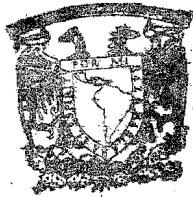


UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

FACULTAD DE CIENCIAS

DEPARTAMENTO DE BIOLOGIA

ONTOGENIA Y DISTRIBUCION DE ESTOMAS EN LA PRIMERA HOJA DE
PLANTULAS DE CUATRO RAZAS DE MAIZ



BIBLIOTECA
CENTRO DE ECOLOGIA

T E S I S

Que como requisito parcial
para obtener el titulo de

B I O L O G O

P R E S E N T A

CLARA ALFARO MAYA

MEXICO, D.F.

1974

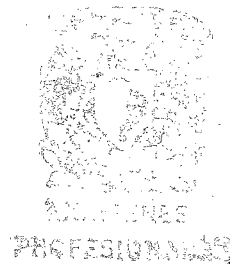
DEDICATORIA

A MIS QUERIDOS PADRES
Y HERMANOS

A MI QUERIDA ABUELITA

A MIS MAESTROS

A MIS AMIGAS Y COMPAÑERAS





BIBLIOTECA
CENTRO DE ECOLOGÍA

AGRADECIMIENTOS.

Mi más sincero agradecimiento al Dr. Josué Kohashi S.
(Prof. Investigador en la Rama de Botánica del Colegio de Post-
graduados de la E.N.A.) por el asesoramiento de este trabajo.

Agradezco al Dr. M. Engleman (Prof. Investigador de la
Rama de Botánica del Colegio de Postgraduados de la E.N.A.) sus
valiosas sugerencias, así como la toma de fotografías.

Agradezco al Ing. Abel Muñoz O. por su asesoramiento
en la parte estadística.

Al Ing. Efraín Hernández X. por sus valiosas
sugerencias

Al Ing. Hugo Mejía por sus valiosas recomendaciones.

A la señorita Ana Bertha por la escritura a máquina de
esta tesis.

A todas las personas que de una u otra forma han cola-
borado para la realización de este trabajo.

CONTENIDO

	Pág.
RESUMEN - - - - -	1
I.- INTRODUCCION - - - - -	3
II.- OBJETIVOS - - - - -	5
III.- REVISION DE LITERATURA - - - - -	6
1.- Estudios sobre las características epidérmicas y tipos de estomas. - - - - -	6
a).- Tipos de estomas de acuerdo a su origen.	
b).- Tipos de estomas de acuerdo a la forma de las células oclusivas.	
2.- Descripción del estoma de tipo gramináceo. - - - - -	8
3.- Terminología. - - - - -	10
4.- Estudios sobre desarrollo y ultraestructura del complejo estomático. - - - - -	10
5.- Estudios en <u>Zea mays</u> . - - - - -	15
a).- Desarrollo del complejo estomático.	
b).- Aspectos taxonómicos.	
c).- Distribución y frecuencia de estomas.	
d).- Índice estomático.	
IV.- MATERIALES Y METODOS - - - - -	19
A.- Material empleado. - - - - -	19
B.- Obtención del material para observación del crecimiento de la hoja. - - - - -	19
C.- Obtención de la muestra para observación microscópica. - - - - -	20
D.- Procedimiento para el estudio de ontogenia de estomas. - - - - -	21
E.- Procedimiento para el estudio de distribución, frecuencia estomática y de células epidérmicas.	21
V.- RESULTADOS - - - - -	24
A.- Crecimiento de la hoja - - - - -	24
B.- Ontogenia de estomas - - - - -	25
C.- Distribución de estomas	
D.- Análisis de varianza de la frecuencia estomática	26
E.- Análisis de varianza de la frecuencia de células epidérmicas - - - - -	28
F.- Análisis de varianza del Índice estomático - - - - -	29

	Pág.
VI.- DISCUSION DE LOS RESULTADOS Y CONCLUSIONES - - - - -	32
VII.- LITERATURA CITADA - - - - -	40

A P E N D I C E

RESUMEN

En Zea mays se revisaron varias características de los estomas, en las siguientes razas: Palomero toluqueño, Jala, Apachito y Tabloncillo Perla, bajo condiciones ambientales controladas.

Las características estudiadas en la lámina de la primera hoja en las plántulas de maíz, fueron las siguientes:

1.- Ontogenia de estomas, donde se corroboró el origen perigeno de ellos.

2.- Frecuencia estomática, se observó diferencias significativas estadísticamente entre razas (alta frecuencia estomática en Tabloncillo Perla 61.8; intermedia en Palomero Toluqueño y Jala, 58.2 y 55.6 respectivamente; y baja en Apachito, 47.2), así también fueron significativas las diferencias entre superficies (adaxial y abaxial), entre posiciones de la lámina y algunas de las interacciones como son: Razas x Posiciones y Posiciones x Superficies.

3.- Distribución de estomas: se encontró un patrón de distribución de estas estructuras relacionado con la diferenciación basípeta de la hoja, es decir, a lo largo de la lámina se encuentra una frecuencia estomática que va de menor a mayor de la base al ápice de la lámina.

4.- La frecuencia de células epidérmicas (no estomáticas), no difiere estadísticamente entre las dos superficies de la lámina, pero sí hay diferencia significativa entre Razas, Posiciones, y varias de las interacciones, entre ellas: Razas x Superficies, Posiciones x Razas, Posiciones x Superficies y Superficies x Razas.

5.- El índice estomático resultó ser particular para algunas razas (Tabloncillo Perla 18.20; Palomero Toluqueño 14.53) y no diferente

para otras (Jala 17.16 y Apachito 16.99).

6.- Por lo que respecta a la relación existente entre la frecuencia estomática y la resistencia a la sequía no se hizo experimentación fisiológica, pero en base a la literatura revisada se puede indicar que las razas con una baja frecuencia estomática pueden ser resistentes a la sequía.

7.- Tomando en cuenta los resultados obtenidos y la literatura revisada, podemos decir que la frecuencia estomática y de células epidérmicas están regidas genéticamente y que pudiera considerarse como un carácter taxonómico, siendo necesario hacer estudios más profundos al respecto, tomando en cuenta la relación filogenética entre los integrantes del grupo gramineae.

I.- INTRODUCCION

El agua es uno de los compuestos indispensables para el metabolismo de las plantas, ya que transporta los nutrimentos tomados del suelo por los pelos radicales, para ser conducidos hasta los órganos fotosintéticos; así también, es el agua, la que representa la mayor parte del peso fresco de las plantas.

La economía del agua en las plantas se encuentra regulada por pares de células epidérmicas especializadas llamadas "estomas".

Los estomas (Esau, 1959) son aberturas en la epidermis rodeadas por dos células oclusivas, las cuales mediante cambios de forma regulan el tamaño de la abertura, generalmente se encuentran células adyacentes (dos o más) asociadas funcionalmente a las células oclusivas y son las llamadas células adjuntas o acompañantes que se distinguen por su morfología de las otras células epidérmicas. Aunque no siempre las células adjuntas son diferentes en forma a las demás células epidérmicas, si lo son en cuanto a su fisiología (Meidner y Mansfield 1968).

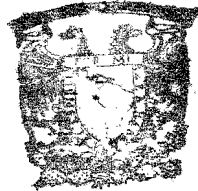
A través de los estomas una gran cantidad del agua absorbida se pierde en forma de vapor debido a la transpiración, la cual es afectada por factores externos e internos.

Esta pérdida de agua se ha considerado como un mal necesario por la relación que existe entre los estomas y la fijación del CO_2 para la fotosíntesis (Sutcliffe, 1968), es decir, que los estomas son necesarios como vía de entrada del CO_2 para la fotosíntesis, pero que a través de esta abertura se pierde una considerable cantidad de agua, pero tienen la particularidad de formar parte en la continuidad de las columnas de agua, establecidas desde la raíz hasta las hojas.

En el caso de Zea mays (Miller, 1938) un 98% del agua absorbida es transpirada y sólo el 2% es utilizada en la fotosíntesis. En esta especie se han realizado una gran cantidad de estudios en diferentes aspectos

tos: taxonómicos, genéticos, fisiológicos, anatómicos, bioquímicos, etc.

Debido a las múltiples inquietudes que existen en relación con la pérdida de agua y las estructuras a través de las cuales se lleva a cabo dicha pérdida (hidátodos, lenticelas, estomas) se estudiará algunos aspectos en relación a los estomas, por ser éstos los más importantes en el fenómeno de transpiración.



BIBLIOTECA
CENTRO DE ECOLOGIA

II.- OBJETIVOS

Este trabajo tiene como finalidad analizar algunos aspectos fisiológicos, anatómicos y taxonómicos en Zea mays:

- a).- El crecimiento de la primera hoja con lámina en plántulas de maíz.
- b).- La ontogenia de los estomas en la misma hoja.
- c).- Se investigará si hay un tipo de distribución de estomas en la lámina de la primera hoja de plántulas de cuatro razas de maíz.
- d).- Se tratará de dilucidar si pueden o no considerarse como un carácter taxonómico la frecuencia estomática, la frecuencia de células epidérmicas y el índice estomático.
- e).- De acuerdo a los resultados se tratará de analizar que relaciones pueden existir con los tipos de maíz resistentes a la sequía.

III.- REVISION DE LITERATURA

1.- ESTUDIOS SOBRE LAS CARACTERISTICAS Y TIPOS DE ESTOMAS.

De las características epidérmicas de las plantas vasculares, entre ellas "los estomas", se han realizado un gran número de investigaciones, las primeras se hicieron en 1784 por Hedwing (citado por - Porterfield, 1936) quien observó y describió el complejo estomático en la epidermis de Avena fatua.

