Tecnociencia, Vol. 22, N° 1: 66-75 enero-junio 2020

VARIACIONES MORFOMÉTRICAS Y DENSIDAD ESTOMÁTICA EN HOJAS DE *Mangifera indica* BAJO CONDICIONES LUMÍNICAS CONTRASTANTES

Emilio Romero-Romero ^{1*}, Ricardo Sánchez ², Joana Sumich ², Yostin Jesús Añino ^{1, 3,4} & Omar R. Lopez ^{5,6}

- ¹ Departamento de Fisiología y Comportamiento Animal, Universidad de Panamá, Panamá
- ² Departamento de Botánica, Universidad de Panamá, Panamá
- ³ Museo de Invertebrados G.B. Fairchild, Universidad de Panamá, Panamá
- ⁴ Programa de Maestría en Gestión Ambiental y Sostenibilidad, Universidad del Istmo, Panamá
- ⁵ Centro de Biodiversidad y Descubrimiento de Drogas, INDICASAT-AIP, Panamá
- ⁶ Smithsonian Tropical Research Institute, Ancón, Panamá
- *E-mail: emilioromero2011@gmail.com ; rsanche28@hotmail.com joanasumich@gmail.com ; olopez@indicasat.org.pa ; yostin0660@gmail.com

RESUMEN

La densidad estomática (DE) es el número de estomas por unidad de área foliar y representa un integrador de la interacción planta-ambiente a nivel foliar. El objetivo de este estudio fue evaluar la variación morfológica foliar y la densidad estomática en respuesta a condiciones lumínicas contrastantes en hojas de Mangifera indica "mango". Para esto, se cuantificó el ancho, largo y la DE en 75 hojas de sombra e igual cantidad de hojas de luz en M. indica. Se comparó el ancho y largo entre hojas de luz y de sombra, encontrando diferencias significativas para ambas dimensiones (p<0.0001, Mann-Whitney). Al comparar las áreas foliares, las hojas de sombra fueron más grandes (p<0.0001), pero la densidad estomática es mayor en hojas de luz (p<0.0001). Por último, las hojas de luz presentaron entre 40 y 266 estomas/mm², X = 163 ± 55.5 estomas/mm²; mientras que las hojas de sombra registraron valores entre 13.3 y 220 estomas/mm², \bar{x} = 107 ± 40 estomas/mm². Estos resultados indican que las hojas de sombra son más grandes, pero las hojas de luz, a pesar de su menor tamaño, poseen más estomas por área. Esta variación podría estar relacionada con las condiciones microclimáticas determinadas por la exposición lumínica y los déficits hídricos asociados a la misma.

PALABRAS CLAVES

Ajustes de costo-beneficio, Área foliar, Estomas, Hojas de luz, Morfometría

foliar.

MORPHOMETRIC VARIABILITY AND STOMATAL DENSITY IN LEAVES OF *Mangifera indica* UNDER CONTRASTING LIGHT CONDITIONS

ABSTRACT

Stomatal density (SD) reflects the number of stomata per unit of leaf area and is used as integrator of plant-environment interactions at the leaf level. The objective of this study was to evaluate leaf morphology and stomatal density variability in relation to contrasting light conditions in leaves of *Mangifera indica* "mango". For this, the width, length and SD were quantified in 75 shaded and sunny leaves in *M. indica*. The width and length between sunny and shaded laminas were compared, finding significant differences for both dimensions (p <0.0001, Mann-Whitney). When comparing leaf areas, shaded leaves had bigger areas (p <0.0001), but stomatal density was higher in sunny leaves (p <0.0001). Finally, sunny leaves showed between 40 and 266 stomata / mm², \overline{X} = 163 ± 55.5 stomata / mm²; while shaded leaves recorded values between 13.3 and 220 stomata / mm², \overline{X} = 107 ± 40 stomata / mm². These results indicate that shaded leaves are larger, but sunny leaves, despite their smaller size, have more stomata per area. This variation could be related to microclimatic conditions determined by light exposure and the associated water deficits experienced under such conditions.

KEYWORDS

Leaf area, Leaf morphometry, Stomata, Sunny leaves, Trade-offs.

