Rev. Agricultura Tropical Vol. 2 No. 1:9-17, 2016
RNPS: 2397 (Versión electrónica)

CARACTERIZACIÓN ESTOMÁTICA DE CUATRO VARIEDADES DE PAPA (*Solanum tuberosum* L.)

Alfredo Morales Rodríguez[1]*, Zoila Virginia Guerrero Mendoza[2], Alfredo Morales Tejón[1], Dania Rodríguez del Sol[1] y Sergio Rodríguez Morales[1]
1. Instituto de Investigaciones de Viandas Tropicales (INIVIT). Apartado 6, Santo Domingo, CP: 53 000, Villa Clara, Cuba.
2. Escuela de Biología, Facultad de Ciencias Naturales y Matemática, Universidad de El Salvador. El Salvador.
** Autor para la correspondencia: fisiologia@inivit.cu*

RESUMEN
La densidad e índice estomático, así como la longitud del poro estomático permiten diferenciar variedades que posean características estomáticas deseables. En Cuba son escasos los trabajos realizados sobre los estomas en las variedades de papa. Conocer características de las estomas de las variedades que se plantan en el país aporta conocimientos básicos en su biología. Los experimentos se desarrollaron en el Instituto de Investigaciones de Viandas Tropicales (INIVIT), durante los meses de diciembre de 2014 a marzo de 2015. La variedad Atlas reportó los menores valores de Índice Estomático (IE) a los 30 y 50 días, en la epidermis abaxial, con 17,0 y 16,7 respectivamente. A los 30 días después de la plantación la variedad Everest reportó los valores más altos de Densidad Estomática (DE), tanto en la epidermis adaxial como abaxial, con 149,9 y 400,0 estomas/mm^2 respectivamente. La menor relación estomática la reporta la variedad Atlas a los 30 días, con 2,21. El poro estomático de la superficie adaxial es de mayor tamaño que el de la parte abaxial. La variedad Everest tiene el menor valor de longitud del poro estomático en todas las evaluaciones en ambas superficies de las hojas. Estos resultados indican que puede haber una relación directa entre la DE y la longitud del poro estomático.
Palabras claves: densidad, estomas, índice, longitud del poro, *Solanum tuberosum*.

STOMATAL CHARACTERIZATION OF FOUR POTATO (*Solanum tuberosum* L.) VARIETIES

ABSTRACT
The index and stomatal density and stomatal pore length allow us to differentiate varieties that have desirable stomatal characteristics. In Cuba there are few studies conducted on the stomata on potato varieties. Knowing stomatal characteristics of the varieties that are planted in the country provides basic knowledge of their biology. The experiments were developed in the Research Institute of Tropical Roots (INIVIT) during the months of December 2014 to March 2015. The Atlas range reported lower value of stomatla index (IE) at 30 and 50 days, in the abaxial epidermis, with 17,0 and 16,7 respectively. At 30 days after planting a variety Everest reported the highest values of estomatal density (DE) both the adaxial and abaxial epidermis, with 149,9 and 400 stomata/mm^2 respectively. The lower the ratio stomatal reports the Atlas range at 30 days, 2,21. The adaxial stomatal pore surface is larger than the abaxial side. The Everest variety has the lowest value of stomatal pore length in all assessments on both

surfaces of the leaves. These results indicate that there is a direct relationship between DE and the length of the stomatal pore.
Keywords: density, stomata, index, pore length, *Solanum tuberosum.*

INTRODUCCIÓN

La superficie epidérmica de las hojas presenta un gran número de poros microscópicos llamados estomas. Estos se encuentran en todas las partes aéreas de la planta, pero son más abundantes en las hojas. Por estos poros, la planta toma CO_2 del aire para realizar la fotosíntesis y elimina agua al transpirar. La fotosíntesis es siempre paralela a la transpiración, ya que al tener los estomas abiertos para que entre el CO_2, la pérdida de agua a través de los mismos, hacia la atmósfera, es inevitable. Estos también desempeñan un papel vital en el mantenimiento de la homeostasis de la planta (Sánchez y Aguirreola, 1996).

