajo de la media general, excepto N-4055 (14-21) que manifestó el alto número de estomas por campo microscópico, lo que demuestra que, generalmente, las variedades tolerantes a sequía poseen menor densidad de estomas que las susceptibles. Estos resultados concuerdan con los obtenidos en trigo por Kuruvadi (1989a).

En la longitud de estomas en ambos lados de la hoja presentó diferencias ligeras pero significativas. Considerando el promedio global, las variedades Jerusalem-CM-1136, Egipto-CM-1239, Río-70, Aceitera, CVF-36, Kino-76, N-4055 (14-21), Saffola-208 y Mante 81 mostraron valores bajos, menores a la media general y por lo tanto, pueden ser considerados como recursos genéticos con pequeño tamaño de estomas en los programas de mejoramiento. Krushid y Mohamad (1967) indicaron que las variedades con tamaño pequeño de estomas fueron más resistentes a sequía que con variedades con estomas grandes.

En anchura de estomas, las diferencias no fueron apreciables entre los tratamientos, sin embargo, se observó que el haz produjo estomas 3.1% más anchos que el envés.

Knecht y O'Leary (1972) en frijol común y Chia y Brun (1975) en soya, demostraron que la alta luminosidad, temperatura y estrés de humedad incrementaron la frecuencia estomatal al tiempo que se reducía el área de la hoja, manteniendo igual el número de hojas. Por su parte Quarrie y Jones (1977) y Kuruvadi (1989b) observaron en trigo una reducción del número de estomas por hoja como consecuencia del estrés de agua.

Kuruvadi (1989b) indicó que la densidad, longitud y anchura de estomas y ostiolas pueden manifestar variaciones dependiendo de la especie, variedad, posición de la hoja en la planta, lado de la hoja, crecimiento de la hoja en la luz o sombra, intensidad de la luz, altura de planta, condiciones de cultivo e interacción genotipo-ambiente.

La heredabilidad para las características estomáticas consideradas en el experimento presentaron valores altos: 79.8 y 85.7% para frecuencia de estomas en el haz y envés; 55.6 y 53.2% para longitud en el haz y envés, respectivamente, y 61.7% para anchura de estomas en el haz de la hoja.

Estas características son, por lo general, altamente heredables y pueden manipularse con los métodos de mejoramiento genético (Kuruvadi, 1989b).

CONCLUSIONES

1. Existen diferencias considerables para densidad, longitud de estomas en ambos lados de las hojas y para anchura de estomas en el haz, en los recursos genéticos estudiados.
2. Se identificaron las variedades Saffire, Kino 76 y Noroeste VF 84 con menor densidad de estomas.
3. Las variedades Jerusalem CM 1136, Egipto CM 1239, Río 70, Aceitera, CVF 36, Kino 76, N 4055, Saffola 208, y Mante 81, mostraron estomas de tamaño pequeño.
4. Se presentaron valores altos de heredabilidad en sentido amplio para frecuencia y tamaño de estomas en el haz y envés de la hoja.

LITERATURA CITADA

- Chia, A.J. and W.A. Brun. 1975. Stomatal size and frequency in soybeans. *Crop Sci.* 15:309-313.
- Dobrenz, A.K., L. Neal Wright, M.A. Massangale and W.R. Kineebone. 1969. Water use efficiency and its association with several characteristics of blue panic grass (*Panicum antidotale* Retz.) *Crop Sci.* 9:213-215.
- Hopeman, P.A.M. 1971. Rhythms in stomatal operation of bean leaves. *Meded Landbouwhoges. Wageninigen.* 71:3-86.
- Hsiao, T.C. 1973. Plant responses to water stress. *Ann. Rev. Plant Physiol.* 24:510-570.
- Katellarper, N.J. 1963. Stomatal physiology. *Ann. Rev. Plant Physiol.* 14:249-270.
- Knecht, G.N. and J.W. O'Leary. 1972. The effect of light intensity on stomata number and density of *Phaseolus vulgaris* L. leaves. *Bot. Gaz.* 133:132-134.
- Khurshid, A. and Y. Mohammad. 1976. Stomatal in relation to drought resistance of wheat varieties. *Pakistan J. Sci. Res.* 19:171-179.
- Kuruvadi, S. 1989a. Stomatal frequency in bread wheat under irrigated and rain-fed conditions. *Rachis.* 8(2):22-23.
- Kuruvadi, S. 1989b. Stomatal frequency in cultivars of *Triticum* and related species. *Rachis* 8(1):15-17.
- Kuruvadi, S., G.A. Castillo, A.G., Cierra y O.J. Molina. 1989. Frecuencia y tamaño de estomas en ambientes de riego y temporal en frijol común. *Agraria.* 5(1):14-18.
- Quarrie, S.A. and H.G. Jones. 1977. Effects of abscisic acid and water stress on development and morphology of wheat. *J. Exp. Bot.* 28:192-203.
- Sapra, V.T., J.L. Hughes and G.C., Sharma. 1975. Frequency, size and distribution of stomata in triticale leaves. *Crop Sci.* 15:356-358.
- Tanzarella, O.A. Depace and A. Filippetti. 1984. Stomatal frequency and size in *Vicia faba* L. *Crop Sci.* 24:1070-1076.
- Teare, I.D., C.J., Peterson and A.G. Law. 1971. Size and frequency of leaf stomata in cultivars of *Triticum aestivum* and other *Triticum* species. *Crop Sci.* 11:496-498.
- Zeigler, E. 1983. The biology of stomatal guard cells. *Ann. Rev. Plant Physiol.* 34:441-475.