INTRODUCCIÓN

En las plantas, la hoja es el órgano con mayor plasticidad ante las variantes condiciones ambientales o su heterogeneidad (Levitt, 1980). El intercambio de gases se lleva a cabo, primordialmente, a través de los estomas en la epidermis de la hoja y son estos los responsables de maximizar la entrada de CO₂ para la fotosíntesis a costa de minimizar la pérdida de agua durante la transpiración (Barrientos-Priego *et al.*, 2003). Por lo tanto, bajo condiciones ambientales cambiantes, la hoja responde morfológicamente al estrés impuesto por factores ambientales para maximizar la asimilación de carbono (González-Bermúdez, 2013).

La densidad estomática (DE), se define como el número de estomas por unidad de área foliar y representa un valor integrador y comparativo de la interacción planta-ambiente a nivel foliar, siempre y cuando su comparación se limite a órganos ontogénicamente similares y de igual taxonomía (Parés *et al.*, 2004). La cantidad de estomas

presentes en una hoja depende de factores genéticos propios de cada especie, disponibilidad de agua y la intensidad lumínica que estas reciban. El tamaño de la hoja está frecuentemente correlacionado con su densidad estomática, considerando que las hojas de mayor tamaño poseen más superficie para que la luz incida (Lallana & Lallana, 2004). Debido a la importancia y relevancia que poseen las estomas en la fisiología de las plantas, el objetivo del presente estudio es evaluar la densidad estomática y las variaciones morfométricas que poseen las hojas de *Mangifera indica* bajo condiciones lumínicas contrastantes.

Este trabajo apunta a contestar las siguientes preguntas: i.) ¿Cómo varía la morfometría foliar (largo y ancho= tamaño) en relación con condiciones lumínicas contrastantes?, ii.) ¿Cómo varía la DE con relación a la exposición lumínica en hojas de *M. indica*? y iii.) ¿Existe alguna relación entre la DE y el tamaño de la hoja (área) en respuesta a la luz?

MATERIALES Y MÉTODOS

Área de Estudio

Este estudio fue realizado en el campus central Octavio Méndez Pereira de la Universidad de Panamá, ubicado en la provincia de Panamá con coordenadas geográficas: 8°59′02″N; 79°32′00″O. De Sedas *et al.*, 2010 reportan que en el campus central existen unas137 especies árboles y arbustos distribuidos en 118 géneros y 49 familias. Los árboles de *Mangifera indica*, un elemento frecuente en la arborización del campus central, se encuentran dispersos por todo el campus universitario y poseen una altura aproximada que oscila entre los 7-15 metros.

Fase de Campo

Las muestras fueron obtenidas de un total de 75 árboles de *Mangifera indica* seleccionados al azar dentro del campus. De cada árbol se colectaron dos hojas, una proveniente de la parte más interna, cercana al tronco a la que denominamos "hoja de sombra" y otra de la parte más externa y expuesta a la radiación directa, a la que denominamos "hoja de luz" (Restrepo, Volder, & Lombardini, 2009). Una vez colectadas las hojas, fueron debidamente rotuladas y trasladadas al laboratorio.

Fase de laboratorio

Para la cuantificación de los estomas en cada una de las hojas colectadas, realizamos impresiones con esmalte transparente de uñas (i.e., nitrocelulosa), aplicando una ligera película de esmalte en la superficie foliar (abaxial y adaxial) y al secar, aproximadamente 120 segundos después, removimos la película con cinta adhesiva transparente y la colocamos en un portaobjeto obteniendo una impresión epidérmica de la hoja (Sánchez, Fischer, & Sanjuanelo, 2013). Una vez realizado este procedimiento se contaron los estomas bajo el Microscopio (Olympus CX21, Japón) con el objetivo 40X y campo visual de 0.15 mm², se determinó la DE por mm². Posteriormente se midieron las hojas en función del largo y ancho.

Análisis de datos

Los datos obtenidos tras el conteo de estomas y las medidas morfométricas fueron tabulados en el programa Microsoft Excel 2013. Una vez ordenados, se calculó el área foliar (AF) de cada hoja utilizando un modelo de regresión lineal en base a la ecuación AF = a + b (Lh x Ah) (Cabezas-Gutiérrez et al., 2009), donde: a= es una constante, b= coeficiente de regresión lineal, Lh = longitud de la hoja y Ah = el ancho máximo de la hoja. Los valores de las constantes a (-0.363573) y b (0.76159) fueron obtenidos del estudio propuesto por Calderón et al., 2009. Es importante destacar que para el proceso de análisis de datos solo tomamos en cuenta los estomas de la superficie abaxial, ya que en la mayoría de las especies de la familia Anacardiaceae, la densidad estomática de superficie adaxial es significativamente menor (Al-Saghir & Porter, 2005).

