

Descripción anatómica de estomas y tricomas foliares de *Tidestromia lanuginosa* (Nutt) Standl (*Amaranthaceae*), proveniente de los municipios de Saltillo, Coah. y Lampazos de Naranjo, N.L., México

Anatomical Description of Stomata and Trichomes in leaves of *Tidestromia lanuginosa* (Nutt) Standl (*Amaranthaceae*), from the municipios of Saltillo, Coah. and Lampazos de Naranjo, N.L., Mexico.

José Francisco Rodríguez-Martínez¹, Samuel Valencia-Martínez¹,
Laura María González-Méndez^{1*}, Angélica Martínez-Ortiz¹

¹Departamento de Botánica, Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. Calzada Antonio Narro 1923, Buenavista 25315, Saltillo, Coah., México. E-mail: laura.gonzalez@uaaan.mx [*Autor responsable].

RESUMEN

En este estudio se describe y compara la anatomía de estomas y tricomas foliares de *Tidestromia lanuginosa* (Nutt) Standl (espantavaqueros) provenientes de los municipios de Saltillo, Coah. y Lampazos de Naranjo, N.L. Algunas muestras se colectaron y llevaron al laboratorio para someterlas a la técnica de raspado de epidermis y observarlas en el microscopio de luz; otras fueron preparadas para realizar observaciones en un microscopio electrónico de barrido. Las epidermis del raspado revelan que los estomas en esta especie se encuentran en la superficie abaxial epidérmica (hipostomáticos), y carecen de células anexas (patrón anomicítico). En las micrografías electrónicas de las muestras de Lampazos se observan estomas elevados respecto a las demás células epidérmicas, mientras que las de Saltillo se encuentran en el mismo nivel. Los tricomas son candelabrifom y tienen aspecto estrellado y poseen de 8 a 10 ramas cada uno. Se encontraron diferencias altamente significativas ($p \leq 0.01$) en cuanto a la localidad: para el índice estomático, en Lampazos, el valor fue de 27.12%, mientras que el de Saltillo fue de 24.7%; la densidad estomática fue mayor en Saltillo con 214/mm², en tanto que en Lampazos fue de 134.44/mm²; el área estomática fue mayor en Lampazos (359.50 mm²) que en Saltillo (227.83 mm²). La densidad de tricomas, en cambio, no mostró diferencia significativa entre ambas localidades. Las diferencias entre las variables estomáticas indican una influencia ambiental local, mientras que la densidad de tricomas, un carácter que muestra estabilidad.

Palabras clave: *Tidestromia lanuginosa*, estomas, tricomas

ABSTRACT

The anatomy of stomata and trichomes in leaves of *Tidestromia lanuginosa* (Nutt) Standl (espantavaqueros), is described and compared in two localities of Northeastern Mexico. Samples were collected in the Municipios of Saltillo, Coah. and Lampazos de Naranjo, N.L., taken to the laboratory to be processed by an epidermal detachment technique, and the slides observed under a light microscope; while another group of samples were prepared for electronical scanning microscopy. Observations in epidermal detachment slides reveal that stomata are located in the abaxial surface of the leaf (hypostomatal), with no accessory cells surrounding the guard cells (anomicitic type); the electron micrographies show stomatal cells in a higher position than the other epidermal cells in the Lampazos samples, while at the same level in the Saltillo leaves. Trichomes are candelabrifom, star-shaped, with 8 to 10 branches each. Highly significant differences ($p < 0.01$) were founded in stomatal index, being higher in Lampazos (27.12 %) than in Saltillo (24.7 %); a stomatal density higher in Saltillo (214.44 / mm²) than in Lampazos (134.44/mm²), and a stomatal area higher in Lampazos (359.50 mm²) than Saltillo (227.83 mm²). Such differences might be due to local environmental influence, and a possible difference in chromosome number (ploidy), as well. Trichome density, however, showed no statistical difference in both localities, indicating stability in this character.

