

Estudio ultraestructural de la epidermis foliar de *Phaseolus vulgaris* L.^{1/} ——— EUGENIA M. FLORES**, ANA M. ESPINOZA***, Y. KOZUKA****

ABSTRACT

The epidermal cells of Phaseolus vulgaris L. were studied by means of a Scanning Electron Microscope and the following results were obtained. The abaxial (lower) leaf epidermis showed greater variety of trichomes than the adaxial (upper) surface. The leaf is amphistomatic and has abundant stomata, the ostioles are small and become reduced towards the stomatic chamber. Stomata are of the paracytic type. Small round structures showing a pore are found in the areolar epidermis; a possible glandular function could be associated with them. The venation is semicraspedodromous. Veins are pubescent abaxially and the areoles are of irregular, sometimes polygonal shape. The cuticle is mostly striated especially in the adaxial surface.

Introducción

El frijol común es una de las primeras especies cultivadas por los americanos; como tal, aparece ya en los horizontes del período preagrícola mexicano de hace unos 7.000 años (7).

Los estudios de Dornier (2), Hayward (6), León (7) y Metcalfe y Chalk (8) condensan la información básica que existe respecto a la estructura foliar de *Phaseolus vulgaris*. Su condición de producto primario en la dieta del latinoamericano contribuyó a que la mayoría de las investigaciones previas (6, 7) enfatizaran la morfología de los órganos reproductivos, así como de las raíces y sus nódulos bacterianos. En el presente trabajo se investiga y complementa la información referente a la morfología foliar que brindó el microscopio de disección o el de luz, empleando para ello un microscopio electrónico de rastreo.

Materiales y métodos

Las plantas de frijol común empleadas en esta investigación se colectaron en la Estación Experimental Fabio Baudrit, Alajuela, y en los invernaderos de la Escuela de Fitotecnia, Ciudad Universitaria Rodrigo Facio, durante los meses de setiembre a diciembre de 1976 y enero y febrero de 1977.

Se fijó el material en glutaraldehído al 4 por ciento, en un amortiguador de cacodilato de sodio y HCl 0,05 M, pH 7,0 durante 12 horas a 23°C. Después de fijado el material se deshidrató mediante series de etanol y se transfirió a una solución 1:1 de acetato de amilo y etanol absoluto y luego a acetato de amilo puro. El material se sometió a ultrasonido durante 2 ó 3 segundos empleando un aparato Sharp VT-52 para eliminar las impurezas de la superficie foliar. Las secciones se llevaron hasta el punto de secado crítico con CO₂ en una secadora Hitachi HCP-1. Se montaron los cortes en soportes de aluminio empleando una cinta de doble superficie adhesiva y pintura conductora de plata. El material se colocó en un cobertor iónico EIKO modelo IB-3, donde se cubrió con una película de oro. Luego se observó el material en un microscopio electrónico de rastreo Hitachi HHS-2R. Las fotografías se tomaron empleando película Verichrome Pan Kodak VP120.

^{1/} Recibido para su publicación el 11 de marzo de 1977.

^{1/} Esta investigación se llevó a cabo en el Centro de Virología y Fisiología Celular y la Unidad de Microscopía Electrónica de la Universidad de Costa Rica.

** Centro de Virología y Fisiología Celular y Escuela de Biología, Universidad de Costa Rica.

*** Centro de Virología y Fisiología Celular y Escuela de Fitotecnia, Universidad de Costa Rica.

**** Unidad de Microscopía Electrónica, Universidad de Costa Rica, San José, Costa Rica.

Resultados

Observaciones generales

Phaseolus vulgaris L es una planta exalbuminosa, de cotiledones grandes, carnosos y de ligero color verde. Los protofilos arriba de los cotiledones son opuestos, simples, acorazonados, de base auriculada, lámina simétrica, margen entero, ápice agudo y venación semicraspedódroma (según el sistema de Dilcher) (2); el pecíolo es pulvinado y estipulado. Los metafilos son alternos y trifoliados y el pecíolo presenta estípulas persistentes y estriadas. La base es gruesa y pulvinada. El folíolo central es obovado y simétrico, de margen entero, ápice agudo y base redonda; los folíolos laterales son asimétricos, de ápice agudo, base redonda y peciolulos estipelados. La venación de los folíolos es reticulada y semicraspedódroma al igual que en los protofilos. Las areolas son irregulares, a veces poligonales y de venillas ramificadas. En los folíolos laterales las venas secundarias son más pronunciadas en el lado externo de la lámina opuesto al folíolo central. La vena media de los protofilos y los folíolos en los metafilos se proyecta abaxialmente, igual que las venas terciarias y menores.