Los datos de área foliar obtenidos de "hojas de luz" y "hojas de sombra" se compararon entre sí utilizando la prueba Mann-Whitney ya que los datos no cumplían con los supuestos de normalidad. En adición, se compararon las densidades estomáticas (DE) de dichas hojas y se realizaron correlaciones de Spearman entre AF (luz y sombra) y DE (luz y sombra). Todos los datos fueron analizados utilizando el programa R (R Core Team, 2018).

RESULTADOS

Morfometría foliar

Las hojas de luz con exposición al sol midieron entre 2.82 y 9.52 cm de ancho, \overline{X} = 5.2 ±1.22 cm; mientras que para las hojas de sombra se

registraron valores entre 3.12 y 8.77 cm de ancho, \overline{x} = 5.82 ± 1.21 cm. Con respecto al largo, las hojas de luz midieron entre 10.4 y 40.52 cm de largo, \overline{x} = 22.88 ± 5.77 cm; mientras que para las hojas de sombra se registraron valores entre 15.18 y 40.52 cm de largo, \overline{x} = 26.46 ± 5.26 cm.

La prueba de Mann-Whitney para comparar ancho y largo entre hojas de luz y de sombra indica que si existen diferencias significativas entre las mismas (p<0.0001) y (p<0.0001), respectivamente.

Área foliar de hojas de luz y sombra

Las hojas de luz o expuestas al sol presentaban un área foliar entre $23.03 \text{ y} 298.6 \text{ mm}^2$, $\overline{X}=97.58 \pm 49.1 \text{ mm}^2$; mientras que para las hojas de sombra se registraron valores entre $38.2 \text{ y} 252.9 \text{ mm}^2$, $\overline{X}=123.9 \pm 46.45 \text{ mm}^2$. La prueba de Mann-Whitney para comparar las áreas foliares indica que si existen diferencias significativas (p<0.0001), por lo que el área foliar es mayor en hojas de sombra (Figura 1).

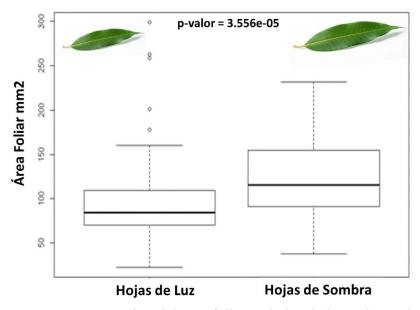


Figura 1. Comparación del área foliar en hojas de luz y de sombra.

DE en hojas de luz vs hojas de sombra

Las hojas de luz o expuestas al sol presentaron entre 40 y 266 *Tecnociencia, Vol. (22), N°1* 70

estomas/mm², $\overline{x} = 163 \pm 55.5$ estomas/mm²; mientras que para las hojas de sombra se registraron valores entre 13.3 y 220 estomas/mm², $\overline{x} = 107 \pm 40$ estomas/mm². La prueba de T de student para comparar las densidades estomáticas indica que si existen diferencias significativas (p<0.0001) (Figura 2).

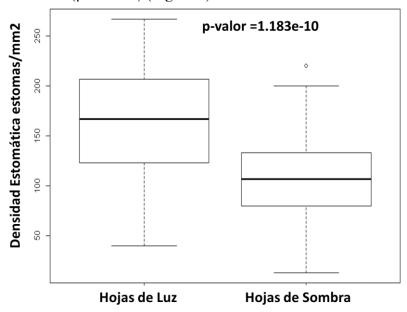


Figura 2. Comparación de la densidad estomática entre hojas de luz y de sombra.

Relación entre el área foliar y la densidad estomática

Las pruebas de correlación de Spearman indican que existe poca relación entre el área foliar y la densidad estomática en hojas de luz (r = -0.06). Lo mismo ocurrió con la relación entre el área foliar y la densidad estomática en hojas de sombra (r = -0.16), por lo que la variación en el tamaño de la hoja poco explica la variación en la densidad estomática en hojas de *Mangifera indica*.