Al hacer una revisión de los grupos filogenéticos en los vegetales, encontramos que el primero donde se presentan los estomas es el de los musgos (Musci). En este grupo se ha visto que pueden diferenciarse estadísticamente por medio de estas estructuras, especies y quizá géneros según Lindsay y Finocchio (1970).

Se observa que en los que están presentes existe una gran variación de los estomas en los diferentes grupos taxonómicos. Es decir, que existe una amplia gama en tipos de estomas y consecuentemente variada terminología.

Esta variación está dada por: el número de células adjuntas; la posición de éstas células respecto a las células oclusivas; la orientación de las paredes de las células adjuntas al eje longitudinal del poro estomático y el origen de las células oclusivas y adjuntas.

a).- TIPOS DE ESTOMAS DE ACUERDO A SU ORIGEN.

En base a la clasificación de tipos de estomas presentado por Van Cotthem (1970) se puede agrupar la amplia gama de estomas, tomando en cuenta el origen de las células que lo forman, en tres tipos: Mesógeno, Perígeno y Mesoperígeno.

Payne (1970) define cada uno de estos términos como sigue:

Mesógeno: Cuando una célula inicial o meristemoide presenta divisiones sucesivas para formar las células adjuntas y la última división da origen a las dos células oclusivas.

Perígeno: Cuando la célula inicial o meristemoide se divide una sola vez para formar las células oclusivas, y puede o no haber células adjuntas originadas de células laterales. Dentro de este tipo se puede encontrar que una célula inicial sea la célula madre de las oclusivas y que de una o varias divisiones de las células laterales se formen dos o más células adjuntas.

Mesoperígeno: Es la combinación de los dos anteriores, en donde la célula inicial puede dividirse una vez y dar origen a una célula adjunta y a la inicial de las células oclusivas, y otras células epidérmicas servir como células adjuntas.

Han sido numerosas las investigaciones respecto al desarrollo y configuración madura de los estomas en gran cantidad de especies de las plantas vasculares.

Así por ejemplo: Inamdar (1970) indica que Equisetum presenta estomas de origen mesógeno; Psilotum, Selaginella, Lycopodium, Phylloglossum, Isoetes, Salvinia y Ophioglossum, presentan estomas de origen mesoperígeno. En gimnospermas Meidner y Mansfield (1968) reportan estomas de origen perígeno y mesoperígeno.

Roth (1970), indica que para angiospermas hay dos tipos de estomas, los de origen mesógeno que se encuentran principalmente en las dicotiledóneas y que divide en cuatro subtipos: espiral, transversal, lateral e irregular. El tipo perígeno encontrado sobre todo en monocotiledóneas (Gramíneas, Palmae, Marantaceae, Mussaceae) dividido en cuatro subtipos:

Saccharum, Pariana, Rhoeo y el actinocítico de las dicotiledóneas.

Algunos tipos de estomas han servido para identificar grupos taxonómicos, como lo reporta Metcalfe y Chalk (1950) en dicotiledóneas, Payne (1970) a nivel de familias y órdenes de dicotiledóneas y Van Cotthem (1968) para helechos.

Asimismo han sido la base para estudios más detallados sobre la ontogenia de los mismos, y para establecer relaciones filogenéticas, a nivel de familias, géneros, especies, e interpretaciones evolutivas afines o paralelas en varios grupos.

Stebbins y Khush (1961), consideran como más primitivos a los tipos de estomas con mayor número de células adjuntas, de acuerdo con las observaciones en monocotiledóneas, en donde presentan estomas perígenos, comenzando filogenéticamente con cuatro o más células adjuntas, se van reduciendo a cuatro, dos, cero. Puesto que se considera al tipo perígeno como más evolucionando, podría considerarse a las monocotiledóneas como derivadas de las dicotiledóneas, no solo por estomas, sino por características morfológicas de mayor peso.

b).-- DE ACUERDO A LA FORMA DE LAS CELULAS OCLUSIVAS.

Se presentan dos tipos de estomas (Meidner y Mansfield, 1968):

- 1.-- Los de forma elíptica o reniforme que son los más comunes, de vista paradermal cada una de las células oclusivas tiene el aspecto o forma de una semilla de frijol.
- 2.-- Los de tipo gramináceo, característicos de muchos miembros de las gramíneas y ciperáceas, en donde los extremos de cada célula oclusiva son abultados (en forma de clava).

2.-- DESCRIPCIÓN DEL ESTOMA DE TIPO GRAMINACEO.

Los autores citados por Brown y Johnson (1962) coinciden en la estructura o configuración del estoma, que es característico de la familia

Gramineae, el cual está formado por dos células oclusivas y dos células adjuntas (Fig. 1).

Las células oclusivas presentan un abultamiento en sus extremos y una estrechez en la parte media. La pared es bastante engrosada en la parte media de cada célula y delgada en los extremos.

El citoplasma y el núcleo se encuentran como dos masas en los extremos, unidos por un filamento que atravieza por el estrecho lumen.

Las células adjuntas son de igual longitud que las células oclusivas, de forma más o menos triangular vistas en un plano paradernal y de paredes delgadas.

Las células adjuntas y las oclusivas se diferencian de las demás células epidérmicas, no sólo por su forma sino por su fisiología. Es decir, las células adjuntas se encuentran involucradas en el mecanismo de apertura y cierre estomático, ya que el contenido de almidón en las células oclusivas disminuye cuando el estoma está abierto y aumenta el contenido del mismo en las células adjuntas (Meidner y Mansfield, 1968).

En relación al contenido de las células adyacentes en el caso de Vicia faba, Fischer (1971) ha encontrado que la concentración de potasio (K) en las células oclusivas es de 300mM y en las adyacentes (que no son diferentes morfológicamente de las demás epidérmicas normales) al estoma es de 23mM, observando una relación directa entre la concentración de K en las células oclusivas y la apertura estomática. Basándose en sus observaciones indica que probablemente no existan conexiones protoplásmáticas entre las células adyacentes y las células oclusivas y hace mención de un mecanismo para explicar la presencia de K en las células oclusivas.

Sin embargo Srivastava y Singh (1972) mencionan la existencia de plasmodesmos que conectan a las células epidérmicas con las células del mesófilo, esto nos indica que probablemente si haya comunicación por medio de plasmodesmos entre las células oclusivas y las células epidérmicas adyacentes a ellas, sean o no diferentes morfológicamente ya que se considera que existe una continuidad funcional en toda la planta por medio del sistema de simplasto.

Hasta ahora el campo de la fisiología de los estomas es amplio y complicado y existen diferentes opiniones y teorías acerca del funcionamiento de ellos.

3.- TERMINOLOGIA.

Aunque el término "estoma", significa boca, poro u oficio, es conveniente (Esau, 1959; Payne, 1970) aplicar el término "estoma" a la unidad completa de: células oclusivas, poro estomático y células adjuntas si están presentes.

Cuando se habla de densidad o frecuencia estomática, o de distribución en los órganos de las plantas se utiliza el término estoma. Por otra parte se utilizan los términos aparato estomático o complejo estomático (Campbell 1881, tomado de Esau 1959; Stebbins y Khush, 1961; Kaufman et al 1970) para indicar el desarrollo del estoma, o para hacer énfasis en su compleja configuración cuando presenta varias células adjuntas.

4.- ESTUDIOS SOBRE DESARROLLO Y ULTRAESTRUCTURA DEL COMPLEJO ESTOMATICO.

Porterfield (1937) en su estudio de epidermis de bambú (Bambusa) hace mención de las primeras investigaciones que se han llevado a cabo sobre desarrollo de estomas:

Después de haber sido observado el complejo estomático por Hedwing en 1784, Treviranus en 1820 fué el primero en delinear las células epidérmicas comunes para pastos, aunque su observación no fué del todo correcta.

Strasburger en 1866 investigó respecto al origen de las dos formas de células que integran el complejo estomático, concluyendo que las células adjuntas se originaban de hileras contiguas a las células oclusivas. Esto fué corroborado por Pfitzer en 1870. Dos años más tarde surgió una controversia a lo establecido por Strasburger, ya que Duval Jouvé en 1872 en su estudio de Galilea mucronata afirmó que el complejo

estomático se formaba por dos divisiones sucesivas de una célula madre promordial.

Para esta afirmación se basaba en la posición de las células adjuntas en el estado adulto o maduro del estoma, las cuales no formaban parte de las hileras laterales de células.

Sin embargo, Debary en 1884 reafirmó lo establecido en 1866 y añadió que los estomas no se formaban todos a un tiempo.

En estudios posteriores sobre el desarrollo, Reinhardt en 1879 estableció la teoría de la "presión interna" en la cual indicó la formación del poro estomático como el resultado de una gran tensión desarrollada en el crecimiento del mesófilo a través de la acumulación de los gases en los espacios aéreos, que resultaba en la separación de las paredes de las células oclusivas.

Campbell en 1881 estudió el desarrollo del complejo estomático en Tradescantia y Zea encontró que la diferencia residía en el número de células adjuntas polares que se formaban. Tradescantia presentó dos células adjuntas laterales y dos adjuntas polares, en tanto que en Zea solo se encontró una célula adjunta a cada lado de las oclusivas.

Schwendener en 1899, (citado por Flint y Moreland, 1946) describió las diversas formas de estomas en pastos y juncos, haciendo énfasis sobre la forma y fisiología de las células oclusivas sin hacer referencia al contenido nuclear.

