

# DENSIDAD ESTOMÁTICA EN HOJAS DE *Eryngium horridum* MALME Y SU RELACIÓN CON EL ESTADO DE DESARROLLO DE LAS HOJAS

LALLANA, Víctor H.<sup>(1)</sup> y LALLANA, María del C.<sup>(1)</sup>

<sup>(1)</sup> Docentes-Investigadores. Cátedra de Fisiología Vegetal.  
Facultad Ciencias Agropecuarias. UNER.  
C.C. 24, E3100WAA Paraná, Entre Ríos.  
República Argentina. PID-UNER N° 2076  
e-mail: vlallana@ceride.gov.ar

## Resumen

Se determinó la densidad estomática (DE) (Número de estomas por mm<sup>2</sup>) en hojas de *Eryngium horridum* Malme, ("caraguatá") en función de su variabilidad a lo largo del eje longitudinal de la hoja y entre hojas en distintos estadios de desarrollo. Del envés de cada hoja se realizaron tres muestras (parte distal, media y proximal) por la técnica de improntas. Sobre éstas se observaron tres campos con cuadrícula milimetrada bajo microscopio binocular.

Los datos fueron analizados con un modelo lineal generalizado, análisis de la variancia y test de rango múltiple de Duncan ( $p < 0,05$ ). Los estomas se encontraron en el envés, distribuidos con un patrón irregular entre las nervaduras de las hojas. Se observaron diferencias significativas en la DE entre los distintos tamaños de hojas. El 85 % de la variabilidad en la DE fue dependiente del tamaño de la hoja, más que del sitio del muestreo. La correlación entre la DE y la longitud de la hoja, fue significativa ( $p < 0,001$ ) con un  $r^2 = 0,89$ . La DE promedio fue de  $389 \pm 181$ ; la misma cambió con el estado de desarrollo de la hoja (juvenil, baja DE y madura, alta DE) en un rango comprendido entre 76 y 624/mm<sup>2</sup>) y creció en función lineal hasta una longitud de hoja de 30 a 40 cm. Al incrementar el número de observaciones con hojas de mayor y menor tamaño, el mejor ajuste se obtuvo con una función cuadrática, donde a longitudes de hoja mayores a 40 cm el número de estomas por mm<sup>2</sup> tendió a estabilizarse.

Palabras clave:

Botánica, estomas, distribución espacial.

# *Eryngium horridum* MALME

## LEAF STOMATAL DENSITY AND ITS RELATION WITH LEAF GROWTH

### Summary

---

Stomatal density (SD) (Number of estomas.mm<sup>2</sup>) was determined in leaves of *Eryngium horridum* Malme ("caraguatá ") in function of its variability along the leaf longitudinal axis and among leaves of different growing stages. From the back of each leaf, three samples were taken (distal, medial and proximal areas) using the impronta technique. Three fields were observed on each sample with millimetric grid under binocular microscope.

Data were analyzed to fit general lineal model, variance analysis and multiple range Duncan test ( $p < 0.05$ ). The stomata were found in an irregular pattern arrangement between to the leaf veins. Significant differences were observed in the SD among the different sizes of leaves. The 85% of the variability in SD was dependent of the leaf size more than the place of the sampling. The correlation between the SD and leaf length was significant ( $p < 0.001$ ) with  $r^2 = 0.89$ . The average number of stomata per mm<sup>2</sup> was  $389 \pm 181$ , being modified according to the leaf growing stage - young leaf, low SD; mature leaf, high SD- (range 76 to 624/mm<sup>2</sup>); and increasing linearly up to 30-40 cm of the leaf length. When increasing the number of observations with leaves of bigger and smaller size, the best adjustment was obtained with a quadratic function, showing that the number of stomata per mm<sup>2</sup> tended to stabilize in leaf lengths higher than 40 cm.

Palabras clave:

Botanics, stomata, spatial arrangement

## Introducción

*E. horridum* Malme ("caraguatá") es una planta herbácea, perenne, nativa, de la familia Apiaceae, muy agresiva y que invade los campos naturales de la provincia de Entre Ríos destinados a la cría de ganado, convirtiéndose en una maleza que produce diversas pérdidas, como por ejemplo la disminución de la receptividad a consecuencia del aumento considerable de su cobertura (Sabattini *et al.* 1989, 1991; Lallana *et al.* 1997; Lallana *et al.*, 2000). El control de esta especie se ha intentado por diversos medios (mecánicos, químicos, pastoreo) no siempre con resultados exitosos o repetibles en distintas condiciones. Las hojas adultas alargadas y angostas forman una roseta y presentan consistencia coriácea, con presencia de ceras, todo lo cual contribuye a que la mojabilidad y penetración de los productos herbicidas se vea dificultada.