Superficie adaxial (haz) de la lámina

La lámina de los protofilos y los folíolos de los metafilos se divide en numerosas aréolas, irregulares o poligonales, debido al fino retículo formado por las venas menores (Fig 1). El arreglo y forma de las células epidérmicas es diferente en aréolas y nervadura. La epidermis que se localiza sobre las venas está constituida por células rectangulares largas, de paredes lisas (Fig 2 y 4). En los puntos de ramificación de las venas menores se localizan tricomas uniseriados largos, formados por una célula basal pequeña (Fig 3) y una célula distal larga de aproximadamente 680 a 690 μm de longitud (Fig 1). A lo largo de las venas alternan dos tipos de tricoma de menor talla (Fig 2). El primer tipo es agudo, ganchudo y de base ensanchada (Figs 2 y 4); mide de 150 a 160 μm . El otro tipo de tricomas es multicelular, de extremo distal ensanchado, glandular y su talla oscila entre 60 y 70 μm (Figs 2, 4 y 5). Este último tipo de tricoma descrito corresponde al "club shaped type" reportado por Metcalfe y Chalk (8) en Phaseoleae; a su alrededor es frecuente encontrar depósitos irregulares aparentemente de cutícula y otras sustancias, que en algunos casos producen el efecto de que el tricoma se encuentra hundido.

Las células epidérmicas de las aréolas son de forma irregular y paredes profundamente onduladas, observándose que la pared anticlinal externa de las mismas se encuentra cubierta de una gruesa cutícula estriada (Figs. 6 y 7). El único tipo de tricoma observado en la epidermis de las aréolas es uniseriado y ganchudo (Figs. 1, 2, y 8) que alcanza una longitud de 90 a 100 μm . Se observaron pocos estomas en la superficie adaxial de la lámina foliar, pero con frecuencia se en-

contraron pequeñas estructuras redondas en la epidermis areolar (Figs 6 y 7) que en ciertos casos mostraron un poro abierto (Fig. 17). Los estomas son del tipo paracítico (Figs 2 y 3).

Superficie abaxial (envés) de la lámina

La vena media se proyecta profundamente hacia el envés adquiriendo una forma protuberante (Fig. 9) al igual que las venas laterales secundarias, terciarias y menores que se ramifican a partir de la mayor (Figs 9 y 10). Las células epidérmicas que cubren las venas son de menor tamaño que las observadas en el haz y tienden a adoptar una forma rectangular. En las zonas en que se originan las venas laterales (secundarias), es frecuente observar una profusa agrupación de tricomas ganchudos de 150 a 160 μm de longitud (Fig. 10); algunos tricomas de este mismo tipo son observables sobre la vena media, pero en general, ésta es casi glabra (Fig. 9). Las venas menores son pubescentes y exhiben tres tipos de tricomas (Fig. 11). El primer tipo es similar al tricoma uniseriado largo que se observó en el haz (Figs 1 y 11). Su tamaño oscila entre 800 y 900 μm . En la base de estos tricomas se localiza un anillo de pequeñas células (Fig. 12) que soporta la larga célula distal. La segunda clase de tricoma encontrado es del tipo ganchudo unicelular y su talla es aproximadamente de 90 a 100 μm (Fig. 13); el tercero y último tipo corresponde al tricoma multiseriado glandular ya encontrado en la superficie adaxial (Fig. 5) y de talla semejante al mismo.

En las aréolas las células epidérmicas muestran la misma forma de las epidérmicas areolares adaxiales (Figs. 6 y 7). Los estomas se encuentran restringidos a las aréolas en la superficie abaxial y son del tipo paracítico o rubiáceo, con un par de células subsidiarias paralelas al ostiolo (Figs 14 y 15); éstas son de forma irregular y se encuentran cubiertas por una cutícula muy estriada (Fig. 15). El ostiolo mide de 20 a 22 μm de longitud, es angosto y se reduce hacia el interior de la cámara subestomática. Los bordes estomáticos, internos y externos del ostiolo, son ornados y se encuentran cubiertos por una deposición de cutícula. En la vecindad de las venas y cerca del margen de la lámina foliar, los estomas presentan diferente forma y el ostiolo se encuentra prácticamente cerrado (Fig. 16). El número de estomas en las aréolas de hojas maduras es de 300 a 320 por mm^2 . En las aréolas se observa un tipo de tricoma bicelular de base dilatada (Fig. 17) cuya longitud oscila entre 60 y 70 μm . Las estructuras redondas no identificadas, que con frecuencia muestran un poro (Fig. 17), fueron identificadas también en el envés.

El borde de la lámina en la superficie abaxial muestra células epidérmicas alargadas y tricomas largos de 1,2 a 1,3 mm de longitud (Fig. 18).

