

## VARIACIÓN EN EL ÍNDICE Y DENSIDAD ESTOMÁTICA EN PLANTAS DE TOMATE (*Lycopersicon esculentum* Mill.) SOMETIDAS A TRATAMIENTOS SALINOS

José A. Salas<sup>1</sup>, María E. Sanabria<sup>2</sup> y Reinaldo Pire<sup>2</sup>

### RESUMEN

Plantas de tomate cv. Missouri, cultivadas en campo, fueron regadas con agua que contenía diferentes niveles de NaCl (conductividad eléctrica aproximada de 0,5; 2,3; 3,1 y 5,0 dS/m). Al momento de la cosecha, se colectaron al azar porciones medias de folíolos para determinar el índice estomático (IE) y la densidad estomática (DE). Las plantas sometidas a los tres mayores tratamientos salinos resultaron con valores de IE promedio para ambas superficies de la hoja de 63,45; 63,97 y 77,52, respectivamente, en relación con el tratamiento testigo de (0,5 dS/m) que presentó un IE de 58,47. En cuanto a la densidad estomática, la salinidad produjo un descenso del número de estomas por unidad de superficie en la cara adaxial de las hojas y un ligero aumento en la cara abaxial. En consecuencia, el menor valor (59,73 estomas/mm<sup>2</sup>) se encontró en el tratamiento más salino (cara adaxial de la hoja) y el mayor (175,17 estomas/mm<sup>2</sup>) en el menos salino (cara abaxial de la hoja). Estos resultados parecen indicar una forma de evasión anatómica por parte de las plantas de tomate ante condiciones de estrés salino.

**Palabras clave adicionales:** Anatomía foliar, estomas, salinidad, cloruro de sodio

### ABSTRACT

#### Modification of stomatal index and density in tomato plants (*Lycopersicon esculentum* Mill.) submitted to saline treatments

Field grown tomato plants cv. Missouri were irrigated with water containing four different levels of NaCl (EC of approximately 0.5, 2.3, 3.1 and 5.0 dS/m). At harvest, stomatal index (SI) and stomatal density (SD) were determined on the middle portions of randomly selected leaflets. Average values of SI of 58.47, 63.45, 63.97 and 77.52 were found for the four saline treatments, respectively. SD decreased in the adaxial side of the leaf and increased in the abaxial side as the electrical conductivity of the irrigation water increased. As a result, SD was lowest (59.73 estomata/mm<sup>2</sup>) at the adaxial side of the leaves in the most saline treatment while it was highest (175.17 estomata/mm<sup>2</sup>) at the abaxial surface in the lowest saline level. The results seem to show a kind of anatomical evasion of tomato plants when submitted to salinity stress.

**Additional key words:** Leaf anatomy, stomata, salinity, sodium chloride

### INTRODUCCIÓN

Muchas de las áreas de restringido uso agrícola a causa de la salinidad están localizadas donde hay abundante energía solar que puede ser usada por las plantas para producir altos rendimientos (Hale y Orcutt, 1987). La salinidad es un factor edáfico que limita la distribución de las plantas en ciertos hábitat naturales constituyendo un factor detrimental en la agricultura en muchas partes del mundo (James et al., 1982).

Las plantas son afectadas de dos formas en un ambiente de alta salinidad, en primer lugar el efecto por estrés hídrico impuesto por la disminución del potencial osmótico del medio de enraizamiento, y por otro lado el efecto tóxico de los iones como resultado de altos contenidos de solutos (Lerner, 1985).

En general, las plantas evitan los efectos de las sales tanto por la restricción de absorción de iones en los tallos así como por la regulación osmótica a través de la absorción de iones que

Recibido: Enero 11, 2001

Aceptado: Julio 17, 2001

<sup>1</sup> Instituto Nacional de Investigaciones Agropecuarias. Centro de Investigaciones Agropecuarias del estado Lara. Apdo. Postal 592. e-mail: joseantoniosalas@hotmail.com.

<sup>2</sup> Posgrados de Agronomía, Decanato de Agronomía, Universidad Centroccidental "Lisandro Alvarado". Apdo. 400. Barquisimeto. Venezuela.

permite ajustar a altas concentraciones de sales los tejidos verdes (Shannon, 1979; Lerner et al., 1994).