Key words: *Tidestromia lanuginosa*, stomata, trichomes

INTRODUCCIÓN

Las plantas silvestres son generalmente consideradas de menor importancia que las cultivadas, lo cual resulta evidente, pues de estas últimas depende la población humana; sin embargo, es importante recordar que su origen ha sido a partir de plantas silvestres, de las cuales se generan conocimientos taxonómicos, ecofisiológicos e, incluso, utilitarios, ya que pueden emplearse como indicadores de hábitat y clima, o de fertilidad y contaminación de suelos, así como plantas forrajeras, alimenticias y medicinales (Hernández *et al.*, 2006). *Tidestromia lanuginosa* (Nutt.) Standl. es una hierba anual de verano (Correl y Johnston, 1970), perteneciente a la familia Amaranthaceae (Watson y Dallwitz, 1991), conocida comúnmente como *espantavaqueros*. Sus hojas son de color gris-verde, obovadas, con tricomas candelabroiformes, tallos decumbentes, ascendentes o postrados (González-Ferrara, 1998); ocupa hábitats boscosos de pino-enebro, matorral desértico, comunidades de mezquite-yuca, pastizales, dunas costeras, depósitos basálticos, limosos, yesosos, calcáreos, aluviales, rocosos, volcánicos, arenosos, arcillosos y orillas de caminos, y en altitudes que oscilan desde los 0-1800 m (Sánchez del Pino y Flores Olvera, 2002; García, 1973).

La especie *Tidestromia lanuginosa* posee dos subespecies, reconocidas principalmente por características del polen y de los tricomas (Sánchez del Pino y Flores Olvera, 2006): la *lanuginosa*, que se distribuye desde el centro de Estados Unidos hasta el noreste de México, y la *eliassoniana*, desde el sudoeste de Estados Unidos hasta el noroeste de México (Sánchez del Pino y Flores Olvera, 2006); es una especie apreciada por los habitantes de las regiones donde crece, ya que forma parte de la dieta del ganado, además de que se utiliza como remedio en infusión para problemas del aparato urinario, analgésico e, incluso, como antidiabético (González Ferrara, 1998).

La información sobre la especie es escasa, ya que los estudios que existen sólo incluyen su descripción morfológica externa, distribución y usos tradicionales. No hay trabajos sobre la morfología de los estomas y tricomas, ni de la relación entre estos caracteres y el ambiente, por lo que esta investigación se realizó con el propósito de generar información básica respecto a estas estructuras, a partir de una comparación entre dos localidades contrastantes: Saltillo y Lampazos de Naranjo, donde las condiciones fisiográficas y climáticas son distintas. Con

esto se pretende determinar la influencia ambiental sobre los caracteres morfológicos de esta planta silvestre para abrir el camino a otros estudios, en particular los ecofisiológicos, y aprovechar su potencial utilitario.

MATERIALES Y MÉTODOS

Colecta de los ejemplares

El material vegetal se obtuvo de ejemplares colectados en 2008 y 2009; en junio en la periferia oriental de Lampazos de Naranjo, en el estado de Nuevo León, y en septiembre, en el ejido Cuautla del municipio de Saltillo, en el estado de Coahuila.

El clima de Lampazos es seco, estepario y cálido, mientras que el de Saltillo es seco templado, como se indica en el Cuadro 1 (García, 1973; INEGI, 2007). Se colectaron al azar tres plantas maduras en cada localidad, cinco hojas compuestas del tercio medio de cada planta y seis folíolos por hoja, que se llevaron al laboratorio de Anatomía e Histología Vegetal del Departamento de Botánica de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, en Saltillo, Coah., para obtener preparaciones de raspado epidérmico. Otro grupo de muestras se llevaron a la Facultad de Ingeniería de la Universidad Autónoma de Nuevo León, en Monterrey, N.L., para obtener micrografías electrónicas de barrido. El proceso en el caso de las electromicrografías fue el establecido por el laboratorio de materiales de la Facultad de Ingeniería Civil de la Universidad Autónoma de Nuevo León, que brindó el servicio.

Técnica de raspado de epidermis

El procedimiento se realizó en el laboratorio de anatomía e histología del Departamento de Botánica de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. Se tomaron las cinco hojas de cada ejemplar, que se colocaron en cajas Petri marcadas con el dato de cada localidad, fecha y número de individuo; se les añadió agua destilada con unas gotas de cloro para ablandar el tejido y hacer fácil la remoción de tricomas; después de un periodo de una hora, se tomó cada hoja y con ayuda de un estereoscopio se removió la totalidad de tricomas que cubren el limbo; luego, con un bisturí y agujas de disección se aplicó la técnica del raspado para remover la capa epidérmica abaxial, que es donde se encuentran los estomas en *T. lanuginosa*. Cada porción de epidermis tomada se colocó en un portaobjetos, a la que se le agregó

una gota de colorante Fast Green y un cubreobjetos, como preparación semipermanente para su posterior documentación. Se hicieron 20 preparaciones por individuo y localidad.