Discusión

La superficie adaxial es menos pilosa que el envés y exhibe menor variedad de tricomas. Es interesante el tricoma de tipo ganchudo, abundante abaxialmente,

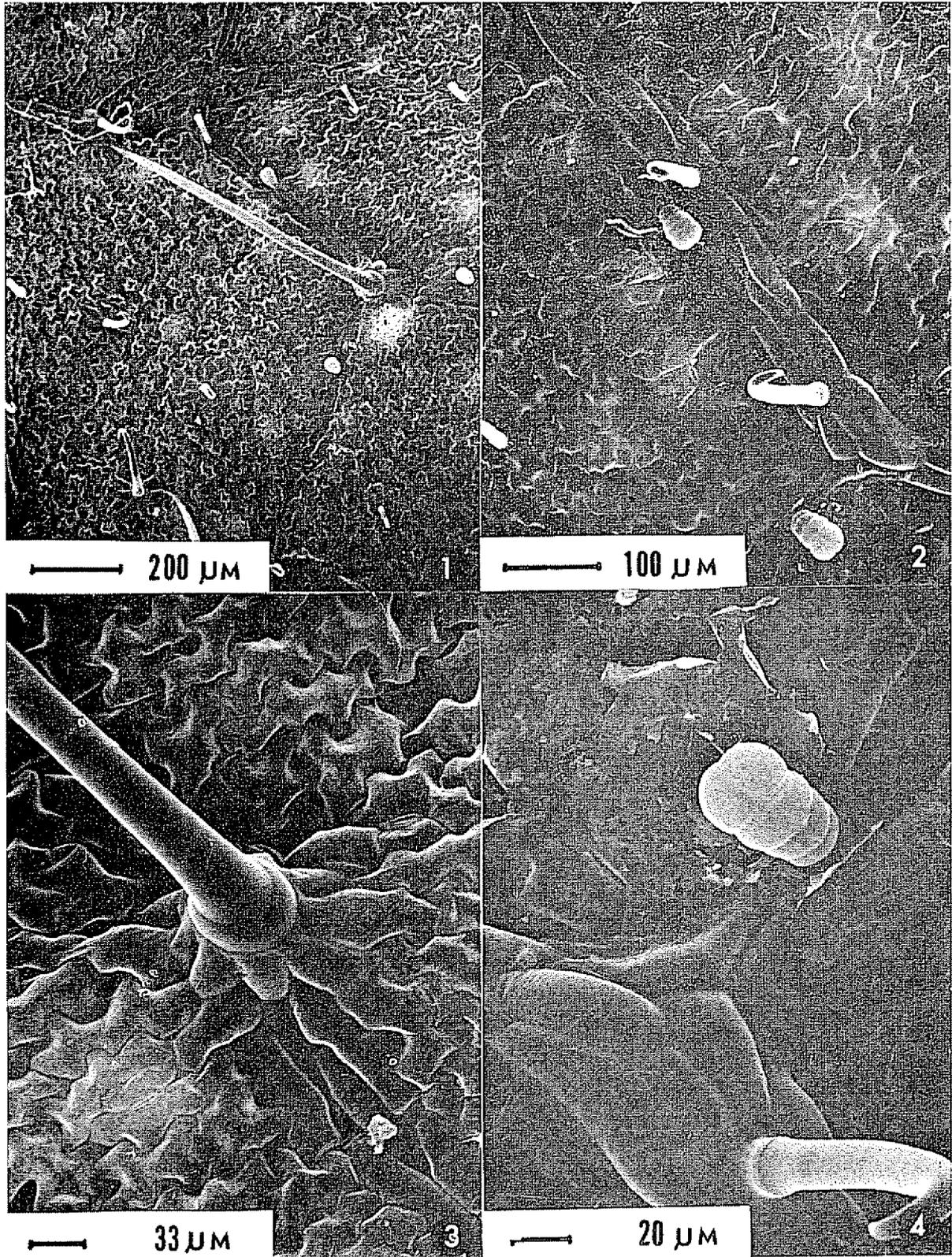


Fig 1—Vista adaxial de la lámina foliar en la que se observa el patrón reticulado formado por la venación

Fig 2—Células epidérmicas rectangulares que se localizan sobre las venas en la base

Fig 3—Tricoma largo característico del punto de conexión de las venas

Fig 4—Tricomas glandulares y ramificados que aparecen a lo largo de la vena menor