Otros tipos de estrategias consisten en cambios anatómicos-morfológicos en la planta para contrarrestar los efectos de las sales. Estos cambios pueden ser importantes en la eficiencia del uso del agua y la tolerancia de las plantas a las sales. (Tal, 1970; Shannon, 1985; Hale y Orcutt, 1987). Por otro lado, la inhibición del crecimiento de la raíz por la salinidad en menor proporción que la parte aérea, aumenta la relación raíz-tallo, lo cual es considerado como un mecanismo de tolerancia a la salinidad, similar a las alteraciones que se producen en el desarrollo de algunas plantas para mantener el balance hídrico (Shannon, 1979; Robb y Pierpoint, 1983; Kafkafi, 1994).

El objetivo principal de esta experimentación consistió en someter plantas de tomate a diferentes niveles de salinidad en el agua de riego para estudiar sus efectos sobre los cambios epidérmicos a nivel foliar de las plantas, bajo las condiciones agroclimáticas de la depresión de Quíbor, estado Lara.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### Material vegetal

El material vegetal utilizado consistió en plantas de tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill.) cv. Missouri, caracterizados por presentar un crecimiento semi-determinado con un ciclo de vida de 80 a 90 días y moderada tolerancia a la salinidad. Los frutos son periformes típicos con pesos entre 80 y 100 g, para consumo fresco o la industria (doble propósito).

### Tratamientos salinos

Los tratamientos salinos fueron preparados a partir de una solución concentrada de NaCl a su máxima solubilidad (salmuera), con sal común comercial con 99,97% de NaCl y 0,03 % de yodato de potasio. Estos tratamientos fueron designados como:

T<sub>1</sub> = Agua normal de riego procedente del túnel del sistema de riego Yacambú-Quíbor y almacenada en laguna, a la cual durante el ensayo se le determinó una conductividad eléctrica (CE) aproximada de 0,5 dS/m, siendo designada como testigo del experimento debido a su bajo contenido de sales.

T<sub>2</sub> = Agua normal de riego + salmuera hasta obtener una CE de 2,3 dS/m.

T<sub>3</sub> = Agua normal de riego + salmuera hasta obtener una CE de 3,1 dS/m.

T<sub>4</sub> = Agua normal de riego + salmuera hasta obtener una CE de 5,0 dS/m.

La solución salina fue asperjada sobre la lámina de agua presente en el surco de riego. Una vez aplicada, se midió la conductividad eléctrica final, utilizando un conductímetro portátil, a una muestra compuesta de agua tomada en seis puntos de los surcos principales de cada parcela experimental y se obtuvieron los valores antes señalados. El calendario de aplicación para cada uno de los tratamientos se inició a los 20 días después del trasplante con una aplicación semanal por un período de 10 semanas.

### Anatomía foliar

Se realizó un muestreo al final de la aplicación de los tratamientos salinos, colectándose al azar 50 folíolos por tratamiento provenientes de las cinco repeticiones en campo, los mismos se seccionaron en su parte media en segmentos rectangulares de aproximadamente 1 cm<sup>2</sup> y colocados en tubos de ensayo que contenían mezcla fijadora FAA (formol, alcohol y ácido acético) (Cutler, 1978) y sellados herméticamente para su preservación. En el laboratorio fueron transferidos a tubos de ensayo con lejía comercial y sometidos a agitación mecánica por un lapso de 20 horas, hasta que ocurrió el aclaramiento de los tejidos; posteriormente, se preservaron en alcohol etílico al 75% hasta la preparación de las láminas.

Las epidermis abaxiales y adaxiales de las muestras vegetales se sumergieron en una solución coloreada con azul de toluidina. La separación de ambos tejidos se realizó con agujas de disección y una lupa estereoscópica, finalmente se prepararon láminas semipermanentes usando una mezcla de agua: glicerina (1:1) como solución montante. Se realizó un total de 120 montajes correspondientes a cinco repeticiones por cada epidermis para cada una de las variedades y tratamientos salinos.

El cálculo del índice estomático (IE) se basó en el conteo del número de estomas y células epidérmicas típicas observadas a través de un microscopio óptico con un campo de observación de 400X. Los valores obtenidos permitieron la

obtención de índice utilizando la fórmula siguiente (Wilkinson, 1979):

$$IE = \frac{\text{Número de estomas}}{\text{Células epidérmicas} + \text{Número de estomas}} \times 100$$

Igualmente, se calculó el área del campo visual del microscopio, el cual correspondió a  $9,62 \times 10^{-4} \text{ mm}^2$ , que fue luego usado para determinar la densidad estomática.