Así como las condiciones ambientales hacen variar las áreas foliares, también pueden hacer variar el número de estomas por unidad de área foliar, las plantas que crecieron en suelos secos y con poca humedad ambiente tienen más estomas que las que lo hicieron en suelos húmedos y alta humedad ambiente (Metcalfe y Chalk, 1979; Willner, 1986).

El tamaño de los estomas está frecuentemente correlacionado con su densidad, hojas con estomas pequeños presentan alta densidad estomática y hojas con estomas grandes, una baja densidad estomática. Estomas grandes se ha notado en la literatura, que ocurren alrededor o adyacentes a las nervaduras (Metcalfe y Chalk, 1979). Muchos investigadores encontraron que la frecuencia de estomas es más alta cerca del ápice de la hoja y más baja en la base, como así mayor en los márgenes de la hoja que cerca de la nervadura central (Metcalfe y Chalk, 1979). Sin embargo en las Gramíneas el mayor número está en el punto de inserción foliar, donde las células son más pequeñas y todavía están en proceso de desarrollo, y la menor cantidad puede observarse en la punta de la hoja (Willner, 1986).

En razón de no existir información sobre la densidad y distribución de los estomas en *E. horridum*, se planteó el presente trabajo, con el fin de generar información básica sobre el tema.

El objetivo del presente trabajo fue determinar la densidad estomática en hojas de *E. horridum* "caraguatá" y su variabilidad a lo largo del eje longitudinal de la hoja y entre hojas en distintos estadios de desarrollo.

## Materiales y Métodos

El 24/10/01 se escogieron al azar siete tamaños de hojas cosechadas de plantas de caraguatá de distintas edades crecidas a campo, cubriendo un rango de 5 a 62 cm de longitud. El otro muestreo (30/10/01) se realizó en 6 hojas de 1,2 a 25,5 cm de longitud de plantas de 7 meses de edad originadas de semillas crecidas en invernáculo. Del envés de cada hoja se tomaron tres muestras por la técnica de improntas con esmalte transparente; una de la parte distal (tercio superior), otra de la parte media y otra en la parte proximal (tercio inferior).

Inmediatamente de obtenida cada muestra se realizaron las observaciones en microscopio

binocular con aumento de 10X x 160 y con cuadrícula milimetrada. En cada campo se seleccionaron al azar tres cuadros de 1 mm de lado en donde se contó el número total de estomas (NE).

Los datos fueron analizados utilizando un modelo lineal generalizado (Montgomery, 1991) y un diseño anidado en dos etapas aplicando la técnica de Análisis de la Varianza ( $p < 0,05$ ) y las medias comparadas utilizando la prueba de rangos múltiples de Duncan ( $p < 0,05$ ). Se efectuó un estudio de regresión simple entre el NE por  $\text{mm}^2$  y la longitud de las hojas (cm), empleando un modelo lineal generalizado (Montgomery, 1991).

## Resultados y Discusión

Longitud de la hoja (cm)	Número de estomas/ mm <sup>2</sup>	
5	157	d
10	238	c
16	261	c
25	453	b
40	475	b
51	544	a
62	553	a

Letras iguales no presentan diferencias significativas, según prueba de Rangos Múltiples de Duncan ( $P < 0.05$ ).

Las hojas de *E. horridum* son mucho más largas que anchas. El ancho medio osciló entre 0,3 y 0,7 cm en hojas pequeñas y de 1 a 1,6 cm en las más grandes. Mediante esta técnica no se observaron estomas en el haz de las hojas. Los estomas se observaron únicamente en el envés de las hojas, distribuidos con un patrón irregular, entre las nervaduras, las cuales estaban compuestas por 30 a 35 filas de células epidérmicas cada una. Los resultados indican que se trataría de una hoja hipostomática. Esto concuerda con lo hallado por Cámpora (1985), quien observó estomas en hojas de *E. horridum* sólo en la cara inferior y ubicados en filas paralelas.