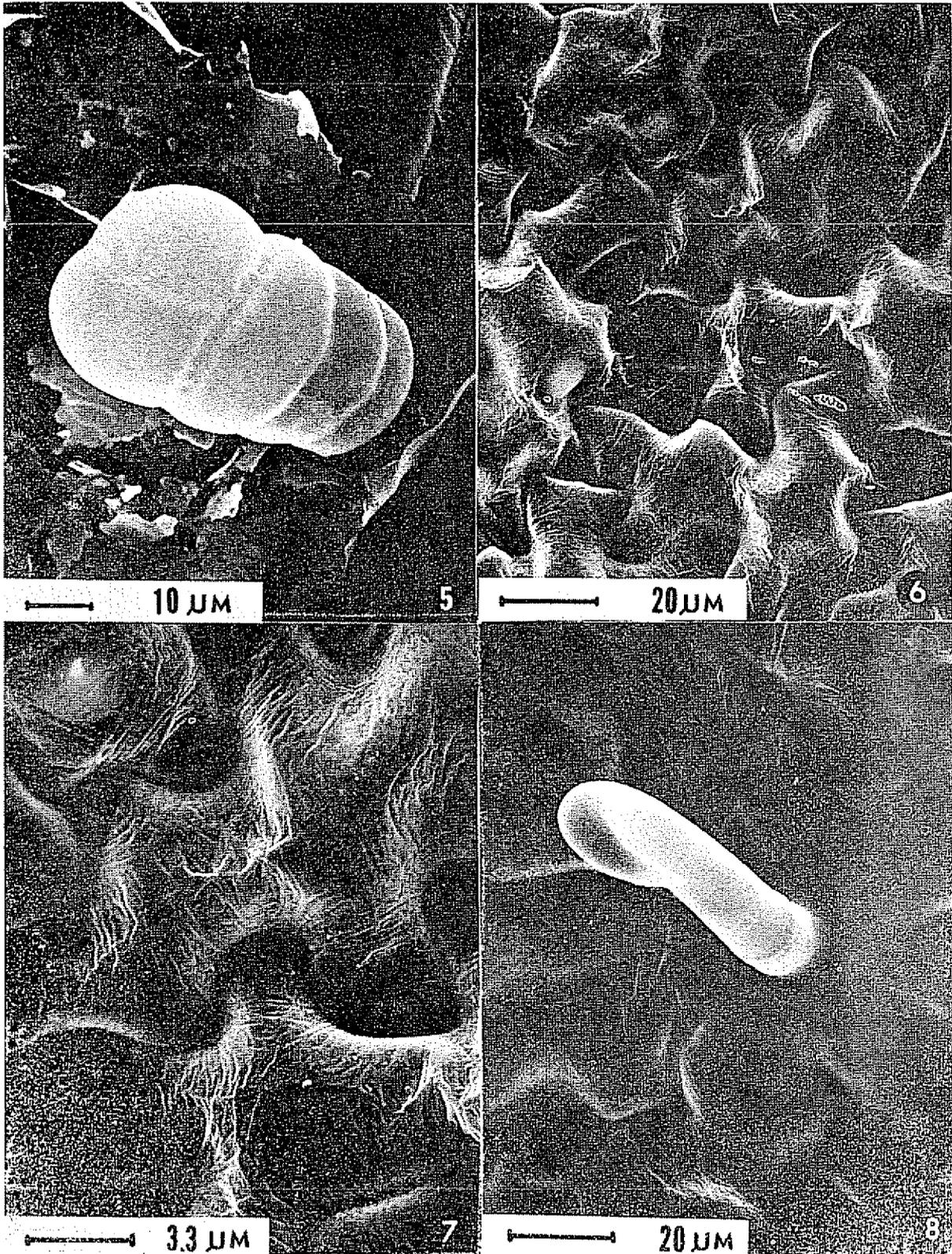


Fig 5 —Detalle del pelo glandular multicelular que se localiza sobre las venas de la haz

Fig 6 —Células epidérmicas de forma ondulada características de las aréolas o isletas en la superficie adaxial

Fig 7 —Estrías cuticulares de la epidermis areolar en la superficie adaxial

Fig 8 —Tricoma uniseriado y curvado que se encuentra en la epidermis areolar adaxial