Años más tarde, las características epidérmicas fueron consideradas de valor taxonómico y Prat en 1932, (visto en Prat, 1948) agrupó a las gramíneas en subfamilias y tribus en base a los tipos de pelos epidérmicos, células silíceas y suberosas sin considerar estomas.

Porterfield (1937), llevó a cabo un estudio bastante completo sobre el desarrollo de estomas, describiendo los estados tempranos del complejo estomático en bambú. En caña de azúcar, Flint y Moreland, (1946) indicaron que, simultáneamente al engrosamiento de las paredes en la parte central de las células oclusivas, el material cromático se separa en

dos nudos o acumulamientos unidos por un fino cordón del material nuclear.

Stebbins y Jain, (1960) estudian las diferencias morfológicas en varias especies de monocotiledóneas. Stebbins y Khush (1961), realizan un estudio bastante amplio en la organización del complejo estomático en 49 familias de monocotiledóneas y definen que hay cuatro grandes categorías de estomas y que un tipo de estomas puede ser constante en una familia o a menudo en un género.

Stebbins y Shah (1960), en estudios más amplios sobre la ontogenia de estomas principalmente en hojas de monocotiledóneas, establecen cuatro estadios en la formación del complejo estomático.

Kaufman et al (1970) reafirman los estudios de Stebbins y Shah (1960) dividiendo el desarrollo del estoma en cuatro fases o estadios:

- 1.- El primer estadio es de una sola célula, es decir, cuando ya está formada la futura célula madre de las oclusivas.
- 2.- El segundo estadio es cuando se ha formado una célula adjunta.
- 3.- El tercer estadio es cuando tiene formadas sus dos células adjuntas.
- 4.- El cuarto estadio cuando la célula madre de las oclusivas se divide para formar el complejo estomático completo.

Varios autores citados por Kaufman et al (1970) ha observado que después de una división asimétrica en las células del meristemo intercalar en la base de la lámina de la hoja de monocotiledóneas, la célula pequeña puede dar origen a: tricomas, estomas, o células cortas de sílice o súber.

Cuando la célula corta es la futura célula madre de las células oclusivas, se ha visto que hay una inducción por parte de esta célula a las células laterales largas (Kaufman et al 1970). Estos autores han indicado también la presencia de microtúbulos en las células epidérmicas lar-

gas, indicando que posiblemente haya un mensajero hormonal de la célula corta que actúe como promotor de la migración nuclear y de la aparición de los microtúbulos.

Srivastava y Singh (1972) observaron que, junto con la migración del núcleo de la célula lateral hacia la célula corta, hay también una migración de organelos como mitocondrias, plastidios, y retículo endoplásmico circundando al material nuclear. Reportan también que los microtúbulos se disponen en forma paralela a la pared y corresponden a la posición de la futura pared al dividirse la célula larga.

Cuando se han formado las células adjuntas, se divide la célula madre de las oclusivas, y se han encontrado también microtúbulos orientados paralelamente al eje mayor a lo largo de la pared común de las células oclusivas donde se va a engrosar la pared. Se supone que estos microtúbulos están implicados con los precursores de los polisacáridos dentro de la pared celular (Kaufman et al 1970).

El poro estomático se forma por un engrosamiento en la parte media de la pared común (Srivastava y Singh, 1972). Este engrosamiento es en forma lenticular y visto al microscopio electrónico tiene una menor densidad que el resto de la pared. En esta parte translúcida se produce una separación de la pared para formar el poro estomático.

Después de que se ha formado el poro, sigue por algún tiempo el engrosamiento no uniforme en la pared. Se encuentran partes delgadas en la parte que colinda con las células adjuntas y en los extremos de cada célula.

Por otro lado, se han encontrado poros en la pared común entre los extremos de las células oclusivas, los cuales aparecen durante la formación de la misma, así como un gradiente en el grosor que va de la parte media hacia los extremos.

Las células oclusivas están cutinizadas y cubiertas por una cutícula (Esau, 1959) desde la parte más externa hasta la cámara subestomática. En su parte más externa, las células oclusivas presentan una

capa de cutina, la cual puede presentar bordes y salientes llamadas membranas. Se han utilizado estos acumulamientos de cutina como una característica taxonómica en el estudio de las células oclusivas de gramíneas (Brown y Johnson, 1962).

Los engrosamientos de la pared son altamente birrefringentes en luz polarizada y probablemente tengan gran cantidad de celulosa, aunque adicionalmente se encuentra lignina (Srivastava y Singh, 1972). Los componentes de la lámina media y la pared primaria son celulosa y pectina.

Las células adjuntas presentan sus paredes tangenciales algo engrosadas y ligeramente lignificadas (Srivastava y Singh, 1972).

En las células oclusivas, se encuentra gran número de dictiosomas y sus vesículas asociadas, durante la deposición de la pared. Cuando este proceso termina, son unos pocos solamente. Las mitocondrias están presentes durante la diferenciación y la madurez, y presentan crestas bien desarrolladas. Los plastidios aumentan en tamaño considerablemente, presentando lamelas internas, algunos grana rudimentarios, granos de almidón y numerosos gránulos osmiofílicos. El núcleo adopta la forma de la célula. La cromatina se va condensando durante el desarrollo de las células oclusivas, y esta condensación se traduce en una inactividad del ADN. El retículo endoplásmico y los ribosomas no muestran características especiales. Las vacuolas son numerosas pero pequeñas y pueden tener algunas inclusiones.

En las células adjuntas, los dictiosomas, ribosomas y cisternas cortas del retículo endoplásmico no presentan características especiales. Las mitocondrias son numerosas en las células adjuntas jóvenes. Los plastidios son pequeños con pocas lamelas internas y carecen de grana y almidón; ocasionalmente se presentan granos de almidón en la fase joven de la célula. El núcleo es ovoide y se encuentra desplazado hacia la periferia por la presencia de una vacuola central. En la vacuola se encuentran numerosas partículas de diferentes tamaños, que posiblemente sean partículas

de silicatos de sodio y potasio. Se ha encontrado (Srivastava y Singh, 1972), que las células adjuntas están comunicadas con las células epidérmicas normales y del mesófilo por medio de plasmodesmos.

5.- ESTUDIOS EN ZEA MAYS.

Los estudios realizados en esta especie han sido numerosos en diferentes aspectos. Se mencionarán aquí los relacionados con a).- el desarrollo del complejo estomático, b).- aspectos taxonómicos, c).- la distribución y frecuencia de estomas y d).- índice estomático.

a).- El desarrollo del complejo estomático.

El primer trabajo que se hizo en Zea para observar el complejo estomático fué el de Pfitzer 1870, (citado por Porterfield, 1937) quien corroboró lo establecido por Strasburger en 1866, sobre el origen de las células adjuntas.

Campbell en 1881 (citado por Porterfield, 1937) realizó el estudio comparativo del desarrollo del complejo estomático en Zea y Tradescantia, observando que la diferencia radicaba sólo en el número de células adjuntas.

Prat (1948) hizo un estudio sobre las características epidérmicas generales y describió los diferentes tipos de células por medio de dermogramas, es decir, diagramas de la distribución de los tipos de células estudiadas en la lámina de la hoja, sin incluir distribución de estomas.

Kiesselbach (1949) estudió la formación y desarrollo de la hoja y desarrollo de los estomas de Zea. En relación con el desarrollo de la lámina de la hoja Randolph y Abbe (1939) observaron el patrón de desarrollo de la lámina en maíces diploides y tetraploides. La relación entre el ápice del tallo y el patrón de crecimiento de la lámina fue estudiado por Randolph (1932).

Stebbins y Shah (1960) hicieron un estudio comparativo del desarrollo estomático en varias gramíneas incluyendo a Zea. Observaron las irregularidades que se presentan en la formación del complejo estomático.

Todos estos estudios han sido la base para los más recientes y detallados como el de Srivastava y Singh (1972), sobre las estructuras estomáticas en hojas de maíz a nivel de microscopio electrónico - (véase inciso 4).

b).- Aspectos Taxonómicos.

Metcalfe (1960) en su tratado de gramíneas, menciona las características de las células epidérmicas de la hoja agrupando a las gramíneas dentro de dos tipos: Festucoide y Panicoide comprendiendo estos tipos a las diferentes tribus.

En la epidermis de la hoja hace separación por zonas según el tipo de células que la forman, las zonas son las siguientes: zona costal, la cual comprende a las células epidérmicas que se encuentran sobre las venas; zona intercostal comprendiendo las células entre dos venas.

En cuanto a los tipos de células indica que hay: células largas, células cortas, estomas, células interestomáticas y apéndices dermales.

Las células largas que se encuentran en las zonas intercostales y las interestomáticas presentan paredes sinuosas, y en menor grado las de las zonas costales, en éstas últimas se presentan los cuerpos de sílice (células cortas), los cuales se pueden encontrar en pares o en hileras cortas o largas, teniendo forma de cruz la cual es típica para la tribu Andropogoneae y Maydeae.

En cuanto a los estomas, dentro de las gramíneas se encuentran diferentes tipos respecto a la forma de las células adjuntas, siendo en Zea mays, de forma triangular típicamente.

Las otras formas de células adjuntas en gramíneas son: casi paralelas y las células oclusivas, en forma de domo o de forma variable.

Se basa en las estructuras de la hoja para la taxonomía de los pastos, haciendo una descripción de cada uno de los géneros por orden alfabético.

c).- Distribución y frecuencia de estomas.

En cuanto a la distribución y frecuencia de estomas, Wilson y Loomis (1962) mencionan que en Zea mays se encuentran 60.4 estomas/ mm^2 en la superficie adaxial y 99.2 en la abaxial.