Se observaron diferencias significativas en el número de estomas por mm<sup>2</sup> entre los distintos tamaños de hojas (Tabla 1). El 85 % de la variabilidad en el número de estomas dependió del tamaño de la hoja, más que del lugar de donde se extrajeron las muestras. El coeficiente de variación del ensayo fue de 15,83 %. Si bien muchas investigaciones concuerdan en que la región del envés de la hoja, en su parte central, es la menos variable y por lo tanto más confiable para evaluar el número de estomas de las especies (Metcalf y Chalk, 1979), en este caso no existieron diferencias significativas entre las zonas apical, media y proximal (Tabla 1).

El análisis de datos utilizando un modelo factorial NE = hojas lugar hojas\*lugar, dio un valor altamente significativo del modelo con un  $r^2 = 0,955$  y un C.V. = 10,78 %. Existieron diferencias significativas ( $p < 0,0001$ ) entre las hojas y no significativas para lugar. Interacción

Posición de la muestra	Número de estomas/ mm <sup>2</sup>
Apical	392 ± 159
Media	389 ± 182
Proximal	368 ± 143

Tabla 1: Valores promedio del número de estomas por mm<sup>2</sup> en hojas de distintos tamaños de plantas de "caraguatá" crecidas a campo y promedio general y desvío estándar por posición dentro del eje longitudinal de la hoja (apical, media y proximal)

hojas\*lugar  $F(6,2) = 6,28$ ;  $p < 0,0001$ . La esperanza de los cuadrados medios y la prueba de F también dio significativa ( $p < 0,0001$ ) para hojas y no significativa para lugar usando hojas\*lugar como término de error.

En función de los resultados y considerando que el NE promedio por mm<sup>2</sup>, dependía del tamaño de la hoja se halló la correlación entre estas dos variables para poder tener un estimador del NE en función de las dimensiones lineales de la misma.

Utilizando un modelo lineal de segundo orden, es decir el número de estomas como variable dependiente y la longitud de las hojas como variable independiente, para los datos del muestreo de hojas a campo (Fig. 1), se encontró que el modelo fue significativo ( $p < 0,001$ ) con un  $r^2 = 0,837$  ajustando una ecuación cuadrática. La estimación de los parámetros de la ecuación para la hipótesis nula (parámetro = 0) también fue significativa ( $p < 0,001$ ).

A los fines de verificar el ajuste hallado se realizaron nuevas observaciones en plantas de una misma población con distintas longitudes de hojas (Fig. 2) hallando un buen ajuste en hojas de menor tamaño (hasta 25 cm de longitud). El análisis de variancia del modelo fue significativo ( $p < 0,001$ ) con un  $r^2 = 0,878$  ajustando una ecuación lineal. La estimación de los parámetros de la ecuación para la hipótesis nula (parámetro = 0) también fue significativa ( $p < 0,001$ ).

Figura 1:  
Puntos de dispersión, curva de regresión y ecuación de ajuste del número de estomas (NE) por mm<sup>2</sup> de hojas de "caraguatá" en función de la longitud (cm), pertenecientes a plantas de distintas edades crecidas a campo. NE =  $-0,1474 X^2 + 16,679 X + 76,052$ ; siendo X la longitud de la hoja en cm.

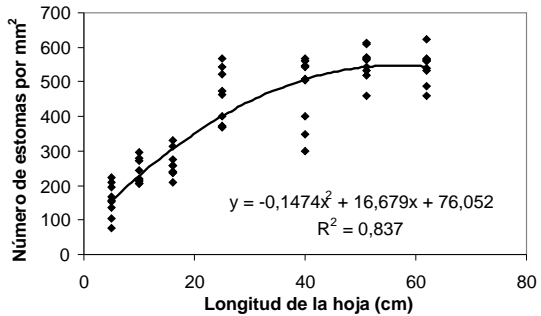


Figura 2:  
Puntos de dispersión, recta de regresión y ecuación de ajuste del número de estomas (NE) por mm<sup>2</sup> de hojas de "caraguatá" en función de la longitud (cm), pertenecientes a una misma población de plantas crecidas en invernáculo. NE =  $13,423 X + 151,42$ ; siendo X la longitud de la hoja en cm.