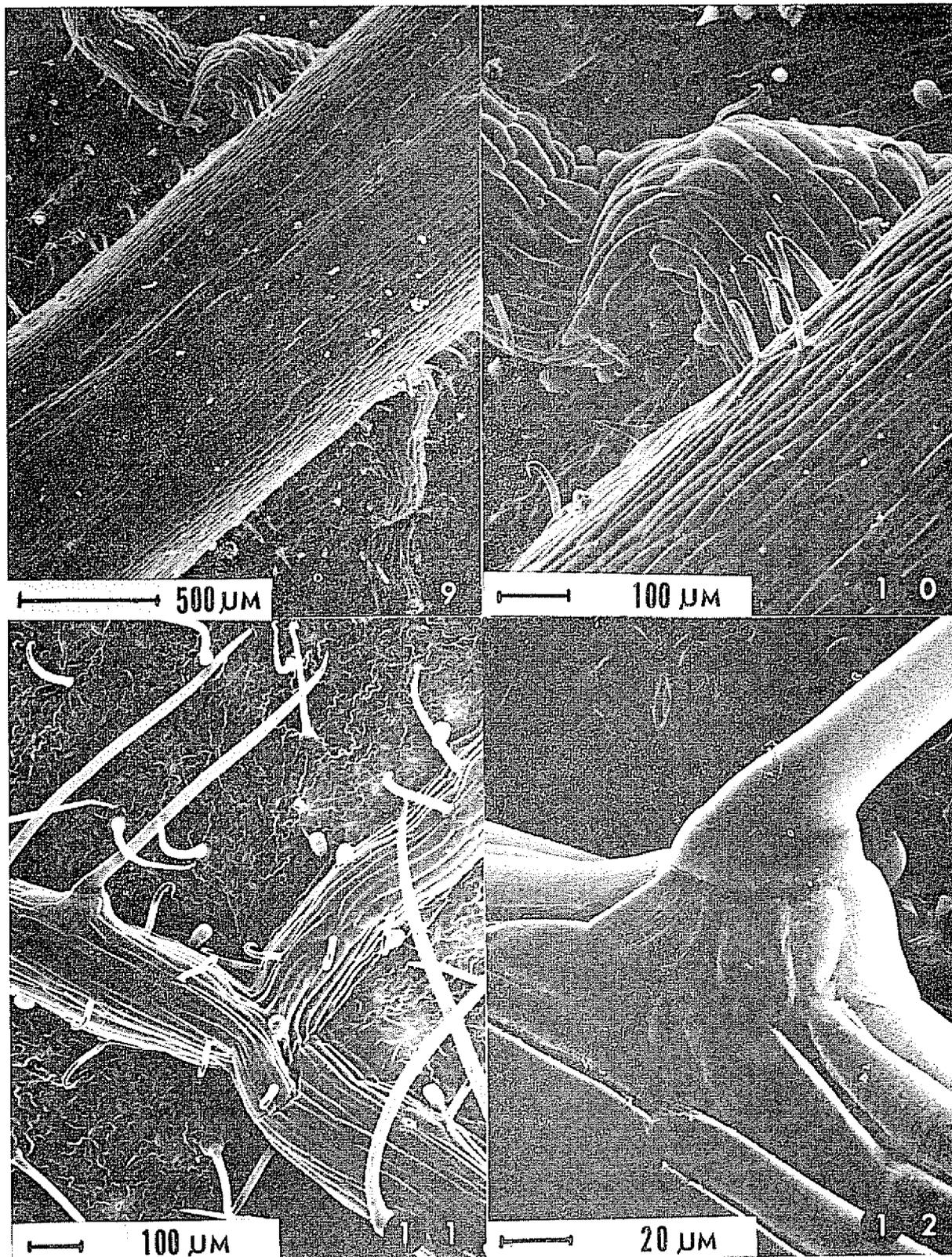


Fig 9—Vena media de la lámina que muestra las ramificaciones laterales de la misma en la superficie abaxial

Fig 10—Proliferación de tricomas ganchedos en las zonas de ramificación de las venas laterales del envés

Fig 11—Ramificación de las venas menores, las cuales muestran variedad de tipos de tricomas en la superficie abaxial

Fig 12—Tricoma uniseriado largo, constituido por una célula distal aguda y un anillo de células pequeñas en la base, tal y como se observa en el envés.