El número de estomas en las especies vegetales es variable y la cantidad en la superficie adaxial en comparación con la abaxial es una característica distintiva de la especie (Reyes *et al*., 2015). Las plantas con estomas en el haz son llamadas epiestomáticas, las que tienen en el envés son hipoestomáticas y aquellas con estomas en el haz y envés son anfiestomáticas (Serna *et al*., 2002).

Las hojas de las especies de Solanaceae son anfiestomáticas (Cutter, 1978). Las epidermis presentan células con paredes celulares sinuosas en vista superficial (Salas *et al*., 2007) y variables en cuanto a forma y tamaño (Granada y Benítez, 2004). Ehleringer y Money (1978) describieron la epidermis de *Solanum lycocarpum* y mencionaron estomas localizados al mismo nivel de las demás células epidérmicas, con las células anexas ligeramente hundidas, por debajo del nivel de las oclusivas y cámaras estomáticas, generalmente pequeñas.

La densidad, índice y la longitud del poro estomático permiten diferenciar variedades que posean características estomáticas deseables, abren nuevas líneas de investigación, sobre todo para el mejoramiento genético donde se toman en cuenta características como el tamaño de estomas para estudiar diversidad, resistencia a enfermedades, enfriamiento por evaporación, tolerancia a sequía, productividad y el uso eficiente del agua.

En Cuba son escasos los trabajos realizados sobre los estomas en las variedades de papa. Conocer características de los estomas de las variedades que se plantan en el país aporta conocimientos básicos en su biología. Además, ayudará a afrontar el constante aumento de temperatura, CO_2 atmosférico y disminución de la precipitación. Es por ello, que el objetivo de la presente investigación fue caracterizar los estomas de cuatro variedades de papa.

MATERIALES Y MÉTODOS

Los experimentos se desarrollaron en el Instituto de Investigaciones de Viandas Tropicales (INIVIT), durante los meses de diciembre de 2014 a marzo de 2015, en un suelo Pardo mullido medianamente lavado (Hernández *et al*., 1999). Se empleó un diseño de bloque al azar con cuatro repeticiones, donde se evaluaron cuatro variedades de papa (Atlas, Armada, Maranca y Everest). La unidad experimental estuvo formada por cuatro surcos de 5 metros de largo empleándose una distancia de plantación de 0,90 x 0,25 m por lo que cada parcela tuvo 80 plantas (4 por surco), de ellas 36 evaluables.

A los 30 días después de la plantación, en cada una de las parcelas se marcaron con tarjetas 12 hojas (36 hojas/variedad). En ese momento se seleccionó la hoja número cuatro en sentido basípeto. Para el estudio estomático de las hojas tarjeteadas se realizaron tres evaluaciones a los 30, 50 y 70 días después de la plantación, en cada una se extrajeron 16 foliolos (4 foliolos/parcela) de la sección central de la hoja (Figura 1).



Figura 1. Foliolo intermedio de la hoja.

Se tomaron improntas en el tercio medio del foliolo para la caracterización estomática, mediante la aplicación de esmalte transparente de uñas, la cual fue retirada a través de una cinta adhesiva, siendo luego adherida sobre un portaobjeto para la observación en microscopio Carl Zeiss (Axiolab, Alemania) (Bulfe, y Fernández, 2014). Las preparaciones se fotografiaron con una cámara digital Sony (Cyber-shot, Carl Zeiss), montada sobre un ocular del microscopio.
Se contó el número de estomas y de células epidérmicas en un área de 4,347 mm^2, equivalente al diámetro del campo observado, con aumento de 400x. El índice estomático (IE) se obtuvo con la fórmula sugerida por Wilkinson (1979):
IE= (NE*100) / (CE+NE)
Donde:
IE= Índice Estomático
NE= Número de estomas por campo de observación
CE= Número de células epidérmicas en campo de observación
La Densidad Estomática se calculó para un área de 1 mm^2, teniendo en cuenta el número de estomas por campo de observación. Se determinó la relación estomática abaxial/adaxial y el largo del poro estomático (µm) se midió con la utilización del *software* para análisis de imagen: Image-Pro Plus 4,5 (*Media Cybernetics, Silver Spring*, USA).
Se efectuaron comparaciones de medias según la prueba de Tukey. Para el análisis estadístico se utilizó el *software SPSS 15.0 para Windows*.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Las láminas foliares de las variedades de papa son anfiestomáticas, lo cual coincide con Salas *et al*. (2009). Los estomas tienen células oclusivas orientadas de forma variada con respecto a las nervaduras de la lámina foliar. Se encontraron tres tipos de

estomas: anomocítico, anisocítico y paracítico, predominando en ambas epidermis de la hoja los anomocíticos y anisocíticos, y en menor medida los paracíticos (Figura 2).