Baron (1967) registra en la superficie adaxial 52 estomas/ mm^2 y 68 estomas/ mm^2 en la superficie abaxial.

Meidner y Mansfield (1968) indican que en la superficie adaxial se encuentran de 77-108 estomas/ mm^2 y en la superficie abaxial de 82-118 estomas/ mm^2 .

En los reportes de frecuencia mencionados, los datos son diferentes probablemente porque no se ha utilizado el mismo material. No se mencionó en que tipo de maíz se ha trabajado, ni la posición de la hoja en el tallo.

Heichel (1971) reporta la frecuencia de estomas en dos tipos de maíz, en Wf9 : 95 estomas/ mm^{-2} en la superficie adaxial, 131 estomas/ mm^{-2} en la superficie abaxial, en P a 83: 73 estomas/ mm^{-2} en la superficie adaxial y 99 estomas/ mm^{-2} en la superficie abaxial.

Todos los autores coinciden en que la frecuencia de la superficie adaxial(haz) es menor que en la superficie abaxial (envés).

Se ha encontrado que la frecuencia estomática es menor en la base de la lámina de la hoja y mayor cerca del ápice y que varía de acuerdo a la inserción de la hoja en el tallo (Meidner y Mansfield 1968).

d).- Índice estomático.

En cuanto al índice estomático, establecido por Salisbury 1928 (citado en Meidner y Mansfield 1968) el cual expresa la relación en por ciento del número de estomas por el número de células epidérmicas por unidad de área, se dice tiende a permanecer relativamente constante para una especie dada. Este aspecto se ha revisado en Zea mays, por lo que en el presente estudio se tratará de investigar si existe o no un índice estomático particular para cada una de las razas.

Mediante la fórmula:

$$I.E = \frac{s}{s + e} \times 100$$

en donde:

I.E = Índice estomático

s = número de estomas por unidad de área

e = número de células epidérmicas (no estomáticas) por
unida de área

IV.- MATERIALES Y METODOS.

A.- MATERIAL EMPLEADO.

Para el desarrollo del presente trabajo se utilizaron las siguientes razas de maíz: *

- 1.- Palomero Toluqueño (Méx. 5.16-18)
- 2.- Jala (Orig. 68 Nay. 208)
- 3.- Apachito (Orig. 68 Chih. 206)
- 4.- Tabloncillo (subraza: Tabloncillo Perla) (X-14726, Sin. 11)

El material se escogió por sus características contrastantes, cuadro 1.

De cada raza se sembraron cincuenta granos en charolas con vermiculita los cuales se desarrollaron bajo las siguientes condiciones: temperatura de 25-26°C, fotoperíodo de 12 hs. luz, 12 hs. oscuridad diariamente, utilizando luz incandescente (6 lámparas de 69W) y luz fluorescente (15 lámparas de 1.15 m. de long. de 39 W) correspondiendo a una intensidad de 4000 luxes aproximadamente y agregando agua destilada de tal manera de mantener la vermiculita siempre húmeda.

B.- OBTENCION DEL MATERIAL PARA OBSERVACION DEL CRECIMIENTO DE LA HOJA.

Para corroborar el crecimiento y diferenciación basípeta de la hoja en las gramíneas, se probaron varios métodos en estudios preliminares. Debido a que se pudo marcar la hoja estando aún muy joven y el poco daño causado a la misma, se optó por el siguiente.

* Las razas indicadas con los números 2,3,4 fueron proporcionadas de las colecciones existentes en el Banco de Germoplasma en el Depto. de Maíz y Sorgo del I.N.I.A. Chapingo, Méx. La raza indicada con el número 1, fué proporcionada de las colectas del Ing. E. Hernández X, en la Rama de Botánica del C.P. de la E.N.A. Se agradece al Ing. E. Hernández X. y al Ing. Abel Muñoz O, por el material proporcionado.

Cuando el coleóptilo había llegado a su máximo desarrollo y la primera hoja con lámina no había emergido aún, se envolvió el coleóptilo con papel milimétrico y se marcó con un alfiler entomológico cada dos milímetros de la base del coleóptilo al ápice del mismo. Las marcas que se hicieron sobre el coleóptilo resultaron hasta las hojas más internas (Figs. 2 y 3).

De los 50 granos sembrado de cada raza, se marcaron de esta manera 5 plántulas de cada raza a las 96 h después de haber sembrado, así también a partir de este momento fueron muestreadas cinco plántulas de cada raza para obtener el área de la lámina en los siguientes periodos: 120, 144, 192 y 264 h. (Fig. 7).

C.- OBTENCION DE LA MUESTRA PARA OBSERVACION MICROSCOPICA.

Para observar la distribución y desarrollo de los estomas se probaron varios métodos. Entre ellos el desprendimiento directo de la epidermis, no fué adecuado por obtenerse solo pequeños fragmentos y no toda la lámina. En otro de los métodos se aplicó colodión líquido a la superficie de la lámina y después de haberse secado se levantó la película formada para observarla al microscópio, este método tuvo la desventaja de que durante el secado la película sufría encogimiento.

El método siguiente se seleccionó por no presentar encogimiento:

- 1.- El material utilizado fué barniz transparente (hecho a base de: nitrocelulosa, etanol, dibutiloftalato y acetato de etilo).
- 2.- Se desprendió de la plántula la primera hoja con lámina para aplicar con un pincel de pelo de camello, una delgada capa de barniz, en una sola aplicación, sobre la superficie adaxial de la lámina tratando de lograr una capa uniforme.
- 3.- Al secarse la capa de barniz se levantó, utilizando una aguja de disección.

4.- Se colocó la película entre un porta y cubre-objetos, quedando en contacto con el cubre-objetos la superficie que estuvo en contacto con la epidermis. Se selló la preparación con el mismo barniz para uñas.

5.- En forma similar se aplicó el barniz a la superficie abaxial de la misma lámina, obteniendo así la impresión o réplica de la epidermis en las dos superficies de cada hoja.

Una vez obtenidas de esta manera las preparaciones, se efectuaron los estudios microscópicos adaptando un microproyector. Se utilizó una reglilla micrométrica, para marcar un cuadrado de 1 mm^2 utilizando una escala de 165 X. En este cuadrado se procedió a contar el número de estomas y de células epidérmicas. Teniendo estos datos se aplicó la fórmula para obtener el índice estomático.

D.- PROCEDIMIENTO PARA EL ESTUDIO DE ONTOGENIA DE ESTOMAS.

De las preparaciones obtenidas de acuerdo al inciso C se observó el desarrollo de los estomas en las primeras muestras que se tomaron, las observaciones se hicieron de la base de la lámina hacia el ápice de la misma (Fig. 4A y 4B).

E.- PROCEDIMIENTO PARA EL ESTUDIO DE DISTRIBUCION Y FRECUENCIA ESTOMATICA Y DE CELULAS EPIDERMICAS.

Las observaciones se realizaron en la primera hoja con lámina, cuando esta había alcanzado su máximo desarrollo, cuando la lígula estuvo expuesta (Sharman 1942, citado en Milthorpe e Ivins 1966). Los muestreos se hicieron 48 h después de que la lígula había sido expuesta.

De cada raza se hicieron observaciones de las dos superficies de la lámina (adaxial y abaxial). Debido a que se encontró una similitud en la frecuencia estomática en las mitades situadas a cada lado de la nervadura central de la lámina en las dos superficies (adaxial y abaxial),

los presentes estudios se realizaron en ambas superficies pero solamente de una mitad de la lámina situada a un lado de la nervadura central y en tres regiones: (Fig. 5).

BASE (B).-- En la región cerca de la base de la lámina.

b.-- región adyacente al borde (B-b)

c.-- región central entre el borde y la nervadura
(B-c)

n.-- región adyacente a la nervadura (B-n)

CENTRO (C).-- En la región central de la lámina.

b.-- región adyacente al borde (C-b)

c.-- región central entre el borde y la nervadura
(C-c)

n.-- región adyacente a la nervadura (C-n)

APICE (A).-- En la región cercana al ápice de la lámina.

b.-- región adyacente al borde (A-b)

c.-- región central entre el borde y la nervadura
(A-c)

n.-- región adyacente a la nervadura (A-n)

En estas nueve posiciones, se hicieron conteos de:

1.-- Número de estomas por milímetro cuadrado.

2.-- Número de células epidérmicas normales por milímetro cuadrado.

3.-- Se calculó el índice estomático (estomas por 100 células)

Los datos de cada variable (frecuencia estomática, frecuencia de células epidérmicas e índice estomático) se procesaron estadísticamente para obtener el análisis de varianza. *

Para la determinación de los valores respecto a su significancia estadística se utilizó la prueba de F y la prueba de Dúncan, tomando

* Los datos fueron procesados en el Centro de Estadística y Cálculo del Colegio de Postgraduados de la Escuela Nacional de Agricultura.

el nivel de 5% de probabilidad.

Las variables a analizar fueron:

- 1.- frecuencia estomática.
- 2.- frecuencia de células epidérmicas (no estomáticas)
- 3.- índice estomático.

Se analizó cada una de estas variables entre RAZAS (R), entre SUPERFICIES (ADAXIAL Y ABAXIAL) (S), entre POSICIONES (P) y las siguientes interacciones $R \times S$; $P \times R$; $P \times S$; $P \times S \times R$.

V.- RESULTADOS.

A.- CRECIMIENTO DE LA HOJA.