DISCUSIÓN

Las hojas son órganos sumamente dinámicos que integran diferentes funciones en las plantas; captura de luz, termorregulación e intercambio gaseoso (Barrientos-Priego *et al.*, 2003). Por lo tanto, su forma es altamente variable en respuesta a las condiciones ambientales. En este estudio, las hojas de mango en sombra tienden a

ser más anchas y largas que las hojas con mayor exposición lumínica. Esto concuerda con resultados obtenidos en otras especies de plantas tropicales, como *Piper reticulatum* Piperaceae (Villegas-Retana & Chavarría-Soto, 2016). Una posible explicación, es que la baja disponibilidad lumínica induce ajustes a fin de aumentar la capacidad y optimizar la eficiencia de captación de luz, lo que se traduce en el aumento del área foliar (Córdova, Carreño, Morales, & Álvarez, 2016). Esta interpretación se ve apoyada en el hecho de que las hojas de sombra también tienden a mostrar un incremento de pigmentos fotosintéticos (Chazdon & Kaufmann, 1993). Entonces, el aumento de tamaño en las hojas de sombra parece estar ligado a maximizar la captura de luz para optimizar la fotosíntesis bajo limitaciones lumínicas.

La densidad estomática también varió significativamente entre hojas de sombra y de luz, siendo éstas últimas las que mayor densidad estomática presentaron. Fisiológicamente, una mayor densidad estomática en hojas con mayor exposición lumínica podría explicarse en términos de balance energético. Una mayor incidencia de luz equivale a un incremento en la energía absorbida por unidad de área foliar, por lo que mayor incidencia lumínica representa una mayor necesidad de disipación de calor. En este sentido, el aumento en el número de estomas contribuye a la disipación de calor, siempre y cuando el recurso hídrico no sea limitante. Por ejemplo, en plántulas de Anacardium excelsum, otra especie de la familia Anacardiaceae, la densidad estomática aumenta a lo largo de un gradiente de precipitación (Lezcano & Lopez, datos sin publicar). Sin embargo, un aumento en la exposición lumínica también trae como consecuencia un aumento en la capacidad fotosintética dado a una mayor disponibilidad de fotones. En otras plantas como en las Bromelias, Cach (2008) indica que, aunque no existe variación en la densidad estomática con respecto a la radiación solar, las hojas muestran una tendencia al aumento en la densidad de estomas con el aumento en la cantidad de radiación solar recibida por las plantas; En plantas de lavanda Lavandula angustifolia un aumento en la incidencia de luz provoca un ligero aumento en la densidad estomática (Petrova, 2012). Estudios preliminares sugieren existe una cantidad que significativamente diferente entre las muestras, ya que la cantidad estomática media presente en las hojas de la especie Mangifera indica es mayor en las hojas expuestas a la radiación solar de forma directa Tecnociencia, Vol. (22), N°1 72

(Rojas, Aguilar, Lizano, Orozco, & Cruz, 2017); con mayor densidad estomática en la superficie abaxial (Al-Saghir & Porter, 2005).

Si bien, en nuestro estudio *M. indica* mostró un aumento en la DE con relación a mayor exposición lumínica, seria imperante realizar estudios experimentales a futuro que puedan discernir la contribución del factor luz y del balance hídrico.

CONCLUSIÓN

Las hojas de Mangifera indica con poca exposición lumínica tienden a ser más largas y anchas con respecto a las hojas con abundante exposición al sol, por consiguiente, el área foliar en hojas de sombra es mayor. Las implicaciones de la exposición lumínica para las hojas de M. indica en este estudio tienen un doble efecto. En primer lugar, las hojas responden morfológicamente a la variación lumínica; a menor incidencia lumínica las hojas aumentan su tamaño para poder maximizar la captura de luz. Por otro lado, a mayor incidencia, el tamaño de la lámina foliar se reduce dado que el recurso lumínico no es limitante. En segunda instancia, al incrementar la luz se observó un incremento en el número de estomas. Sin embargo, este incremento puede ser una respuesta al ajuste energético requerido ante el aumento de incidencia de luz y una mayor capacidad para intercambio gaseoso ya que la densidad estomática resultó significativamente mayor en hojas de luz que en hojas de sombra. Por último, las variaciones en el área foliar y la densidad estomática no guardan relación sean hojas de luz o de sombra.