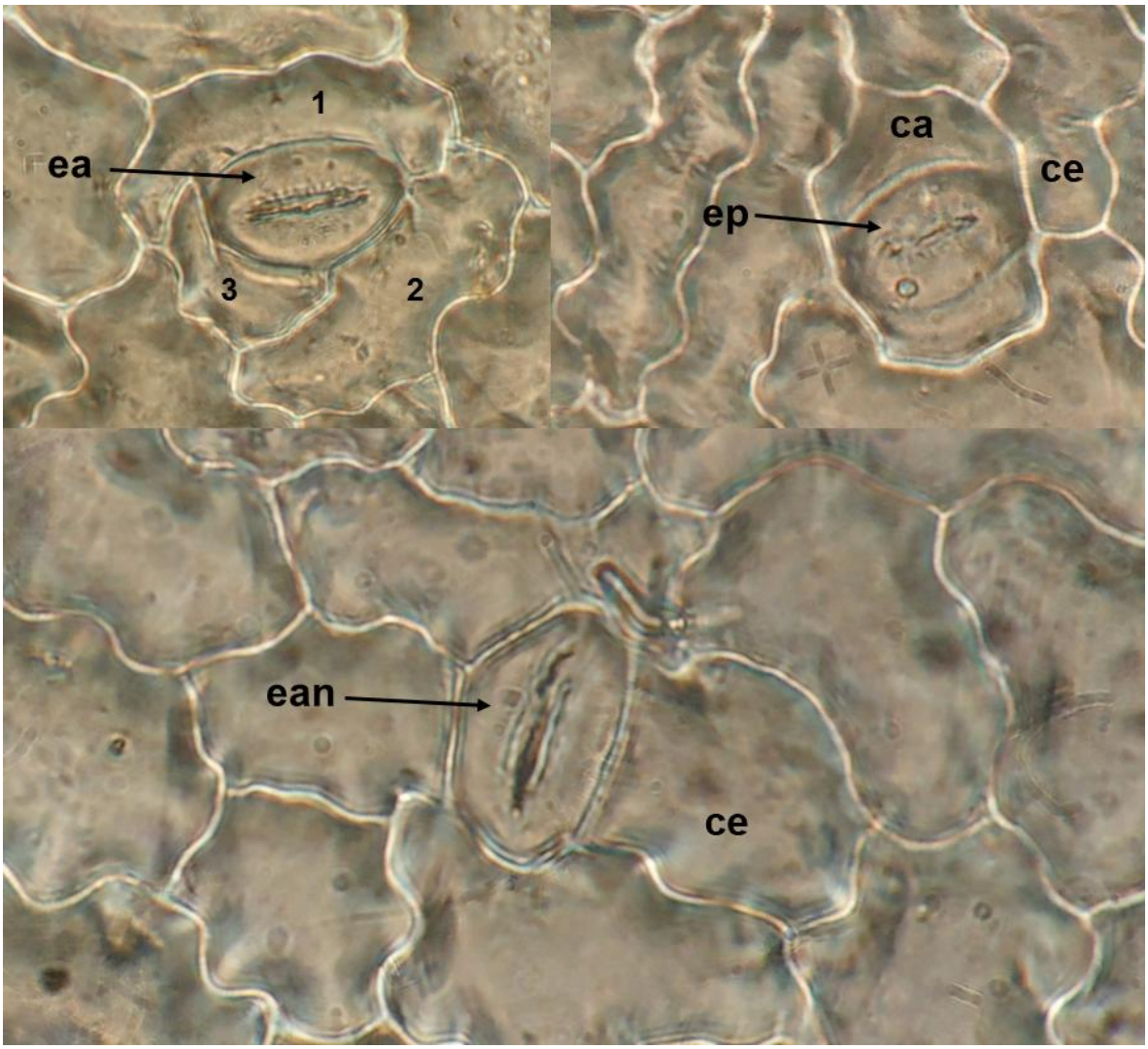


Figura 2. Tipos de estomas en las variedades de papa.
Leyenda: ea: estoma anisocítico (tres células anexas (1, 2, 3) de diferente tamaño); **ep**: estoma paracítico (dos células anexas dispuestas con su eje longitudinal paralelo al eje longitudinal de las células oclusivas); **ean**: estoma anomocítico (no tiene células anexas); **ce**: células epidérmicas; **ca**: célula anexa.

Estos resultados no coinciden con Salas *et al*. (2007) quienes describieron los estomas de *Solanum tuberosum* cv. Granola y solo identificaron dos tipos de estomas, paracíticos y anomocíticos, en ambas superficies de la lámina foliar y señalaron que predominaban los paracíticos, al contrario de este estudio, ya que los estomas parasíticos son los menos comunes.
El Índice Estomático (IE) representa el cociente entre el número de estomas y la cantidad de células epidérmicas. Tanto en la superficie adaxial como abaxial a medida que trascurrió el tiempo este índice disminuyó, debido al crecimiento de las células epidérmicas, esto trae consigo que se reduzca el número de estomas por área foliar. En

la superficie adaxial no hubo diferencias significativas entre las variedades en ninguna de las evaluaciones, mientras que en la superficie abaxial a los 30 y 50 días después de la plantación la variedad Atlas reportó el menor IE de 17,0 y 16,7 respectivamente y la variedad Everest el mayor IE de 20,8 y 20,2, con diferencias significativas entre ambas variedades (Tabla 1).

Tabla 1. Índice Estomático (IE) por variedades en diferentes momentos (30, 50 y 70 días).