Como en las gramíneas el meristemo intercalar está situado en la base de la hoja, se observó que, según lo establecido por Soper y Mitchell 1956 (citado por Milthorpe e Ivins, 1966) la hoja madura del ápice a la base, por lo tanto la vaina es la última en formarse y madurar. Esto se ha corroborado en este trabajo por la separación que sufrieron las marcas hechas cuando la hoja era joven (Fig. 2).

Se observó que la zona del ápice no creció después de que se marcó. Hacia la base de la lámina fue aumentando la distancia de separación de las perforaciones, no quedando ninguna marca en la vaina por haber estado aún muy poco desarrollada en el momento de hacer las marcas. En la figura 6 se observa el incremento en cada una de las zonas.

En la fig. 7 se muestran las plántulas en los estados de desarrollo en los momentos de tomar las muestras en donde a las 264 h había alcanzado su máximo desarrollo la primera hoja. En Apachito y Jala se obtuvieron las áreas de la lámina en cada estado para medir el crecimiento. La curva de crecimiento (Fig. 9) muestra que Jala tiene mayor área y sugiere que crece más rápidamente que Apachito, basado en la pendiente que presentan las curvas.

Las áreas de las láminas maduras en las cuatro razas tienen el siguiente orden decreciente: Jala, Tabloncillo Perla, Apachito, Palomero Toluqueño (Fig. 8), el cual no es acorde con las características de altura de la planta, número, longitud y anchura de las hojas (cuadro 1) excepto para Jala que es la de mayor desarrollo.

B.- ONTOGENIA DE ESTOMAS.

En las muestras tomadas a las 96 y 120 h se observaron las diferentes fases del desarrollo, localizándose cerca de la base de la lámina los primeros estadios y cerca del ápice, estomas completamente formados (Fig. 4A y 4B). En dichas muestras la hoja no había emergido del coleóptilo en las 96 h, pero si hubo inicio de la emergencia a las 120 h.

En la figura 4A-a, que corresponde a la zona meristemática, se notan hileras de células pequeñas en relación con las hileras adyacentes, las hileras de células pequeñas corresponden a las que formarán estomas, en dichas hileras se observa el resultado de la división asimétrica (Fig. 4A-b) donde cada célula pequeña (célula corta) dará origen a las células oclusivas, es decir, cada célula corta es una célula madre de las células oclusivas (CMO).

Después de la división asimétrica sigue un aumento en tamaño tanto de las células epidérmicas ordinarias como de las células que forman hileras donde se encuentran las CMO, en la fig. 4A-c se nota que las células de las hileras laterales a las CMO forman una proyección de las células epidérmicas largas laterales hacia las CMO, en la fig. 4A-d se ha dividido la célula larga lateral para formar una célula adjunta, sucede esto a ambos lados de la CMO aunque no al mismo tiempo, ya que se notan más definidas de un lado.

Todas las células siguen aumentando en tamaño. Cuando se han formado las dos células adjuntas (originadas de las células largas laterales) o sea cuando el complejo estomático está formado por tres células, la célula madre de las oclusivas se divide, estando así el complejo estomático completo (Fig. 4B-e). Dichas células continúan aumentando de tamaño hasta alcanzar su máximo desarrollo (Fig. 4B-f). Este complejo estomático corresponde a una muestra de 264 h. después de sembrado, es decir de una hoja completamente madura.

C.- DISTRIBUCION DE ESTOMAS.

En la Fig. 5 se muestran las posiciones que fueron revisadas en las variables a analizar (frecuencia estomática, frecuencia de células epidérmicas e índice estomático). Tomando en cuenta las dos superficies de la lámina. Estas zonas se eligieron por la revisión previa que se hizo de la frecuencia estomática en hojas jóvenes, concretamente, de 96 h después de sembrado, en ellas se encontró (Fig. 10) que cerca del ápice de la lámina se presenta un menor número de estomas por unidad de área, el cual aumenta hacia la base.

Esto se debe a que la hoja no estaba madura aún y los estomas y las demás células no habían alcanzado su máximo desarrollo, además las células de la región meristemática son aún de menor tamaño.

Por lo tanto la revisión de las características a analizar, se llevó a cabo en hojas completamente maduras, esta madurez se alcanzó antes de las 264 h, pero para poder comparar entre las diferentes razas y tener mayor seguridad, se utilizaron muestras de 264 h después de sembrado.

En el apéndice se incluyen los cuadros con los resultados del análisis estadístico.

En las hojas maduras de las cuatro razas estudiadas se encontró la misma distribución de los estomas, basándose en su frecuencia, esto es, hubo en todas ellas, una baja frecuencia estomática en la base de la lámina, dicha frecuencia va en aumento hacia el ápice, observándose diferencias notorias en las diferentes posiciones de la lámina.

D.- ANALISIS DE VARIANZA EN LA FRECUENCIA ESTOMATICA.

De acuerdo al análisis de varianza en la frecuencia estomática (cuadro 2) se encontró diferencias significativas entre razas y diferencias altamente significativas en superficies, entre posiciones, y en las interacciones Posiciones x Razas (P x R) y Posiciones x Superficies (P x S).

Razas.

De acuerdo con la significancia estadística en frecuencia estomática pueden establecerse dos grupos uno formado por Tabloncillo Perla, Palomero Toluqueño y Jala con mayor frecuencia estomática, y el otro de menor frecuencia formado por Apachito (cuadro 3).

Superficies.

Se observó la mayor frecuencia de estomas en la superficie abaxial (envés), y la relación superficies abaxial-adaxial fué de 1.4: 1 (cuadro 4).

Interacción Razas x Superficies.

No se encontraron diferencias significativas, lo que indica que cualquiera de estas razas presentan en el mismo grado, mayor número de estomas por unidad de área en la superficie abaxial comparado con la superficie adaxial.

Posiciones.

Las diferencias observadas entre posiciones fueron altamente significativas. En el cuadro 5 se puede apreciar que el ápice presentó mayor número de estomas, la región central un número intermedio y la base presentó el menor número, así también se observa que el Borde, Nervadura y Centro no difieren estadísticamente.

Interacción Razas x Posiciones.

Esta interacción fué altamente significativa, (Fig. 11). Puede notarse que en las posiciones de la base y el centro las razas son más o menos estables en el número de estomas, en tanto que en el ápice se observa que la raza Palomero Toluqueño y la Apachito disminuyen su número de estomas al pasar de la posición Apice-borde a Apice-centro, en tanto que las razas Jala y Tabloncillo perla se mantienen bastante estables.

Interacción Posiciones x Superficies.

Se aprecia el efecto de esta interacción que fué altamente significativa. Se observa un paralelismo en el descenso de número de estomas en la superficie abaxial a la superficie adaxial en la región del ápice y ausencia de paralelismo en la región de la base. (Fig. 14).

Interacción Razas x Superficies x Posiciones.

Esta interacción no fué significativa, indicando con esto que la frecuencia estomática será en cualquiera de estas razas, siempre mayor en la superficie abaxial (envés) y en cuanto a las posiciones se presenta mayor frecuencia en el ápice y menor en la base de la lámina.

E.- ANALISIS DE VARIANZA DE LA FRECUENCIA DE CELULAS EPIDERMICAS.

Razas.

Se encontró diferencias significativas entre razas en esta variable, siendo diferente cada una de ellas, con un valor más alto en Palomero Toluqueño y menor en Apachito (cuadro 7).

Superficies.

La frecuencia de células en la superficie adaxial respecto a la abaxial no difieren estadísticamente (cuadro 8).

Interacción Razas x Superficies.

De acuerdo con el cuadro 10, se puede observar que las diferencias son significativas, obteniéndose tres grupos bien definidos en la superficie adaxial: a) Palomero Toluqueño, con alta frecuencia, b) Tabloncillo Perla y Jala, con frecuencia media, c) Apachito de menor frecuencia.

En la superficie abaxial, ocupan el mismo lugar en orden decreciente: a) Palomero Toluqueño con una mayor frecuencia de células, b) Tabloncillo Perla y Jala que no difieren entre ambos, c) Apachito con menor

frecuencia de células pero semejante a Jala, o no difiere de Jala. Comparado con la frecuencia estomática resulta diferente, es decir que en la frecuencia estomática cualquiera de las razas presentan en el mismo grado mayor de estomas por unidad de área en la superficie abaxial, en cambio la frecuencia de células epidérmicas sí es diferente según la raza y la superficie.

Interacción Razas x Posiciones.

Esta interacción resultó altamente significativa, observándose se que las posiciones situadas en la base, centro y ápice guardan una secuencia más o menos estable de mayor densidad de células en el borde disminuyendo hacia la nervadura. La excepción en Apachito fué ligeramente diferente, (Fig. 13) en el ápice de la posición a-b a a-n.

Interacción Posiciones x Superficies.

La interacción es altamente significativa (Fig. 14) se observa un paralelismo en algunas posiciones, en forma ascendente o descendente en relación de superficies adaxial a abaxial.

De las posiciones que se encuentran en la base B-c y B-n presentan menor frecuencia de células en la superficie adaxial y mayor frecuencia de células en la superficie abaxial. En B-b es mayor en la superficie adaxial y menor en la abaxial.

En las posiciones del centro en la superficie adaxial es mayor la frecuencia que en la superficie abaxial, siendo la posición C-b de mayor frecuencia que C-c y C-n.

En las posiciones del ápice A-c y A-n es menor la frecuencia de células en la superficie adaxial y mayor en la abaxial y en la posición A-b es mayor en la superficie adaxial y menor en la abaxial.

F.- ANALISIS DE VARIANZA DEL INDICE ESTOMATICO.

Se encuentran diferencias significativas entre Razas, entre superficies, entre posiciones y en posiciones x superficies (cuadro 11).