Microscopía electrónica

Pretratamiento y fijación de las hojas

Se tomaron cinco hojas al azar de cada localidad y se colocaron en viales de vidrio de tapa roscada, las cuales contenían una solución fijadora de glutaraldehído diluido al 5% en amortiguador de fosfato 0.1 M, con un pH de 7.2. Una vez en la solución de glutaraldehído diluido al 5%, las hojas se mantuvieron en la solución durante ocho horas, a temperatura ambiente, con el propósito de lograr la fijación por inmersión. Las hojas se pasaron a una solución lavadora de amortiguador de fosfatos 0.1 M y pH de 7.2, de la que se hicieron tres cambios de 10 minutos, para después llevarla a una refrigeración de 4° C. El material de la solución lavadora se separó, luego cada hoja se seccionó transversalmente y se colocó en viales secos sin tapa, y allí se dejó tres días antes del montaje.

Montaje y observación de las muestras

Los fragmentos de tejido se depositaron en cilindros de bronce de 1 cm de diámetro, del que se sujetaron con cinta adhesiva de doble lado, que se recubrieron con una capa fina de dos nanómetros de oro ionizado. La observación y documentación de electromicrografías se llevó a cabo con un microscopio electrónico de barrido modelo Jeol JSH-6490-LV, de la marca Jeol Instruments. Posteriormente, se efectuó la caracterización histológica de los estomas.

Toma de microfotografías y mediciones

Las preparaciones semipermanentes se observaron en campos de 10X y 40X y se capturaron con ayuda de un microscopio con cámara integrada de la marca La Bomed, modelo Digi-2 1500, y el paquete computacional para microfotografías DigiPro, versión 4.0. A partir de las observaciones, se caracterizaron morfológicamente estomas y tricomas, y se obtuvieron las mediciones con ayuda del programa Axiovision Release 4.7.1 para poder determinar el índice estomático, la densidad estomática (número de estomas/90,000 mm²), área promedio de estoma individual (mm²), y densidad de tricomas. Los datos se analizaron en un diseño completamente al azar, y la Prueba de Tukey con una significancia de $p \leq 0.01$, para determinar las diferencias entre cada localidad (Olivares, 1994).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Raspado epidérmico

Las micrografías revelan un patrón estomático anómico (Figura 1). Este patrón se caracteriza por la ausencia de células anexas, en concordancia con el de dos especies de *Amaranthus* encontrado por Ferrarotto en 1998. *T. lanuginosa* presenta hojas hipostomáticas adaxiales (envés), siendo, en cambio, anfistomáticas (haz y envés) en el género *Amaranthus* (Ferrarotto, 1998). La condición anfistomática es más común en especies cultivadas (Tichá, 1982). En el caso de las variables cuantificables, el índice estomático presentó diferencias altamente significativas ($p \leq 0.01$) entre localidades: 27% en las muestras de Lampazos, y 24% en Saltillo, Coah. (Cuadro 2), lo que refleja que la densidad estomática fue mayor en Saltillo que en Lampazos, mientras que el área promedio por estoma fue superior en Lampazos; tales diferencias pueden atribuirse a las condiciones ambientales locales en interacción con el genotipo de la planta.