Variedad	Índice Estomático Adaxial			Índice Estomático Abaxial		
	30 días	50 días	70 días	30 días	50 días	70 días
Atlas	12,51a	8,8a	8,3a	17,0a	16,7a	15,7a
Armada	12,62a	9,7a	6,9a	18,1ab	17,9a	15,5a
Everest	12,66a	10,1a	5,1a	20,8b	20,2b	13,5a
Maranca	12,26a	9,8a	5,7a	18,8ab	18,1a	14,7a
$S_{\bar{x}}$	0,21	0,32	0,30	0,27	0,21	0,39
C.V. (%)	16	24,6	20,1	5,6	13,7	21,4

Letras diferentes indican promedios estadísticamente diferentes según Prueba de Tukey ($p \leq 0,05$).

Salas *et al*. (2009) al analizar materiales genéticos *in vitro* de tres cultivares de papa reportaron índices estomáticos en la epidermis adaxial de 12,7 a 17,7 y en la epidermis abaxial de 36,2 a 44,9. Esto indica que los resultados obtenidos en la presente investigación para la superficie abaxial en condiciones de campo, difieren de las pruebas realizadas *in vitro* por los autores, debido a los factores abióticos naturales que influyen directamente sobre las hojas en el campo y al tamaño (cm^2) de los foliolos. Salas *et al*. (2007) obtuvieron valores de índice estomático en la variedad Granola de papa, de 5,46 para la superficie adaxial y de 20,0 para la abaxial. Granada y Benítez (2004) determinaron que el índice estomático resultó ligeramente diferente dentro de una misma especie, cuando se calculó en distintos materiales de *Solanum*; según estos mismos autores, puede deberse a que éste tenga una variación definida dentro de un determinado rango, condicionado por la superficie de la lámina que se considere y los factores ambientales.