Razas.

Entre razas el índice estomático resulta ser altamente significativo, separándose en tres grupos: a).- Tabloncillo Perla (18.20), b).- Jala y Apachito (17.16 y 16.99), c).- Palomero Toluqueño (14.53), (cuadro 12) y menor en la superficie adaxial.

Superficies.

Se presenta un mayor índice estomático en la superficie abaxial (19.65) y menor en la superficie adaxial (13.79), siendo altamente significativa la diferencia entre superficies, (cuadro 13).

A nivel de superficies, el índice estomático es altamente significativo, debido a la relación de células epidérmicas y la frecuencia estomática, ya que no hubo diferencia significativa en frecuencia de células epidérmicas entre superficies pero si en la frecuencia estomática, en donde la frecuencia estomática es mayor en el envés y menor en el haz.

Posiciones.

Entre posiciones, solo se encontraron diferencias en dos de las nueve posiciones, siendo éstas las de menor índice estomático, (cuadro 14, esto es tomando en cuenta posiciones sin considerar razas ni superficies, tal vez aquí pudiera afirmarse lo que establece Salisbury, aunque a nivel de razas, ya que existen diferencias significativas, pero es pertinente un estudio con mayor número de razas, ya que en el presente estudio solo se revisaron cuatro.

Interacción Razas x Superficies.

No fué significativa estadísticamente, significa entonces que cualquier raza presenta un índice estomático mayor en la superficie abaxial.

Interacción Razas x Posiciones.

No presentaron diferencias significativas. Esto es que cualquiera

de las razas presenta el mismo índice estomático en cualquiera de las posiciones.

Interacción Posiciones x Superficies.

Se encontró diferencias significativas observándose un paralelismo en el descenso en el índice estomático de la superficie abaxial a la superficie adaxial en las tres regiones, (Fig. 15) y solo C-n se aparta del paralelismo.

VI.- DISCUSION DE LOS RESULTADOS Y CONCLUSIONES.

1.- Crecimiento.

En las primeras fases de desarrollo de la hoja de gramíneas cuando aproximadamente mide dos centímetros de longitud, o menos, se diferencia la lígula. Esta separa el meristemo intercalar en dos partes, una responsable del crecimiento de la lámina, y la otra del crecimiento de la vaina. La lámina de la hoja crece hasta que la lígula ha quedado expuesta, no así la vaina, la cual sigue creciendo y va haciendo emerger a la lámina (Milthorpe e Ivins, 1966), reafirmando en este estudio la diferenciación basípeta en la hoja de las gramíneas.

El crecimiento basípeta de la lámina de la hoja se presenta en las figuras 2 y 6.

Las marcas cercanas al ápice de la lámina no presentaron mayor distancia (de 2 mm) entre ellas en sentido longitud, debido a que esta zona ya no creció después de haber hecho las marcas, es decir, esa parte ya había alcanzado su máximo crecimiento, en cambio hacia la parte media y la base de la lámina se presentó mayor distancia entre las marcas, por tener aún estas zonas crecimiento después de haberse marcado.

Respecto al ritmo de crecimiento que se trataba de averiguar entre las razas contrastantes por el carácter precoz-tardío, al comparar las curvas de crecimiento obtenidas de las 2 razas, se vió que Jala creció en las primeras 120 h más rápidamente que Apachito, ya que la pendiente de la recta es menor en Jala, estabilizándose entre los 144 y 168 h en ambos.

Se pensaba que Apachito tuviera un desarrollo mas rápido por estar considerado como precoz, (55 días para la antesis) y Jala presentaba lentitud en su desarrollo por necesitar 134 días para la antesis.

Como puede verse no resulta así, en lo que respecta al desa-

rrollo de la primera hoja con láminas en el estado de plántula, probablemente la maduración o desarrollo de las siguientes hojas sea más lento, o bien que se manifiesten estas características en su medio natural de desarrollo, ya que son de diferente distribución (cuadro 1) geográfica y para este estudio se tuvieron en condiciones semejantes a las cuatro razas.

2.- Ontogenia de estomas.

En este trabajo se notó que aun estando la primera hoja dentro del coleoptilo (en las hojas jóvenes 96 h. después de sembrado) ya presentaban estomas completamente formados, los cuales se localizaron hacia el ápice de la lámina, esto es que los estomas maduran en relación con el crecimiento basípeto de la lámina en Zea mays.

Las fases de desarrollo observadas en los estomas están en acuerdo con lo reportado por Stebbins y Shah (1960) y Kaufman *et al* (1970), en cuanto a los estadios de una, dos, tres y cuatro células, la inducción de la célula madre de las oclusivas y la división asimétrica.

Stebbins y Shah revisaron el desarrollo del complejo estomático en varias gramíneas, incluyendo a Zea mays aunque no en particular, ya que trabajaron principalmente en Hordeum y Sorghum y Dactylis en donde se observaron que difieren los estomas en la forma de las células adjuntas, las cuales son en Hordeum y Dactylis de tipo Festucoide (alargadas) y en Zea y Sorghum de tipo Panicoides (en forma triangular), estas características son tomadas en cuenta por Metcalfe 1950, en la descripción taxonómica de las gramíneas.

Se evidencia lo indicado por Roth y Clausnitzer (1970) del origen perígeno de los estomas en gramíneas, aunque ya otros autores como Porterfield, 1937, Stebbins y Jain 1960, Stebbins y Khusch, 1961 y Stebbins Shah, habían observado el desarrollo del complejo estomático en gramíneas pero no se había indicado el termino Perígeno y fué Pant 1965, (citado en Payne 1970) quien utilizó dicha terminología. Posteriormente Van Cotthem

por un lado (1970) ha hecho una clasificación de los tipos de estomas, tomando en cuenta el número de células adjuntas, el tipo de estomas adulto y los tipos ontogenéticos, así también Roth y Clausnitzer han estudiado algunos de los tipos de desarrollo comparándolos con los tipos ya conocidos y coinciden con la clasificación (de Metcalfe y Chalk, 1950) de aparatos estomáticos adultos en dicotiledóneas y también en monocotiledóneas (Stebbins y Khush, 1961).

Por lo tanto en este trabajo se reafirma que el desarrollo del complejo estomático en gramíneas es de tipo PERIGENO.

3.- Distribución de estomas.

Se ha podido observar en este estudio que existe un patrón de distribución de estomas en la lámina de la hoja de maíz representado por una mayor frecuencia de estomas en el ápice de la lámina, la cual va disminuyendo hacia la base de la misma.

Existen tipos de distribución particulares para algunas especies por ejemplo en Triticum aestivum Teare y Peterson (1971) encontraron que la base de la lámina presenta mayor frecuencia estomática que el ápice. En Panicum antidotale Dobrenz et al (1969) no encontraron diferencia entre la base, centro y ápice de la lámina. Puede decirse que dentro de las gramíneas, no todas las especies presentan la misma distribución de estomas, aunque la diferenciación de la hoja sea basípeta.

4.- Frecuencia estomática.

De las razas aquí estudiadas Apachito presentó una menor frecuencia estomática. A este respecto podría suponerse que pudiera ser Apachito una raza resistente a la sequía por ser precoz y de baja frecuencia estomática, ya que de acuerdo con lo indicado por Dobrenz et al (1969) en los clones de panizo azul (Panicum antidotale), los de menor frecuencia estomática han resultado ser los tolerantes a la sequía. Así mismo González H. (1972) ha indicado que las líneas de maíz resistentes a la sequía

presentaron baja frecuencia estomática.

Haciendo una relación de las características climáticas de la región de distribución de cada una de las razas en estudio, con las características indicadas en el cuadro 1, observamos que Palomero Toluqueño y Apachito son mas o menos semejantes en sus caracteres de altitud pero las condiciones de precipitación media anual son diferentes (distribución geográfica de Apachito: Sierra Tarahumara de Chihuahua a la cual le corresponde una precipitación pluvial media anual de 400 mm. y un clima templado medio, en contraste con las características climáticas que corresponden a Palomero Toluqueño, Tabloncillo Perla y Jala, que son climas tropicales lluviosos y templado lluvioso, con una precipitación media anual de 800 a 1000 mm). Esto podría indicarnos algo acerca de la precocidad y la resistencia a la sequía para Apachito.

Respecto a la frecuencia estomática en las superficies adaxial y abaxial de la lámina se presenta lo siguiente: en las cuatro razas estudiadas, se obtuvo mayor frecuencia en la superficie abaxial (envés) y menor en la adaxial (haz), y que es lo indicado por varios investigadores, en diferentes especies, entre ellas para Zea mays (Heichel, 1971). Sin embargo en algunas especies no hay diferencia entre las dos superficies como en Hordeum vulgare (Miskin y Rasmusson 1970), o esta diferencia es invertida a lo indicado en Zea es decir, la mayor frecuencia estomática se encuentra en la superficie adaxial y menor en la abaxial como en - Triticum aestivum (Teare et al 1971).

5.- Frecuencia de células epidérmicas.

Puede decirse aquí, de acuerdo a los resultados obtenidos en frecuencia estomática y de células epidérmicas, que el caracter de frecuencia de células epidérmicas es más contrastante (significativo) entre las cuatro razas que la frecuencia estomática. (cuadro 7).

Existe más o menos una relación directa de frecuencia de células epidérmicas y frecuencia de estomas, ya que Apachito tiene menor fre-

cuencia estomática y también menos frecuencia de células epidérmicas, mientras que las otras razas: Tabloncillo Perla, Palomero Toluqueño, y Jala no mostraron diferencia entre ellas en frecuencia estomática en cambio en frecuencia de células epidérmicas guardan un orden más o menos decreciente.