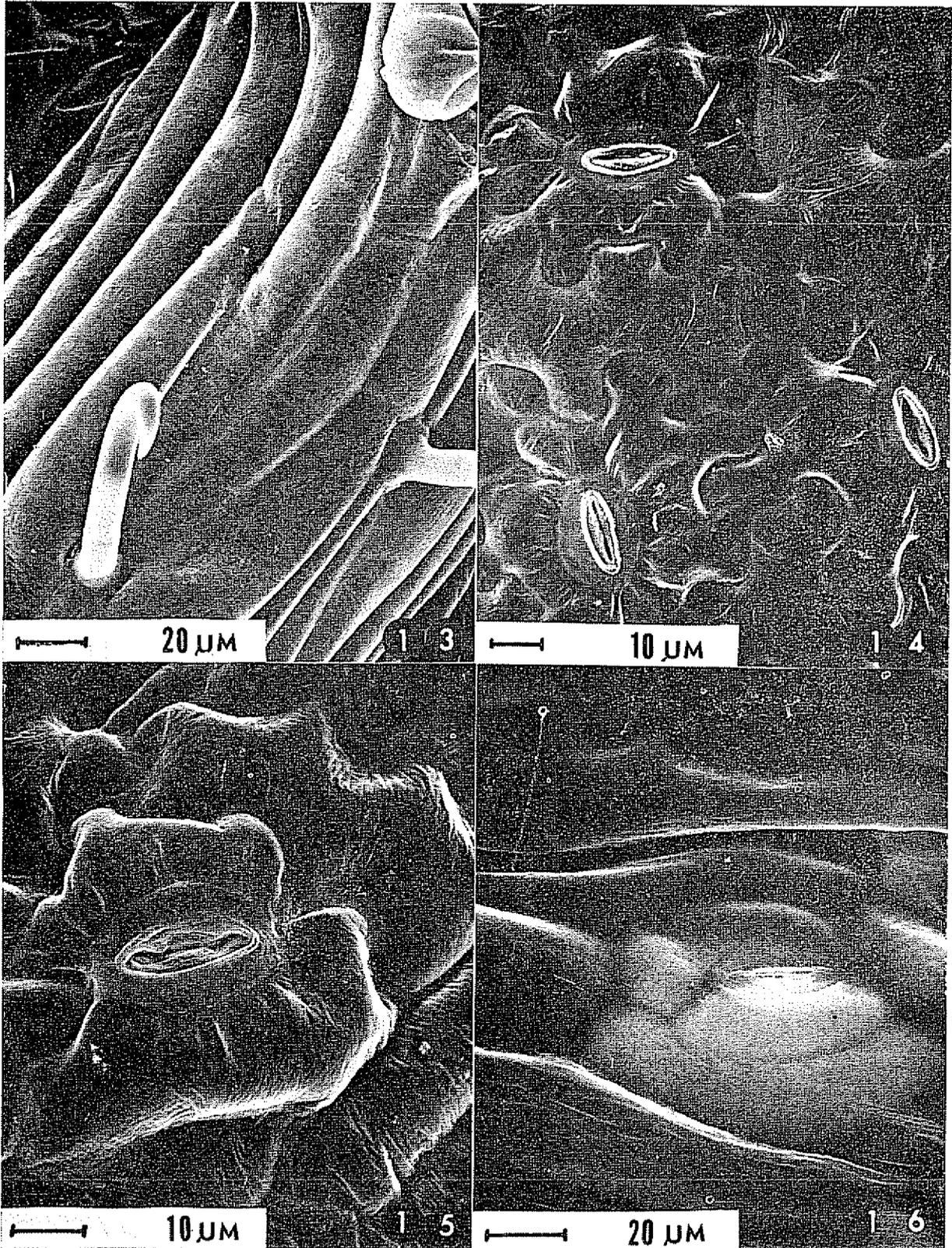


Fig. 13.—Vista de las venas y los tricomas abaxialmente

Fig. 14.—Distribución de estomas en las aréolas del envés.

Fig. 15.—Estoma de tipo paracítico localizado en el envés, mostrando la reducción del ostiolo hacia el interior de la cavidad estomática

Fig. 16.—Estoma característico del margen foliar y la vecindad de las venas en el envés

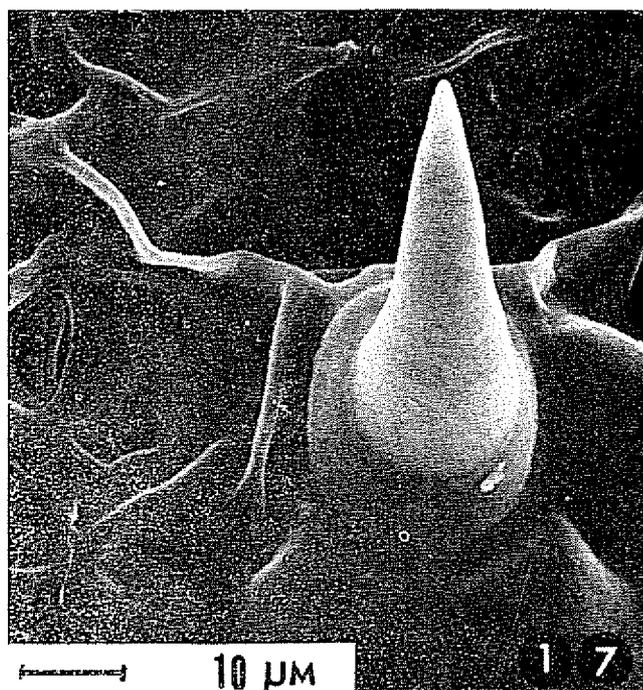


Fig. 17.—Tricoma bicelular de base dilatada presente en las aréolas del envés. A la derecha se observa una de las pequeñas estructuras redondas que revisten el parénquima.

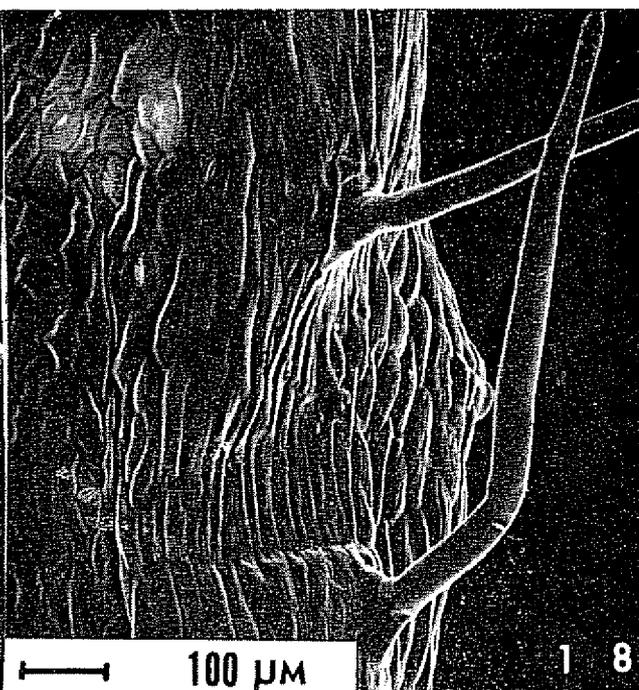


Fig. 18.—Borde de la lámina que muestra los tricomas largos y las células epidérmicas alargadas.

al que se ha relacionado con funciones de defensa y protección, cuando la planta sufre el ataque de *Empoasca* sp. (10).