No se encontraron otros estudios comparativos en esta especie, solamente una determinación de valores promedio en dos especies de *Amaranthus* (Ferrarotto, 1998). En cada localidad, el clima fue determinante en la variación que se encontró en las plantas (Cuadro 1), lo cual concuerda con los hallazgos de Louguet *et al.* (1990) y Silva *et al.* (1999), quienes reportan que el tamaño y la densidad estomática varían con el déficit hídrico. Patton y Jones (1989) reportan diferencias por la radiación solar; Hernández *et al.* (2006) encontraron influencia debido a las condiciones del suelo y Parés *et al.* (2008), por niveles de salinidad. El área estomática de las hojas de las plantas de Lampazos, N.L. fue significativamente mayor ($p \leq 0.01$) a las de Saltillo, Coah. (Cuadro 2); tal diferencia podría deberse al nivel de ploidía de las plantas. Respecto a lo anterior, Conde (1975) encontró en cinco morfoespecies de nopal (*Opuntia* spp) esta relación numérica, al realizar mediciones de anchura estomática, variable considerada como indicadora de ploidía. La densidad de tricomas, en cambio, no presentó diferencia estadística alguna en las muestras foliares de ambas localidades (Cuadro 2), lo cual indica estabilidad en este carácter. La pubescencia abundante de *T. lanuginosa* se debe a adaptaciones propias de plantas xerófitas que se encuentran en áreas expuestas a excesiva radiación solar y escasez de humedad (Dal Molin y González, 2005).

Cuadro 1. Clima y altitud de las localidades de estudio [García, 1973; INEGI, 2007].

Localidad municipio	Altitud (m.s.n.m)	Precipitación (acumulada anual)	Temperatura (media anual)	Tipo de clima (koeppen)
Lampazos, N.L.	335	425.0	22.0	$BS_0(h^i)hw^{ii}(e^i)$
Saltillo, Coah,	1560	303.9	21.7	$BS0kx^l(e)$

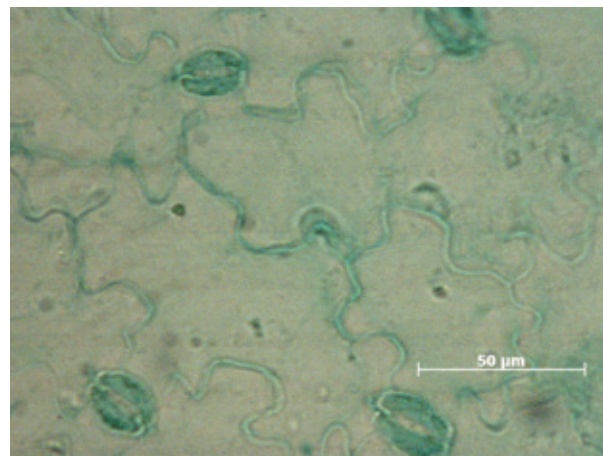
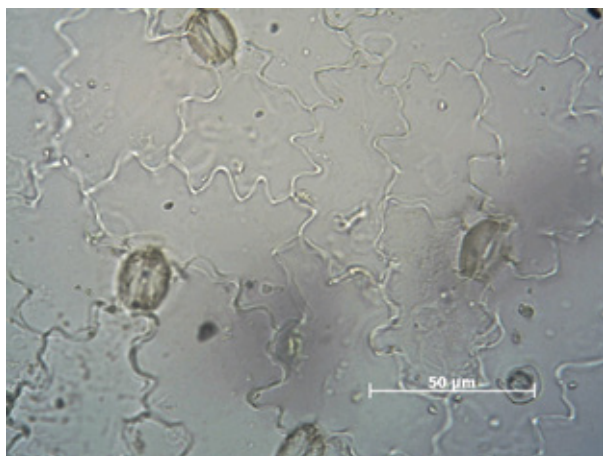


Figura 1. Estomas con patrón anomocítico encontrado en la epidermis foliar de *T. lanuginosa* en Saltillo, Coah. (izq.) y Lampazos, N.L. (der.) (40 X).

Cuadro 2. Análisis de varianza de las variables estudiadas en cada localidad de colecta de ejemplares.

Localidades ¹	Índice estomático (%)	Densidad estomática (mm ²)	Área promedio por estoma (μm ²)	Densidad de tricomas (mm ²)
Saltillo, Coah.	24,7033 b	214,44 a	229,83 b	137,77 a
Lampazos de Naranjo, N. L.	27,1280 a	134,44 b	359,50 a	134,81 a
C.V. (%)	8,16 **	26,39 **	16,20 **	11,46 n.s.

¹ Localidades con letra diferente indican significancia al nivel $p < 0.01$.

Electromicrografías

Respecto a las demás células epidérmicas, las micrografías electrónicas de barrido revelan diferencias en la posición de los estomas (Figura 2). Los estomas de las hojas de Lampazos se presentan más elevados, mientras que los de Saltillo están en el mismo nivel.