Los trabajos de Heichel 1971 afirman que la frecuencia estomática y de células epidérmicas están controladas genéticamente, calculando por el método de Sewall Wright y que 1.25 pares de genes diferencian el carácter frecuencia estomática entre los dos pares. Los estudios de Heichel fueron realizados en maíz en líneas contrastantes en frecuencia estomática (alta y baja frecuencia). Dichas líneas se comportaron como verdaderas razas respecto a estas características.

Respecto al material utilizado en este trabajo, se tiene que tres de las razas fueron de colectas originales, es decir que en ellas puede haber mayor heterogeneidad en sus características y en una de ellas (Palomero Toluqueño) el grado de heterogeneidad se piensa sea menor, ya que este material fué obtenido por autofecundación aunque no se indica la generación exacta correspondiente.

En lo concerniente a: Cómo se regula el gradiente de tamaño celular en la lámina de la hoja? Kaufman et al (1969) han observado que los reguladores del crecimiento son los responsables de este gradiente de tamaños aunque sus investigaciones fueron realizadas en entrenudos de Avena, puede sugerirse que algo semejante ocurre en la hoja. Ellos han observado que las auxinas y giberelinas interactúan de tal forma que consideran al ácido indol-acético (IAA) como una antagonista de la giberelina (GA_3).

Kaufman et al (1969) indican que empleando GA_3 (30 M) + IAA (10^{-3} a 10^{-4} M, altas concentraciones), los efectos del IAA son más notables: alteración del crecimiento lateral, la división celular y el plano de división celular. Si se utiliza bajas concentraciones de IAA tales como 10^{-9} a 10^{-10} M el efecto del GA_3 es más notable: alargamiento celular.

Basándose en estos estudios, podemos sugerir, para explicar el gradiente de tamaño de las células en la lámina de la hoja, que probablemente pudiera suceder para Zea mays lo siguiente:

Que el ápice de la hoja, que es la parte que se forma primero, tenga posiblemente una mayor concentración de IAA por estar cerca del ápice del vástago y baja concentración de GA_3 . Teniendo presente el transporte polar de las auxinas, y el transporte en todas direcciones de las giberelinas.

Debido a la alta concentración de IAA en el ápice, el crecimiento de dichas células es poco o se alcanza en un corto tiempo y por tanto las células son pequeñas, podría decirse que la acción del IAA enmascara la acción de GA_3 .

La concentración de IAA decrece posiblemente hacia la base de la lámina y aumenta la concentración de GA_3 siendo las células de mayor tamaño, presentándose esto en una forma gradual.

Esto se sugiere para el tipo de distribución encontrado en Zea mays pero no así para el tipo de distribución de estomas que presenta Triticum y Panicum antidotale.

Puede plantearse la posibilidad de que la producción de los reguladores del crecimiento esté regido genéticamente y que por lo tanto se encuentra diferente tipo de distribución de estomas en Triticum y Panicum.

En cuanto a la relación de frecuencia estomática y la eficiencia transpiratorio y rendimiento, tenemos que:

En maíz sometido a sequía, no existe relación entre frecuencia estomática y rendimiento (González 1972). El indica que es posible detectar maíces de alto rendimiento en sequía y de pequeño grado de apertura estomática como lo es la línea latente Michoacán 21 comp. 1-104.

Dobrenz et al 1969, en panizo azul, no encontraron relación entre la eficiencia del uso del agua y la frecuencia estomática, pero señalan que son tolerantes a la sequía los que presentaron menor frecuencia

estomática. Sin embargo, Miskin y Rasmusson (1972), trabajando en líneas de cebada, encontraron que las líneas de baja frecuencia estomática, tuvieron una alta resistencia de difusión estomática y transpiraron menos agua que las líneas con más estomas. Indican además, que un decremento en 25% de la frecuencia estomática reduce la transpiración hasta cerca de un 24%. Concluyen que la frecuencia estomática no influye en el grado de fotosíntesis y que puede existir la posibilidad de alterar la transpiración sin alterar la fotosíntesis, seleccionando variedades con pocos estomas.

De acuerdo a lo revisado y expuesto en este trabajo, hay varios aspectos por analizar:

Ya que se ha visto que hay maíces resistentes a la sequía, los cuales presentan bajas frecuencias estomáticas y un alto rendimiento bajo sequía, parece pertinente revisar de los compuestos y de las razas existentes, los que presenten baja frecuencia estomática y que sean resistentes a la sequía con un buen rendimiento, para seleccionar los que pudieran cultivarse en regiones de temporal con escasa precipitación pluvial.

Es conveniente hacer notar que hay diferencia entre los tipos que son resistentes a la sequía, ya que se ha encontrado que el tipo latente tiende a conservar el agua reduciendo su apertura estomática, aumentando su resistencia difusiva y consecuentemente reduciendo la fotosíntesis. En tanto que el tipo tolerante, continúa fotosintetizando a bajos potenciales de agua a costa de perder cierta cantidad de agua por mantener el intercambio de gases para la fotosíntesis, tal es el caso de la línea Michoacán 21-20-4-1 de acuerdo a los resultados de Long (1974) bajo condiciones de laboratorio y observaciones de campo de Muñoz (Comunicación personal).

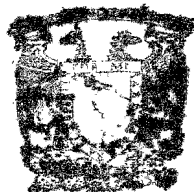
Otro aspecto interesante sería analizar la cuestión hormonal en las razas o líneas que se seleccionaran.

6.- Índice estomático.

Salisbury (citado en Meidner y Mansfield 1968) introdujo el concepto de índice estomático e indicó que tiende a ser constante para una especie. Aquí a nivel de razas se pudo observar que Tabloncillo Perla y Palomero Toluqueño tienen índices estomáticos diferentes significativamente. En cambio no hubo diferencia significativa entre Jala y Apachito. Si se hiciera un análisis de las razas existentes de maíz en México posiblemente se encontrarían grupos de razas con determinadas gamas en índice estomático.

Con los resultados obtenidos y la literatura revisada puede considerarse la frecuencia estomática, la frecuencia de células epidérmicas, el índice estomático como un carácter taxonómico, sugiriéndose un estudio con un mayor número de razas para determinar el valor de este carácter.

VII.- LITERATURA CITADA



BIBLIOTECA
CENTRO DE ECOLOGIA

- Baron, W.M. 1967. Physiological aspects of water and plant life.
Heinemann Educational Books. Ltd. London 141 pp.
- Brown, W.V. y Johnson, C. 1962. The fine structure of the grass guard cell. Amer. J. Bot. 49: 110-115.
- Dobrenz, L.A. Wright, W. y Humphrey, A.B. 1969. Stomata density and its relationship to water-use efficiency of blue panicgrass. (Panicum antidotale Retz.) Crop Sci. 9: 354-357.
- Esau, K. 1959. Anatomía vegetal. Ediciones Omega. Barcelona 162-170.
- Fischer, R.A. 1971. Role of Potassium in stomatal opening in the Leaf of Vicia faba Plant Physiol. 47: 555-558.
- Flint, L.H. y Moreland, C.F. 1946. A study of stomata in sugar cane. Amer. J. Bot. 33: 80-82.
- González, H.V.A. 1972. Análisis cuantitativo de apertura estomatal, rendimiento y otras variables en maíz sometido a riego y sequía. Tesis Profesional, E.N.A., Fitotecnia, Chapingo.
- Heichel, G.H. 1971. Genetic control of epidermal cell and stomatal frequency in maize. Crop. Sci. 11: 830-832.
- Hernández, X.E. y Alanís, F.G., 1970. Estudio morfológico de cinco nuevas razas de maíz de la Sierra Madre Occidental de México: Implicaciones filogenéticas y fitogeográficas. Agrociencia. Vol. 5: 3-30.
- Inamdar, J.A. 1970. Development of stomata in some Ophioglossum species. Ann. Bot. 34: 975-981.

- Kaufman, P.B., Petering, L.B. y Adams, P.A. 1969. Regulation of growth and cellular differentiation in developing *Avena* internodes by gibberellic acid and indole-3-acetic acid. *Amer. J. Bot.* 56(8): 918-927.
- Kaufman, P.B., Petering, L.B., Yocum, C.S. y Baic, D. 1970. Ultrastructural studies on stomata development in internodes of *Avena sativa*. *Amer. J. Bot.* 57: 33-49.
- Kiesselbach, T.A. 1949. The structure and reproduction of corn. *Agr. Exp. Sta. Univ. Nebr. Coll. of Agric. Res. Bull.* 161.
- Lindsay, E. y Finocchio, A.F. 1970. Stomata morphology of mosses. *Sci. Stud. St. Bonaventure Univ.* 26: 5-9.
- Meidner, H. y Mansfield, T.A. 1968. *Physiology of stomata*. Mc Graw-Hill London 170 pp.
- Metcalf, C.R. 1960. *Anatomy of Monocotyledons. I Gramineae*. Oxford. Clarendon Press. pág. 5.
- Metcalf, C.R. y Chalk, L. 1950. *Anatomy of the dicotyledons. Vol. II* Clarendon Press Oxford. p. 725-1500.
- Miller, E.C. 1938. *Plant Physiology 2a. ed.* Mc. Graw-Hill. New York.
- Milthorpe, F.L. e Ivins, J.D. 1966. *The growth of cereals and grasses*. Butterworths London, 358 pp.
- Miskin, K.E. y Rasmusson, D.C. 1970. Frequency and distribution of stomata in barley. *Crop. Sci.* 10: 575-578.
- Payne, W.W. 1970. Helicocytic and allelocytic stomata unrecognized patterns in the dicotyledoneae. *Amer. J. Bot.* 57(2): 140-147.
- Porterfield, W.M. 1937. Histogenesis in the bamboo with special reference to the epidermis. *Bull. Torr. Bot. Club.* 64(7): 421-432.