La DE corresponde al número de estomas por unidad de superficie foliar. En todas las variedades la DE tendió a disminuir a medida que la hoja ganaba en edad y se expandía. La menor DE estomática tanto en la superficie adaxial como abaxial reportada a los 30 días, pertenece a la variedad Atlas, con 109,9 y 243,3 estomas/mm^2 respectivamente, con diferencias significativas con la variedad Everest que reportó los valores más altos de DE tanto en la epidermis adaxial como abaxial, con 149,9 y 400 estomas/mm^2 respectivamente. Sin embargo, en la última evaluación (70 días) la variedad Atlas no fue la que tuvo la menor DE, sino, Maranca, esto significa, que no necesariamente la variedad que en una determinada hoja posea la menor DE en comparación con otras variedades, repetirá este carácter en todas las hojas de la planta, y se explica porque a medida que la hoja envejece el foliolo se expande, y la mayor expansión indica una menor DE (como Maranca), por lo que las variedades no expanden sus foliolos en las mismas proporciones, por tanto tienen relativamente una mayor DE las variedades que tengan una menor expansión foliar (Tabla 2).

Tabla 2. Densidad Estomática (DE) por variedades en diferentes momentos (30, 50 y 70 días).

Variedad	Densidad Estomática Adaxial (estomas/mm^2)			Densidad Estomática Abaxial (estomas/mm^2)		
	30 días	50 días	70 días	30 días	50 días	70 días
Atlas	109,9a	70,0a	31,6b	243,3a	186,7ab	83,3ab
Armada	133,3ab	76,7a	26,6ab	340,0ab	216,7ab	93,4b
Everest	149,9b	83,4a	23,3a	400,0 b	273,3b	96,7b
Maranca	132,3ab	60,0a	22,8a	326,6ab	153,3a	73,4a
$S_{\bar{x}}$	0,61	0,52	0,58	0,45	0,62	0,51
C.V. (%)	23,3	21,2	17,3	11,9	18,2	15,5

Letras diferentes indican promedios estadísticamente diferentes según Prueba de Tukey ($p \leq 0,05$)

En hojas anfiestomáticas, la densidad estomática es usualmente mayor en la parte abaxial que en la superficie adaxial (Tari, 2003), característica que puede prevenir la pérdida de agua por estar menos expuesta al calentamiento (Martín y Glover, 2007). La mayor DE en la superficie abaxial en comparación con la adaxial, se debe a que las células epidérmicas son más pequeñas en la parte abaxial, referido a esto Salas *et al*. (2007) destacaron que el cultivar de papa Granola presentaba células epidérmicas más pequeñas en esta superficie de la hoja.

Gabriel *el al*. (2011) al comparar 12 variedades de papa refieren una DE de 55 a 204 estomas/mm^2, en el presente estudio se reportan valores inferiores (23,3 estomas/mm^2, variedad Maranca, 70 días) y superiores (400 estomas/mm^2, variedad Everest, 30 días) a esos. Esto indica que la DE está en dependencia de la variedad, edad de la hoja y área (cm^2) que posea. Salas *et al*. (2007) destacaron que un mayor valor de densidad estomática en la cara abaxial y uno menor en la parte adaxial podría funcionar como una barrera física para el control de la entrada del patógeno a la hoja.

Según Gabriel *et al*. (2011) el número de estomas en papa aparentemente guarda alguna relación con la resistencia a la sequía, ya que de las 12 variedades que evaluaron, la más resistente fue Robusta y presentó valores bajos de número de estomas (151 estomas/mm^2), por otra parte, dos de las más susceptibles (Aurora y Waychs) presentaron valores altos, con 204 y 192 estomas/mm^2. Estos autores refieren que para el caso de la recuperación a la sequía también parece haber relación con el número de estomas, ya que la variedad que mejor se recuperó (Runa Toralapa) presentó valores bajos de número de estomas (138 estomas/mm^2). Esto podría significar que un número de estomas bajos ayudan a la resistencia y recuperación frente al estrés hídrico.

La relación de estomática abaxial/adaxial representa la proporción de estomas entre ambas epidermis de la hoja. La menor proporción la reporta la variedad Atlas a los 30 días, de 2,21, esto significa que hay 2,21 estomas en la cara abaxial por cada estoma en la cara adaxial. Por otra parte, la variedad Everest es la que posee la relación estomática más alta en todas las evaluaciones, llegando a tener el valor más alto en la última evaluación (70 días), con 4,15 (Tabla 3).

Tabla 3. Relación estomática abaxial/adaxial por variedades en diferentes momentos (30, 50 y 70 días).