La hoja es anfiestomática y el tipo de estoma paracítico es constante en la hoja, excepto en las zonas anexas al borde foliar y las venas, en que se observa el tipo modificado descrito. El ostiolo de los estomas es pequeño si se compara su tamaño con el de otras plantas (5, 6) y su número es extremadamente alto. Con frecuencia ostiolos pequeños han sido relacionados con tasas de transpiración superiores a las de ostiolos grandes (1). Lo mismo sucede con el alto número de estomas (5).

Metcalfe y Chalk (8) describieron células mucilaginosas en la epidermis foliar de *Phaseoleae*; externamente no se observaron células que revelaran una posible función glandular en *Phaseolus vulgaris*, aunque las pequeñas estructuras redondas observadas abaxial y abaxialmente podrían efectuar una función secretora.

El desarrollo irregular de las láminas de los folíolos laterales en los metafílos revelan un crecimiento ontogénico diferencial; lo mismo puede decirse de la reducción de la nervadura en el lado interno de los folíolos vecinos al folíolo central.

La cutícula muestra bastante estriación; Pieniazek (9) no encontró relación entre el grosor cuticular de la epidermis en las plantas y la transpiración, pero observó que las superficies cuticulares burdas o estriadas aumentan la transpiración cuticular. Este tipo de cutícula, unido a la cantidad de estomas en el envés, permi-

te suponer que la transpiración es alta abaxialmente. También determina que la aplicación de sustancias vía hoja será más exitosa si se aplican en el envés.

Agradecimiento

Esta investigación fue realizada en la Unidad de Microscopía Electrónica de la Universidad de Costa Rica, establecida con el apoyo de la Agencia Japonesa de Cooperación Internacional (JICA) del Gobierno del Japón y financiada por la Vicerrectoría de Investigación de la Universidad de Costa Rica y parte de los fondos otorgados por el Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Tecnológicas de Costa Rica para el proyecto "Transmisión de virus en plantas por insectos cí-somélidos".

Literatura citada

1. BROWN, H. T. y ESCOMBE, F. Static diffusion of gases and liquids in relation to the assimilation of carbon and translocation of plants. *Philosophic Transactions of the Royal Society of London, Series B* 193: 223-228. 1900.
2. DILCHER, D. L. Approaches to the identification of angiosperm leaf remains. *The Botanical Review* 40 (1): 1-157. 1974.
3. DORMER, K. J. Vegetative morphology as a guide to the classification of the Papilionatae. *New Phytology* 45: 145-161. 1946.

4. FLORES, EUGENIA M. Algunos aspectos de anatomía foliar comparada de dos especies de Bromeliaceae (*Aechmea mexicana* Baker y *Hechtia glomerata* Zucc.). Revista de Biología Tropical 23 (1): 29-52 1975.
5. ———, ESPINOZA, ANA M. y KOZUKA, Y. Observaciones sobre la epidermis foliar de *Zest mays* L. al microscopio electrónico de rastreo. Revista de Biología Tropical 25(1):123-135 1977.
6. HAYWARD, H. E. The structure of economic plants. New York, Macmillan, 1938. 674 p.
7. LEON, J. Fundamentos botánicos de los cultivos tropicales. Lima, Instituto Interamericano de Ciencias Agrícolas, 1968. 487 p.
8. METCALFE, C. R. y CHALK, L. Anatomy of the dicotyledons. Oxford, Clarendon Press 1950. 1500 p.
9. PIENIAZAEK, S. A. Physical characters of the skin in relation to apple fruit transpiration. Plant Physiology 19:529-536 1944.
10. TINGLEY, W. M. y PILLEMER, E. A. Leafhopper resistance of dry bean cultivars. New York's Food and Life Sciences Quarterly 9 (3): 3-5 1976.

Notas y Comentarios

Medalla Agrícola Interamericana de 1977

Humberto Gandarillas, el distinguido investigador boliviano, fue condecorado con la Medalla Agrícola Interamericana 1977, como reconocimiento público internacional a su destacada obra realizada en su vida profesional consagrada a la investigación y a la enseñanza agrícola. La distinción le fue otorgada por el Comité Técnico Consultivo del IICA, en su reunión anual realizada en mayo de 1977 en Santo Domingo, República Dominicana.