### Análisis estadístico

Los datos obtenidos fueron promediados y procesados estadísticamente mediante los análisis de la varianza correspondientes para detectar las significancia de los factores bajo estudio. Las diferencias significativas detectadas fueron estudiadas a través de la prueba de rango múltiple de Duncan. Los análisis de la varianza y prueba de medias fueron realizados con la utilización del paquete estadístico Statistical Analysis System (SAS Institute, Cary, N. C.).

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El Cuadro 1 muestra los valores del índice estomático (IE), como promedio de las superficies abaxial y adaxial, obtenidos en los cortes paradérmicos de las hojas. Se encontró un efecto producido por los tratamientos salinos sobre esta variable, la cual aumentó a medida que se incrementaron los niveles de sal aplicada, siendo los valores de IE en el tratamiento más salino estadísticamente superiores ( $P \leq 0,05$ ) al del resto de los tratamientos.

**Cuadro 1.** Índice estomático promedio en ambas superficies de las hojas de plantas de tomate sometidas a tratamientos salinos

Tratamiento CE (dS/m)	Índice estomático
T1 0,5	58,47 a
T2 2,3	63,45 a
T3 3,1	63,97 a
T4 5,0	77,52 b
C.V (%)	18,35

Medias seguidas por la misma letra no son significativamente diferentes entre sí según la prueba de Duncan al 5%

La variación del índice estomático en las hojas de las plantas está fuertemente influenciada por el estrés salino en cultivos tales como el algodón (Maeda-Martínez y Saldivar, 1988; Jafri y Ahmad, 1995) y el pimentón (Bethke y Drew, 1992). En tomate, Rudich y Luchinsky (1986) señalan que diferentes tipos de estrés pueden afectar la distribución de los estomas. Así, Rubino et al. (1989) y Thakur (1990) encontraron variaciones en el índice estomático en plantas de tomate sometidas a estrés de sequía.

Por otra parte, en este estudio también se detectaron efectos de los tratamientos salinos sobre la densidad estomática de la hoja de tomate (Cuadro 2). La salinidad disminuyó el número de estomas en la cara adaxial mientras que lo contrario ocurrió en la cara abaxial. En consecuencia, la menor DE ( $59,73 \text{ estomas/mm}^2$ ) se encontró en la superficie adaxial de las hojas en el tratamiento más salino y la mayor DE ( $175,17 \text{ estomas/mm}^2$ ) ocurrió en la superficie abaxial de las hojas en el tratamiento menos salino.

**Cuadro 2.** Número de estomas/ $\text{mm}^2$  en las dos superficies de las hojas de plantas de tomate sometidas a tratamientos salinos.

Tratamiento C.E (dS/m)	Superficie Adaxial	Superficie Abaxial
T1 0,5	117,80a	147,31a
T2 2,3	93,13b	160,48b
T3 3,1	73,87b	172,81b
T4 5,0	59,73c	175,17b
CV (%)	18,35	17,67

Medias seguidas por la misma letra no son significativamente diferentes entre sí según la prueba de Duncan al 5%.