Variedad	Relación Densidad Estomática Abaxial/Adaxial		
	30 días	50 días	70 días
Atlas	2,21	2,66	2,63
Armada	2,55	3,25	3,51
Everest	2,66	3,27	4,15
Maranca	2,47	2,55	3,08

Rojas (1978) reportó una relación estomática de 3,15 para la papa y Terán (1995) obtuvo una relación estomática en la variedad Alpha de papa de 2,96.

La longitud del poro estomático (µm) es directamente proporcional al tamaño del estoma, a medida que es más grande, el estoma tendrá mayor tamaño. En todas las variedades es evidente que cuando las hojas son más jóvenes (30 días), la longitud de poro es menor, y a medida que transcurre el tiempo (50 y 70 días) los estomas crecen y el poro estomático también, por ello, los menores valores se reportan a los 30 días en ambas superficies de la hoja. Por otra parte, en todas las variedades, el poro estomático de la superficie adaxial es mayor que el de la parte abaxial, lo que indica que los estomas del haz son ligeramente más grandes que los del envés. La variedad Everest es la que tiene el menor valor de longitud del poro estomático en todas las evaluaciones en ambas superficies de las hojas, y la variedad Maranca destacó como la de mayor valor a los 50 y 70 días (Tabla 4).

Tabla 4. Longitud del poro estomático por variedades en diferentes momentos (30, 50 y 70 días).

Variedad	Longitud Poro Estomático Adaxial (µm)			Longitud Poro Estomático Abaxial (µm)		
	30 días	50 días	70 días	30 días	50 días	70 días
Atlas	21,1ab	23,4ab	30,9a	19,3a	22,3a	29,4a
Armada	21,8b	23,1ab	30,3a	19,4a	22,0a	28,9a
Everest	19,5a	21,8a	29,1a	19,1a	20,1a	28,2a
Maranca	19,6a	32,2b	35,7b	19,2a	27,1b	29,6a
$S_{\bar{x}}$	0,34	0,23	0,36	0,21	0,24	0,28
C.V. (%)	8,7	6,5	12,2	7,9	9,4	8,0

Letras diferentes indican promedios estadísticamente diferentes según Prueba de Tukey ($p \leq 0,05$)

Estos resultados indican que puede existir una relación directamente proporcional entre la DE y la longitud del poro estomático, ya que la variedad con la mayor DE (Everest) es la que posee los menores valores de longitud del poro estomático y de forma viceversa ocurre con la variedad Maranca, que reporta los menores valores de DE a los 50 y 70 días.

Hetherington y Woodward (2003), destacan que, bajo un ambiente de alta irradiación, los estomas pequeños confieren una ventaja adaptativa a las plantas, porque pueden abrir y cerrar más rápidamente, y por tanto, ser más eficientes en el uso del agua, en la

fotosíntesis y en la transpiración. Este principio puede ser aplicado a la selección de plantas en mejoramiento genético. El tamaño de los estomas es un factor clave en el proceso de aclimatación al estrés hídrico, al existir una relación inversa entre el tamaño del estoma y la resistencia a la sequía (Aasaman *et al.,* 2001). La Densidad estomática y el tamaño de los estomas son rasgos de la anatomía foliar que pueden actuar como barreras físicas para controlan la entrada del agente patógeno en la hoja (Agrios, 2005).

CONCLUSIONES

1. La variedad Atlas reportó el menor valor de IE a los 30 y 50 días, en la epidermis abaxial, con 17,0 y 16,7 respectivamente.
2. A los 30 días después de la plantación la variedad Everest reportó los valores más altos de DE, tanto en la epidermis adaxial como abaxial, con 149,9 y 400 estomas/mm^2 respectivamente.
3. La DE está en dependencia de la variedad, edad de la hoja y área (cm^2) que posea.
4. El poro estomático de la superficie adaxial es más grande que el de la parte abaxial.

BIBLIOGRAFÍA

AASAMAN, K.; A. SOBER y M. RAHI. 2001. Leaf anatomical characteristic associated with shoot hydraulic conductance, stomatal conductance and stomatal sensitivity to changes of leaf water status in temperate deciduous trees. *Aust. J. Plant Physiol*., 28, 765-774.

AGRIOS, N. 2005. Fitopatología. Traducción del inglés por Manuel Guzmán Ortiz. Limusa. México. 756 pp.