El Ingeniero Agrónomo Humberto Gandarillas Santa Cruz, nacido en Cochabamba, realizó estudios en las Universidades de Chile y Minnesota. Trabajó en su país en investigación y enseñanza, modernizando la enseñanza de agricultura en la Universidad de Cochabamba y fundando varias estaciones experimentales, la más importante de las cuales fue la de Patacamaya, dedicada a la ganadería del altiplano. Sus investigaciones sobre la quinua (*Chenopodium quinoa*) constituyen una importante contribución al conocimiento de la genética y la citología de este grano andino.

También publicó investigaciones sobre genética de los camélidos sudamericanos y la papa andina. En esta labor ha contribuido a la formación de generaciones de ingenieros agrónomos, que fueron alumnos y colaboradores suyos en muchas de estas investigaciones.

Turrialba, a la que el Ingeniero Gandarillas distinguió con la publicación de varias de sus contribuciones originales sobre la quinua y papa, se complace en expresar su satisfacción por tan merecido galardón y extender su felicitación al esforzado científico boliviano.

Otros Premios Interamericanos de 1977

Además de la Medalla Agrícola Interamericana, de la que nos ocupamos en otra parte de este número, el Consejo Técnico Consultivo del IICA, en su reunión anual realizada en Santo Domingo, República Dominicana, en mayo de 1977, acordó los siguientes premios adicionales:

- 1) Premio de Desarrollo Agrícola Interamericano 1977, al Arquitecto Pablo Hary, argentino, por su labor en organizar movimientos rurales en pro del desarrollo rural regional.
- 2) Premio Agrícola Interamericano para Profesionales Jóvenes:
 - a) Zona Andina, al Economista Douglas Jatem, de Venezuela;
 - b) Zona de las Antillas, al Agrónomo Gerard Nozine, de Haití;
 - c) Zona Norte, al Ingeniero Agrónomo Carlos Arjona, de Guatemala; y
 - d) Zona Sur, al Ingeniero Agrónomo Claudio Cafati, de Chile.

Solución natural a la escasez de caucho

La demanda por caucho natural es probable que aumente en una tasa anual de 5,9 por ciento entre 1980 y 1985, sobrepasando con exceso el incremento previsto de la oferta de 3,8 por ciento anual. Las gomas elásticas sintéticas no pueden alcanzar la combinación de elasticidad, rebote, glutinosidad y resistencia al calentamiento que posee el caucho natural. Las llantas de los aviones están hechas casi completamente con caucho natural, dice Peter Gwyne en un reciente comentario en *New Scientist* (vol 74, p. 7), mientras que las cada vez más populares llantas radiales para automóviles utilizaron el doble de caucho que las llantas de pliegos cruzados. El problema se complica cuando se tiene en cuenta que las principales materias primas de la polimerización previa a la síntesis de las gomas sintéticas son productos del craqueo del petróleo (el butadieno, por ejemplo). Estados Unidos importa todo el caucho natural que necesita, unas 700 mil toneladas al año.

En la primera semana de abril de 1977, un comité de la National Academy of Sciences señaló una posible solución, el desarrollo de la planta guayule (*Parthenium argentatum* Gray, Compositae), un arbusto de medio metro de altura, gris verde, que crece en las condiciones semiáridas del sudoeste de Estados Unidos y norte de México. Sus raíces, ramas y tallos contienen hasta 26 por ciento de un caucho que es casi idéntico al obtenido de los árboles de *Hevea*.

La industria norteamericana usó el caucho de guayule extensivamente en los primeros años de este siglo, hasta que la superexplotación devastó los arbustos. Después, en 1942, cuando los japoneses ocuparon el sudeste de Asia, el gobierno de Estados Unidos lanzó un proyecto para domesticar y mejorar los rendimientos del guayule, pero fue abandonado al finalizar la guerra. Más recientemente, el gobierno mexicano se ha interesado en el guayule. Se completó una planta piloto en marzo de 1976 que procesa una tonelada de arbustos silvestres por día. Produce caucho de guayule de calidad mucho más alta que la extraída anteriormente, y las llantas hechas con este producto se están sometiendo ahora a pruebas de resistencia.

Los expertos de la National Academy of Sciences, encabezados por Reed C. Rollins, de la Universidad de Harvard, han recomendado que Estados Unidos una sus esfuerzos a los del gobierno de México en un programa de investigaciones y desarrollo del guayule, y que se tomen los primeros pasos hacia la comercialización del arbusto iniciándose programas de mejoramiento genético y plantaciones experimentales, como se han hecho en años pasados en Australia, Israel y España.

Como un eco el informe publicado en abril, se ha propuesto la legislación en ambas cámaras del congreso para reservar 60 millones de dólares para un esfuerzo de cinco años para desarrollar la producción de caucho natural en Estados Unidos. El informe de la NAC se puede obtener gratuitamente de: BOSAIID, National Academy of Sciences, National Research Council, 2101 Constitution Avenue, Washington, D. C. 20418. El título es "Guayule: rubber producing desert shrub" (Publ. N° 22).