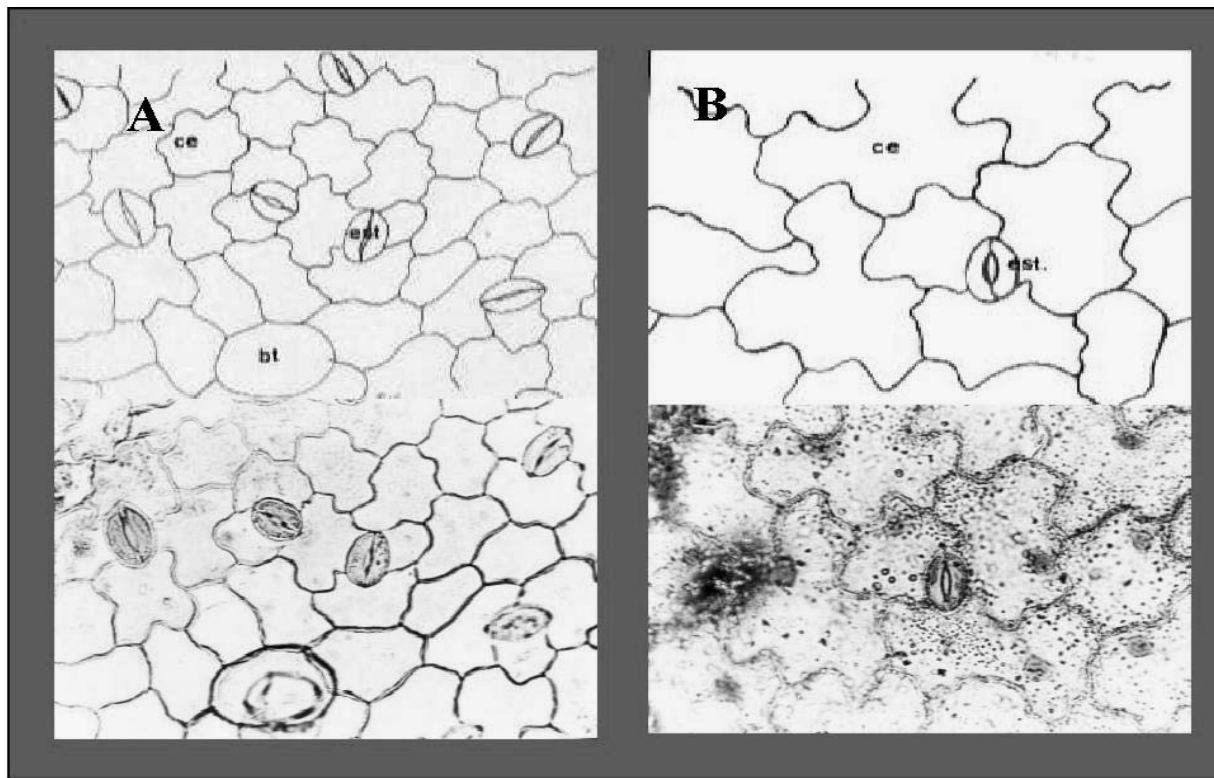
Las hojas de tomate están clasificadas, según la ubicación de los estomas, como anfiestomáticas, lo cual significa presencia de estomas en ambas caras de la lámina foliar (Conover, 1991), con una distribución estomática homogénea en las dos caras y predominio en la superficie abaxial (Rudich y Luchinsky, 1986). Estos resultados demuestran variaciones en la epidermis de la hoja de tomate, por cuanto ocurrió una fuerte reducción del número de estomas en la cara adaxial e incrementos moderados en la cara abaxial entre el tratamiento testigo y el tratamiento de mayor salinidad (Cuadro 2).

Es conocido que la salinidad en el suelo limita la disponibilidad de agua para las plantas debido

al efecto osmótico que se produce (James et al., 1982). En este sentido, la fuerte reducción de la DE en la superficie adaxial (es decir, la superficie de la lámina foliar directamente expuesta al poder evaporante de la atmósfera) y la cual fue sólo parcialmente compensada por un ligero incremento de la DE en la cara abaxial, parecen indicar una respuesta de la planta para aumentar su resistencia estomática promedio y evitar un exceso de transpiración. De esta forma, la respuesta de la planta al estrés salino podría considerarse, en cierta forma, similar a la que ocurre en condiciones de sequía (Rubino et al., 1989; Thakur, 1990). En otras experiencias de los autores, se ha observado un tipo de respuesta similar en los cultivares 'Santa Clara' y 'Brigade', los cuales se caracterizan por su diferente grado de tolerancia a la salinidad (datos no publicados).

Según Martin et al. (1994) la salinidad y el estrés hídrico están relacionados con cambios en la anatomía y fisiología de las hojas de las plantas. Así, en ensayos bajo condiciones controladas, Kebede et al. (1994) obtuvieron una disminución de la frecuencia estomática en hojas sometidas a estrés hídrico en plantas de tomates tolerantes a la salinidad en comparación con plantas de tomate susceptibles; así mismo, encontraron mayor grosor de la cutícula, menor intercambio gaseoso en el mesófilo y mayor resistencia estomática en las plantas tolerantes.

La Figura 1 muestra la distribución celular y de estructuras en la superficie adaxial de la hoja de tomate. Se puede observar en la sección B, correspondiente al tratamiento de alta salinidad, la reducción en el número de estomas e incremento del tamaño de las células epidérmicas que rodean al estoma.