BULFE, N. y M. FERNÁNDEZ. 2014. Efecto del momento de ocurrencia del déficit hídrico sobre el crecimiento de plantines de *Pinus taeda* L. *Revista de la Facultad de Agronomía, La Plata,* 113(1), 81-93.

CUTTER, E. 1978. Structure and development of potato plant. pp. 70-152. *In*: The potato crop (ed.) P.N.H. Harris. Chapman and Hall. London. 730 p.

EHLERINGER, J. and H. MOONEY. 1978. Leaf hairs: effect on physiological activity and adaptive value to a desert shrub. *Oecología,* 37, 183-200.

GABRIEL, J.; P. PORCO; A. ANGULO; J. MAGNE; J. LA TORRE y P. MAMANI. 2011. Resistencia genética a estrés hídrico por sequía en variedades de papa (*Solanum tuberosum* L.) bajo invernadero. *Revista Latinoamericana de la Papa*, 16(2), 173-208.

GRANADA, W. y C. BENÍTEZ. 2004. Anatomía foliar de cuatro especies de *Solanum* L. sección *Acanthophora* Dunal en Venezuela. *Acta Científica Venezolana* 55, 13-26.

HERNÁNDEZ, A.; J. PÉREZ; D. BOSCH y L. RIVERO. 1999. Nueva versión de clasificación genética de los suelos de Cuba. Instituto de Suelos: AGRINFOR. La Habana, 64 pp.

HETHERINGTON, M. y WOODWARD, F. 2003. El papel de los estomas en la detección y manejo del cambio ambiental. *Nature,* 424, 901-908.

MARTIN, C. y B. GLOVER. 2007. Aspectos funcionales del patrón celular en la epidermis aérea. *Curr. Opin. Plant Biol.,* 10, 70-82.

REYES, L.; V. QUIROZ; H. KELSO; M. HUERTA; C. AVENDAÑO y R. LOBATO. 2015. Caracterización estomática de cinco especies del género *Vanilla. Agronomía Mesoamericana*, 26(2), 237-246.

ROJAS, G.M. 1978. Fisiología Vegetal Aplicada. Ed. McGraw Hill. México. 437 pp.

SALAS, J.; E. SANABRIA; D. ULACIO; D. RODRÍGUEZ y R. VALERA. 2007. Anatomía foliar de materiales genéticos de papa (*Solanum tuberosum* L.) *in vitro*. Memorias del XVII Congreso Venezolano de Botánica. Maracaibo, edo. Zulia del 20-25 de mayo.

SALAS, J.; M. SANABRIA; D. RODRÍGUEZ; R. VALERA e Y. FRÉITEZ (2009). Anatomía foliar comparada de materiales genéticos *in vitro* de papa (*Solanum tuberosum* L.). *Revista UDO Agrícola,* 9(3), 563-570.

SÁNCHEZ, M. y J. AGUIRREOLEA. 1996. Relaciones hídricas. En: B.J. Azcón, y M. Talón, editores, Fisiología y bioquímica vegetal. Edigrafos, Madrid, ESP. 49-90 p.

SERNA, L.; J. TORRES y C. FENOLL. 2002. Análisis clonal del desarrollo y patrones de los estomas en hojas de *Arabidopsis. Dev. Biol.,* 241, 24- 33.

TARI, I. 2003. Densidad estomática abaxial y adaxial, conductancias estomáticas y estatus del agua en las primeras hojas de frijol como es afectado por paclobutrazol. *Biol. Plant*., 47, 215-220.

TERÁN, G. 1995. Evaluación de características morfofisiológicas y de productividad de papa (*Solanum tuberosum* L.) variedad Alpha proveniente de diferentes condiciones agrotecnológicas. Tesis para optar al grado de Maestro en Ciencias con especialidad en botánica. Universidad Autónoma de Nuevo León, Facultad de Ciencias Biológicas, División de Postgrado. Monterrey. N.L. 85 pp.

WILKINSON, P. 1979. The plant surface (mainly leaf). In: C.R. Metalcafe, and L. Chalk, ed., Anatomy of the dicotyledons. Vol. 1. Claredon Press, Oxford, USA. 97-117 p.