Los tricomas de esta especie son candelabriformes, de 8 a 10 ramas y de aspecto estrellado, como puede apreciarse en la Figura 3. Esta observación concuerda con el estudio de Sánchez del Pino y Flores Olvera (2002).

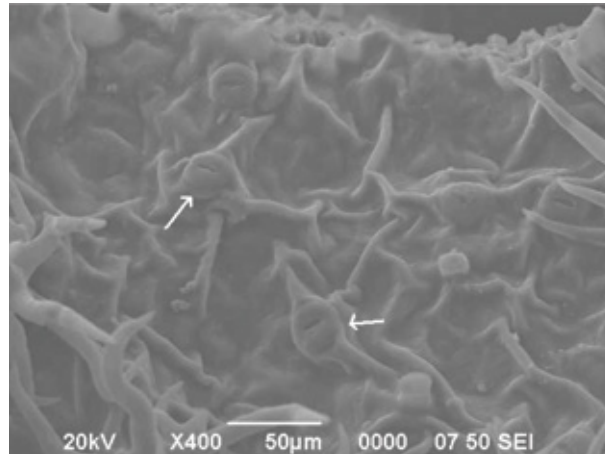


Figura 2. Electromicrografía de epidermis foliar de *T. lanuginosa*, de Lampazos, N.L., que muestra la posición elevada de los estomas respecto a las demás células epidérmicas (400X).

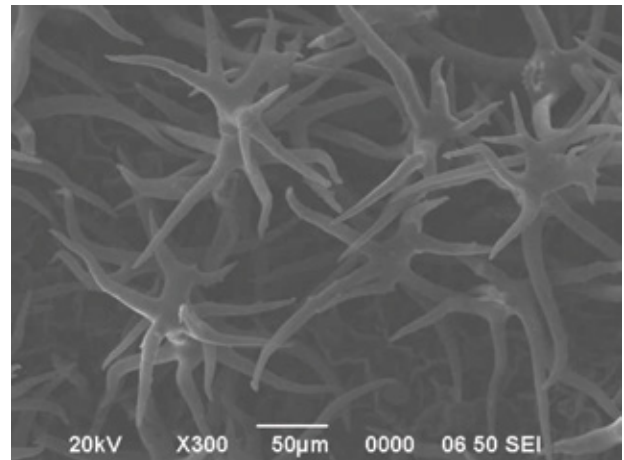
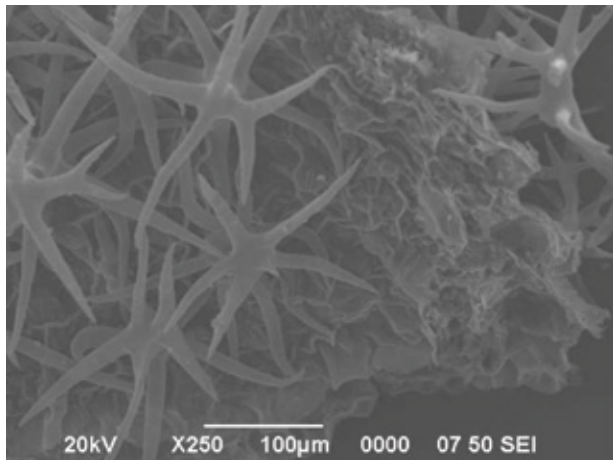


Figura 3. Electromicrografías de tricomas candelabriformes en epidermis de *Tidestromia lanuginosa* en muestras provenientes de Saltillo, Coah. (izq.) 250X, y Lampazos, N. L. (der.), 300X.

CONCLUSIONES

A pesar de que no se cuenta con trabajos anatómicos de esta especie, los resultados de este estudio muestran la importancia que puede tener el conocimiento acerca de la manifestación morfológica, resultado de la interacción genotipo-ambiente y lograr una mejor comprensión acerca de la adaptación de las plantas a las zonas áridas, a fin de aprovechar su potencial alimenticio, industrial y medicinal. Asimismo, es recomendable realizar estudios genéticos de estas plantas, ya que el grado de ploidía puede ser distinto en hábitats y regiones diferentes, lo que puede propiciar una manifestación morfológica diferente y correlativa a una fisiología en particular.