**Figura 1.** Vista superficial de la epidermis adaxial de la zona intercostal de lámina foliar de tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill. cv. Missouri). A Tratamiento testigo, B Tratamiento de alta salinidad, ce (cédula epidérmica típica), bt (base de tricoma), est (estoma). (400X). La mitad superior de la figura representa el dibujo a mano alzada de la fotografía.

Por otro lado, en la Figura 2 se presentan los cambios observados en la cara abaxial de la zona intercostal de la lámina foliar de tomate de los tratamientos T1 y T4. En la sección B, se observa sólo un ligero incremento en el tamaño de las células que rodean al estoma en relación al tratamiento sin aplicación de sal (sección A).

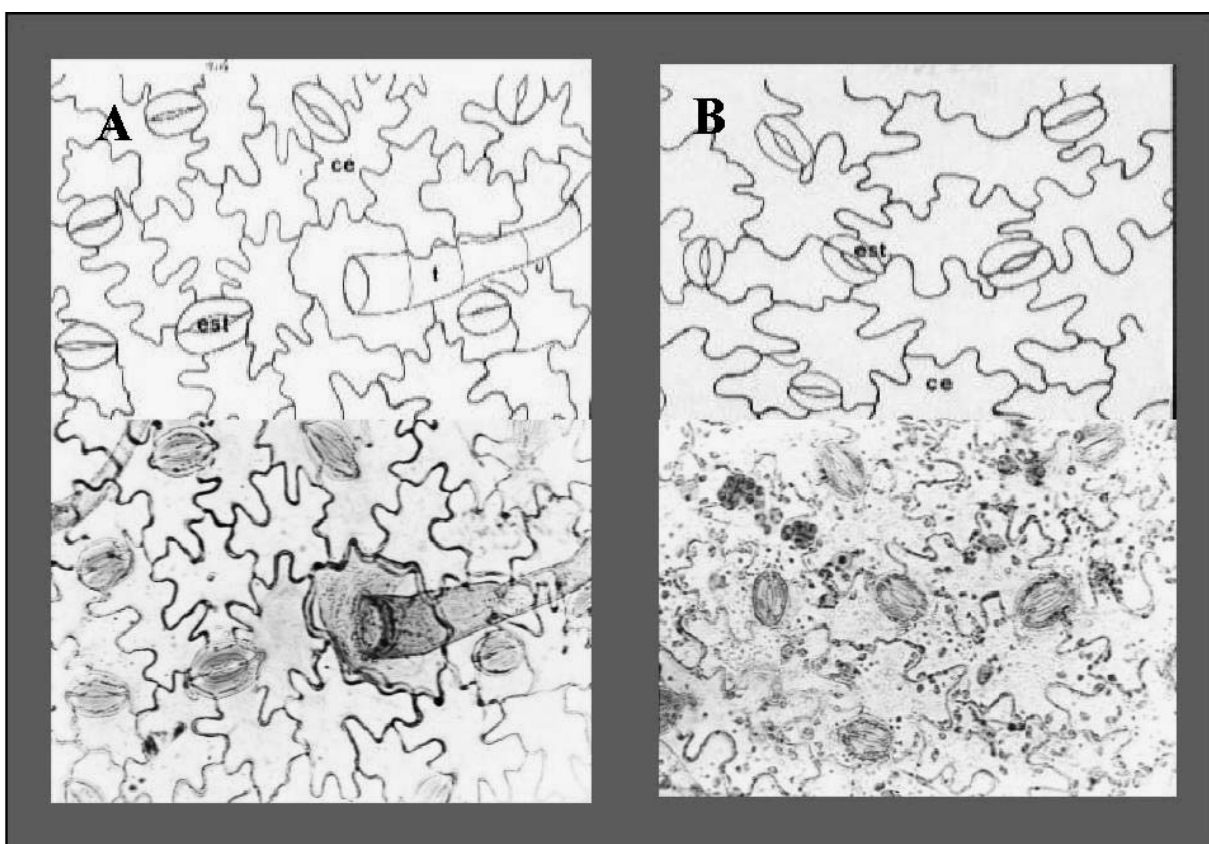
### CONCLUSIONES

Los valores del índice estomático aumentaron a medida que se incrementó la conductividad eléctrica por efecto de los tratamientos salinos,

alcanzando un valor de 77,52 % en el tratamiento más salino y un 58,47 en el testigo.