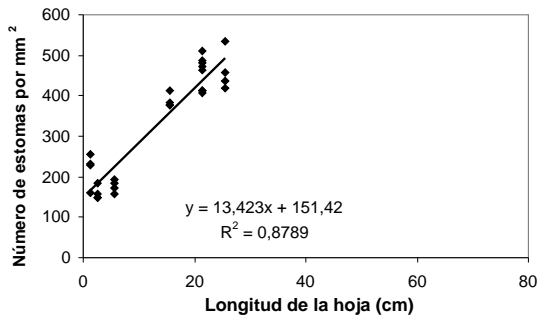
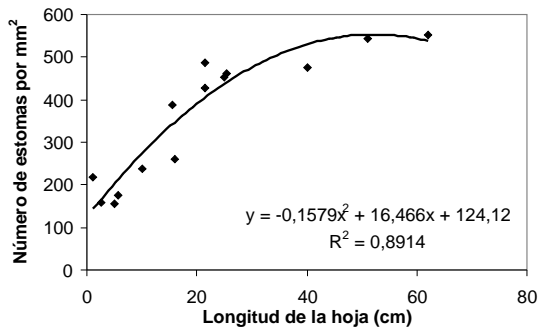


Figura 3:  
Puntos de dispersión y ecuación de ajuste del número medio de estomas (NE) por mm<sup>2</sup> de hojas de "caraguatá" en función de la longitud (cm) incluidos los datos de las Figuras 1 y 2. NE =  $-0,1579 X^2 + 16,466 X + 124,12$ ; siendo X la longitud de la hoja en cm.



Por último se analizaron todos los datos en conjunto (Fig. 3) empleando un modelo de segundo orden con los valores promedio de cada hoja, es decir  $NE = a + b x + c x^2$ . El análisis de variancia del modelo fue significativo ( $p < 0,0001$ ) con un  $r^2 = 0,89$  y un C.V. = 41,44 %.

El número de estomas promedio por mm<sup>2</sup> fue de  $389 \pm 181$ ; el mismo se modificó con el crecimiento de la hoja (rango 76 a 624/mm<sup>2</sup>) y creció en función lineal hasta la máxima

expansión de la aquella (30-40 cm de longitud). Se observó un mejor ajuste de los datos en hojas de menos de 30 cm de longitud (Fig. 2). Al incrementar el número de datos con hojas de mayor y menor tamaño (Fig. 3), el mejor ajuste se obtuvo con una función cuadrática, donde a longitudes de hoja mayores a 40 cm, el número de estomas por mm<sup>2</sup> pareció estabilizarse.

## Bibliografía

---

- CÁMPORA, F.L. 1985. Observaciones sobre la biología de *Eryngium horridum*, "cardilla", "caraguatá". Tesis de Grado. Facultad Agronomía, Univ. de la Rca. Uruguay. 94 p.
- LALLANA, V.H.; ELIZALDE, J.H.I.; LALLANA, M. del C. y SABATTINI, R.A. 1997. Extracción de nutrientes por el "caraguatá" (*Eryngium paniculatum* - Apiaceae) en campos naturales de Entre Ríos. Actas XIII Congreso Latinoamericano de Malezas, Septiembre, 1997. Bs As. Argentina. p. 171-178.
- LALLANA, V.H.; ELIZALDE, J.H.I.; BILLARD, C.E.; ANGLADA, M.M.; SABATTINI, R.A.; FAYA DE FALCON, L.M. y LALLANA, M. del C. 2000. Control of *Eryngium paniculatum* (Apiaceae) with different alternative of management in a grassland. Entre Ríos. Argentina. III International Weed Science Congress, Foz Iguazu, Brasil, 6-10 junio 2000. p. 56.
- METCALFE, C.R. y CHALK. 1979. Anatomy of Dicotyledons. Vol I, 2ª ed. Clarodendion Press. Oxford. (p. 110-117).
- MONTGOMERY, D.C. 1991. Diseño y análisis de experimentos. Grupo Editorial Iberoamérica S.A. 589 p.
- SABATTINI, R.A.; LALLANA, V.; LALLANA, M. del C.; PIERI DE DEBONA, S. y MARINO, G. 1989. Análisis de encuestas sobre distribución, hábitat y técnicas de control de *Eryngium* spp. ("caraguatá") en Entre Ríos. Gaceta Agronómica, 9 (50): 257-265.
- SABATTINI, R.A.; LALLANA V.H.; LALLANA M. del C.; ELIZALDE J.H.I. y FAYA DE FALCÓN, L. 1991. Relevamiento de *Eryngium* spp. ("caraguatá") en la zona centro norte de Entre Ríos. Revista ASAM. XII Reunión Argentina sobre la maleza y su control. Tomo 1: 103-112.
- WILLNER, C.M. 1986. Los estomas. Librería Agropecuaria S.A. 192 p.