LITERATURA CITADA

- CONDE, L.F. 1975. Anatomical comparisons of five species of *Opuntia* (Cactaceae). ANN MISS BOT GARD 62: 425-473.
- CORRELL, D. S., M.C. Johnston. 1970. Manual of the Vascular Plants of Texas. Ed. Texas Research Foundation. Renner, Texas, E. U. A. 1881 p.
- DAL MOLIN, P. y A.M. González. 2005. Anatomía foliar de algunas especies arbóreas del Parque Chaqueño. Rojassiana 7(1): 142-152.
- FERRAROTTO, M.S. 1998. Arquitectura foliar de *Amaranthus dubius* Mart y *Amaranthus cruentus* L. (Amaranthaceae) ACTA BOT VENEZ 21(1): 75-85.
- GARCÍA, E. 1973. Modificaciones al Sistema de Clasificación de Koeppen. Instituto de Geografía, UNAM, México. pp. 88 y 152.
- GONZÁLEZ-FERRARA, M.M. 1998. Plantas medicinales del Noreste de México. VITRO-NOVATERRA-IMSS. Monterrey, México. p. 83.
- HERNÁNDEZ, Y., F. Portillo, M. Portillo, C. Navarro, M. Rodríguez, J. Velasco, 2006. Densidad estomática en materiales de plátano (*Musa* AAB, AAAB y ABB) susceptibles y resistentes a Sigatoka Negra (*Mycosphaerella fijiensis*, Morelet). Rev. Fac. Agron. Julio, 2006, vol. 23, No. 3 [citado el 28 de julio de 2009], pp. 294-300.
- INEGI. 2007. Anuario Estadístico. Coahuila de Zaragoza. Instituto Nacional de Estadística, Geografía e Informática. México, p. 641.
- _____. Anuario Estadístico. Nuevo León. Instituto Nacional de Estadística, Geografía e Informática. México. p. 641.
- JOHANSEN, D.A. 1940. Plant Microtechnique. Mc. Graw Hill. USA. 523 pp.
- LOUGHET, P.A., A. Coudret, J. Couot-Gasteller y G. Lasceve. 1990. Structure and Ultrastructure of stomata. BIOCHEM PHYSIOL PFLANZEN 186: 273-287.
- MARTÍNEZ-GORDILLO, M. y S. Espinosa-Matías. 2005. Tricommas foliares de *Croton*, sección *Barthamia* (Euphorbiaceae). ACTA BOT MEX 72: pp. 39-51.
- OLIVARES, S. E. 1994. Paquete de Diseños Experimentales FAUANL, Versión 2.5. Facultad de Agronomía, Universidad Autónoma de Nuevo León. Marín, Nuevo León, México.
- PARÉS, J. M., M. Arizaleta, M.E. Sanabria y G. García. 2008. Efecto de los niveles de salinidad sobre la densidad estomática, índice estomático y grosor foliar en plantas de *Carica papaya* L. ACTA BOT VENEZ 31(1): 27-34.
- PATTON, L. y M.B. Jones. 1989. Some relationships between leaf anatomy and photosynthetic characteristics of willows. NEW PHYT 111: 657-661.
- SÁNCHEZ DEL PINO, I. y H. Flores-Olvera. 2002. New Taxa and a New Combination in *Tidestromia* (Amaranthaceae) from North America. JOUR BOT NOM 12 (3): 399-407.
- SÁNCHEZ DEL PINO, I. y H. Flores-Olvera. 2006. Phylogeny of *Tidestromia* (Amaranthaceae, Gomphrenoideae) based on morphology. SYST BOT 31 (4): 689-701.
- SILVA, H., J.P. Martínez, C. Baginsky, y M. Pinto. 1999. Efecto del déficit hídrico en la anatomía foliar de seis cultivares de poroto (*Phaseolus vulgaris* L.). REV CHIL HIST NAT. 72: 219-235.
- TICHÁ, I. 1982. Photosynthetic characteristics during ontogenesis of leaves. 7. Stomatal density and sizes. PHOTOSYNTHETICA 16: 375-471.
- WATSON L. y M. J. Dallwitz, 1991. The families of angiosperms: automated descriptions with interactive identification and information retrieval. AUST SYST BOT 4: pp. 681-95.