La salinidad produjo un descenso de la densidad estomática en la cara adaxial de las hojas a medida que aumentó la conductividad eléctrica de los tratamientos. Lo contrario ocurrió en la superficie abaxial aunque con menor intensidad.

En general, estos resultados parecen indicar una forma de evasión por parte de las plantas de tomate al estrés salino.



**Figura 2.** Vista superficial de la epidermis abaxial de la zona intercostal de lámina foliar de tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill. cv. Missouri). A Tratamiento testigo, B Tratamiento de alta salinidad, ce (cédula epidérmica con paredes celulares sinuosas), t (tricoma), est (estoma). (400X). La mitad superior de la figura representa el dibujo a mano alzada de la fotografía.

## LITERATURA CITADA

1. Bethke, P. y M. Drew. 1992. Stomatal and nonstomatal components to inhibition of photosynthesis in leaves of *Capsicum annuum* during progressive exposure to NaCl salinity. *Plant Physiology* 99 : 219-226
2. Conover, M. 1991. Epidermal patterns of the reticulate veined Liliflorae and their paralell-veined-allies. *Botanical Journal of Linnean Society* 107 : 295-312.
3. Cutler, D. 1978. *Applied Plant Anatomy*. Longman. London.
4. Hale, M. y D. Orcutt. 1987. *The Physiology of Plants Under Stress*. Wiley. New York.
5. Jafri, A. y R. Ahmad. 1995. Effect of soil salinity on leaf development, stomatal size and its distribution in cotton (*Gossypium hirsutum* L.). *Pakistan Journal of Botany* 27 : 297-303.
6. James, D., R. Hanks y J. Jurinak. 1982. *Modern Irrigated Soils*. Wiley. New York.
7. Kafkafi, V. 1994. Combined irrigation and fertilization in arid zones. *Isr. J. Plant Sci.* 42 : 301-310.
8. Kebede, H., B. Martín, J. Nienhuis y G. Jung. 1994. Leaf anatomy of two *Lycopersicon* species wiht contrasting gas exchange properties. *Crop Science* 34 : 108-113.
9. Lerner, H. 1985. Adaptation to salinity at the plant cell level. *Plant and Soil* 89 : 3-14.
10. Lerner, H., G. Nissim, Y. Friedman y P. Goloubinoff. 1994. The response of plants to salinity: From turgor adjustments to genome modification. *Isr. J. Plant Sci.* 42 : 285-300.
11. Maeda-Martínez, C. y R. Saldivar. 1988. Frecuency and size of stomata in cotton under saline and non saline conditions. *Informes de Investigación, CENID-RASPA*. México. pp. 39-55.
12. Martin, B., H. Kebede y C. Rilling. 1994. Photosynthetic differences among *Lycopersicon* species and *Triticum aestivum* cultivars. *Crop Science* 34 : 113-118.
13. Robb, D. y W. Pierpoint. 1983. *Metals and Micronutrients. Uptake and Utilization by Plants*. Academic Press. London.
14. Rubino, P., E. Tarantino y F. Rega. 1989. Relationship between soil water status and stomatal resistance of tomatoes. *Irrigazione e Drenaggio* 36: 95-98.
15. Rudich, J. y V. Luchinsky. 1986. Water economy. *In: J. G. Atherton y J. Rudich (eds.) The Tomato Crop*. Chapman Hall. London. pp. 335-389.
16. Shannon, M. 1979. In quest of rapid screening techniques for plant salt tolerance. *HortScience* 14 : 587-589.
17. Shannon, M. 1985. Principles and strategies in breeding for higher salt tolerance. *Plant and Soil* 89 : 227-241.
18. Tal, M. 1970. Salt tolerance in the wild relatives of the cultivated tomato : Responses of *Lycopersicon esculentum*, *L. peruvianum* y *L. esculentum minor* to sodium chloride solution. *Aust. J. Agric. Res.* 22 : 631 - 638.
19. Thakur, P. 1990. Different physiological responses of tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.) cultivars to drought. *Acta Physiologiae Plantarum* 12 : 175-182.
20. Wilkinson, H. 1979. The plant surface (mainly leaf). *In: C.R. Metcalfe y Chalk (eds.) Anatomy of Dicotyledons*. Oxford Claredous Press. London. pp. 97-165.