REFERENCIAS

Al-Saghir, M. & D. Porter. 2005. Stomatal Distribution in *Pistacia* sp. (Anacardiaceae). Int. J. Bot., 1(2): 183–187.

Barrientos-Priego, A.F., M. W. Borys, C. Trejo, & L. López-López. 2003. Stomatal density and index in leaves of three races of Avocado seedlings. Rev. Fitotec. Mex., 26(4): 285–290.

Cabezas, M., F. Peña, H. W. Duarte, J. Colorado, & R. Lora. 2009. Un modelo para la estimación del área foliar en tres especies forestales de forma no destructiva. Rev. UDCA Actual. Divulg. Científica, 1(55): 121–130.

Cach, M.J. 2008. Influencia ambiental sobre la fisiología y anatomía foliar de *Tillandsia heterophylla*, bromelia endémica de México. Msc. Thesis. Instituto de Ecología, A.C.

Calderón, A., F. Soto, M. Calderón & L. Fundora. 2009. Estimación de área foliar en posturas de mango (*Manguifera indica* L.) y aguacatero (*Persea* spp) en fase de vivero a partir de las medidas lineales de las hojas. Cultiv. Trop., 30(1): 43–48.

Chazdon, R. & S. Kaufmann. 1993. Plasticity of Leaf Anatomy of Two Rain Forest Shrubs in Relation to Photosynthetic Light Acclimation. Functional Ecology, 7(4): 385-394.

Córdova, M.E., F. S. Carreño, D. Morales, & I. Álvarez. 2016. Influence of light on some physiological characteristics of coffee (*Coffea arabica* L. cv. Caturra) in nursery conditions. Cultiv. Trop., 37 (4): 89–97.

De Sedas, A., F. Hernández, R. Carranza, M. Correa, & M. Stapf. 2010. Guía de árboles y arbustos del Campus Dr. Octavio Méndez Pereira, Universidad de Panamá, 161pp.

González-Bermúdez, G.A. 2013. Respuesta de la densidad estomática a características foliares e individuales en tres especies de árboles en Gamboa, Panamá. Pensamiento Actual, 13: 43–49.

Lallana, V. & M. Lallana. 2004. Densidad estomática en hojas de *Eryngium horridum* MALME y su relación con el estado de desarrollo de las hojas. Rev. Investig. la Fac. Ciencias Agrar. UNR, 5: 81–86.

Levitt, J. (1980). Responses of plants to environmental stresses (2° Edition; N. Y. Academic Press, Ed.).

Parés, J., M. Arizaleta, M. E. Sanabria, & L. Brito. 2004. Características de los estomas, densidad e índice estomático y su variación en función a la injertación en *Annona muricat*a L . y *A* . *montana* MADFAC. Bioagro, 16(3): 213–218.

Petrova, Y. (2012). The effect of light intensity on the stomatal density of lavender, Lavandula angustifolia. *Young Scientists Journal*, (12), 89–94.https://doi.org/10.4103/0974-6102.105078

R Core Team (2018) R: A Language and Environment for Statistical Computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna. https://www.R-project.org

Restrepo, H., Volder, A., & Lombardini, L. (2009). Caracterización morfológica y fisiológica de hojas de luz y de sombra en nogal pacanero. Journal of the American Society for Horticultural Science, 134(3), 372–3748

Rojas, K. A., Aguilar, B. C., Lizano, K. C., Orozco, G., & Cruz, A. L. (2017). Densidad estomática de Mangifera indica con respecto a la exposición solar Introducción Metodología. *Rpubs*.

Sánchez, C., Fischer, G., & Sanjuanelo, D. W. (2013). Stomatal behavior in fruits and leaves of the purple passion fruit (Passiflora edulis Sims) and fruits and cladodes of the yellow pitaya [Hylocereus megalanthus (K. Schum. ex Vaupel) Ralf Bauer]. Agronomia Colombiana, 31(1), 38–47.

Villegas-Retana, S. A., & Chavarría-Soto, M. (2016). Morfometría foliar y clorofila de Piper reticulatum (Piperaceae) en luz y sombra en la Estación Biológica La Selva, Costa Rica. Cuadernos de Investigación UNED, 8(2), 255–258. https://doi.org/10.22458/urj.v8i2.1569

Recibido abril de 2019, aceptado diciembre de 2019.