- Prat, H. 1948. General features of the epidermis in Zea mays. Ann. Mis. Bot. Gard. 35: 341-351.
- Randolph, L.F. 1932. Some effects of light temperature on polyploid and other variations in maize. Natl. Acad. Sci. Proc. 18: 222-229.
- Randolph, L.F. y Abbe, E. 1944. Comparison of shoot apex and leaf developmental and structure in diploid and tetraploid maize. Jour. Agr. Sci. Res. 69(2): 47-76.
- Roth, I. y Clausnitzer, I. 1970. Los tipos de desarrollo estomático en las angiospermas. Acta. Bot. Venez. 4: 259-292.
- Srivastava, L.M. y Singh, A.P. 1972. Stomatal structure in corn leaves. J. Ultrastruct. Res. 39(3-4): 345-363.
- Stebbins, G.L. y Jain, S.K. 1960. Developmental studies of cell differentiation in the epidermis of monocotyledons. I. Allium, Rhoeo and Commelina. Dev. Biol. 2: 409-426.
- Stebbins, G.L. y Khush, G.S. 1961. Variation in the organization of the stomatal complex in the leaf epidermis of monocotyledons and its bearing on their phylogeny. Am. J. Bot. 48(1): 51-59.
- Stebbins, G.L. y Shah, S.S. 1960. Developmental studies of cell differentiation in the epidermis of monocotyledons. II. Cytological features of stomatal development in the gramineae. Dev. Biol. 2: 477-500.
- Sutcliffe, J. 1968. Plants and water. Studies in Biology No. 14. Edward Arnold (Publishers) Ltd. 81 pp.
- Teare, I.D., Peterson, C.J. y Law, A.G. 1971. Size and frequency of leaf stomata in cultivars of Triticum aestivum and other Triticum species. Crop. Sci. 11: 496-498.

Van Cotthem, W.R.J. 1970. A classification of stomatal types. Bot.

J. Linn. Soc. 63: 235-246.

Wilson, C.L., y Loomis, W.E. 1970. Botánica. UTEHA. México. 682 pp.

Wellhausen, E.J., Roberts, L.M. y Hernández X., E. en colaboración con
P.C. Mangelsdorf. 1951. Razas de maíz en México. Folleto Téc.
No. 5, Ofna. de Est. Especiales. S.A.G. México.

A P E N D I C E

A P E N D I C E

Lista de Cuadros y Figuras.

- Cuadro 1.- Principales características del material empleado.
- Cuadro 2.- Análisis de varianza de la frecuencia estomática.
- Cuadro 3.- Prueba de Dúncan para la frecuencia estomática entre razas.
- Cuadro 4.- Prueba de Dúncan para la frecuencia estomática entre superficies.
- Cuadro 5.- Prueba de Dúncan para la frecuencia estomática entre posiciones.
- Cuadro 6.- Análisis de varianza de la frecuencia de células epidérmicas.
- Cuadro 7.- Prueba de Dúncan en la frecuencia de células epidérmicas entre razas.
- Cuadro 8.- Prueba de Dúncan para la frecuencia de células epidérmicas entre superficies.
- Cuadro 9.- Prueba de Dúncan para la frecuencia de células epidérmicas entre posiciones.
- Cuadro 10.- Prueba de Dúncan para la frecuencia de células epidérmicas en las interacciones Razas x Superficies (R x S).
- Cuadro 11.- Análisis de varianza del índice estomático.
- Cuadro 12.- Prueba de Dúncan para el índice estomático entre razas.
- Cuadro 13.- Prueba de Dúncan para el índice estomático entre superficies.
- Cuadro 14.- Prueba de Dúncan para el índice estomático entre posiciones.

- Fig. 1.- Diagrama del estoma de tipo gramíneo (Según Meidner y Mansfield, 1968).
- Fig. 2.- Crecimiento basípeto de la lámina de la hoja.
- Fig. 3.- Estado de desarrollo de las cuatro primeras hojas de la plántula con perforaciones resultantes al marcar la primera de ellas.
- Fig. 4.- Desarrollo del complejo estomático.
- Fig. 5.- Zonas de muestreo en la lámina de la hoja.
- Fig. 6.- Crecimiento de cada zona de la lámina.
- Fig. 7.- Estados de desarrollo de las plántulas en los momentos muestreados.
- Fig. 8.- Área promedio de la lámina.
- Fig. 9.- Curva de crecimiento en la lámina de Apachito y Jala.
- Fig. 10.- Frecuencia estomática en una lámina joven.
- Fig. 11.- Frecuencia estomática en la interacción Razas x Posiciones.
- Fig. 12.- Frecuencia estomática en la interacción Posiciones x Superficies.
- Fig. 13.- Frecuencia de células epidérmicas en la interacción Razas x Posiciones.
- Fig. 14.- Frecuencia de células epidérmicas en la interacción Posiciones x Superficies.
- Fig. 15.- Índice estomático en la interacción Posiciones x Superficies.

Cuadro.1. Principales características del material empleado.

	Palomero * Toluqueño	Tabloncillo * Perla	Jala *	Apachito **
Razas	Indígena	Mestizo pre- histórica	Mestizo pre- histórica	Nueva raza de NW de Méx.
Altitud m.s.n.m.	2 200 a 2 800	0 a 1 000	1 000	2 000 a 2 500
Distribución geográfica	Toluca, Méx. Perote, Ver.	Ameca, Jal. y Nay.	Nayarit Jalisco	Chih. Sierra Tarahumara
Días para antesis	90	97	134	55
Altura de la planta m.	1.7	1.5	3.1	1.9
Número de hojas	12.2	10.4	14.4	10.5
Long. de hojas cm.	66.0	61.8	82.3	70.2
Ancho hojas parte media cm.	6.5	7.7	7.8	8.6
Ancho del grano mm.	4.7	11.3	10.9	7.0
Espesor del grano mm.	2.8	4.2	4.6	4.2
Longitud del grano mm.	11.4	10.3	14.5	10.2
Caracter del gra- no	everta	crystalino	dentado	crystalino

* Wellhausen et al (1951)

** Hernández, X.E. y Alanís, F.G. 1970

Cuadro 2. Análisis de varianza de la frecuencia estomática.

F V	G L	S C	C M	F C
Razas (R)	3	8387.37	2795.79	4.356 *
Error a	12	7701.54	641.80	
Superficies (S)	1	35533.34	35533.34	93.200 **
(R) x (S)	3	811.57	270.52	0.709
Error b	12	4575.15	381.26	
Posiciones (P)	8	22292.87	2786.61	24.770 **
(P) x (R)	24	12059.85	502.49	4.466 **
(P) x (S)	8	5825.44	728.18	6.472 **
(P) x (S) x (R)	24	3569.78	148.74	1.322
Error c	192	21600.05	112.50	

NOTA: * Significancia al 0.05 de probabilidad

** Significancia al 0.01 de probabilidad

F V = Fuente de variación

S C = Suma de cuadrados

G L = Grados de libertad

C M = Cuadrado medio

Cuadro 3. Prueba de Dúncan para la frecuencia estomática entre razas.

R A Z A S	Frecuencia media de estomas
Tabloncillo Perla	61.79 a
Palomero Toluqueño	58.17 a
Jala	55.61 a
Apachito	47.14 b

NOTA: Las medias con la misma letra son iguales al 5% de probabilidad de acuerdo con la prueba de Dúncan.

Cuadro 4. Prueba de Dúncan para la frecuencia estomática entre superficie.

SUPERFICIE	Frecuencia media de estomas
Superficie Abaxial (envés)	66.78
Superficie Adaxial (haz)	44.57
Relación Abaxial-Adaxial	1.4

Cuadro 5. Prueba de Dúncan para la frecuencia estomática entre posiciones.

POSICIONES	Frecuencia media de estomas
Apice-Borde	69.84 a
Apice-Nervadura	66.44 a
Apice-Centro	65.06 a
Centro-Borde	56.44 b
Centro-Centro	52.47 b c
Centro-Nervadura	51.56 b c
Base-Borde	47.91 c d
Base-Centro	47.16 c d
Base-Nervadura	44.22 d

NOTA: Las medias con la misma letra son iguales al 5% de probabilidad de acuerdo con la prueba de Dúncan.

Cuadro 6. Análisis de varianza de la frecuencia de células epidérmicas.

F V	G L	S C	C M	F C	
R	3	430485.03	143495.00	21.39	*
Error a	12	80490.86	6707.58		
S	1	0.68	0.68	0.00	
R x S	3	34517.85	11505.95	3.88	*
Error b	12	35577.14	2964.76		
P	8	646229.38	80778.67	48.39	**
P x R	24	525622.04	21900.92	13.11	**
P x S	8	56909.01	7113.62	4.26	**
P x S x R	24	86494.47	3603.94	2.158	**
Error c	192	320507.99	1669.31		

NOTA: Valor significativo *

Valor altamente significativo **

Cuadro 7. Prueba de Dúncan en la frecuencia de células epidérmicas entre razas:

R A Z A	Frecuencia media de células epidérmicas	
Palomero Toluqueño	340.56	a
Tabloncillo Perla	279.57	b
Jala	265.64	c
Apachito	234.99	d

NOTA: Las medias con la misma letra son iguales al 5% de probabilidad, de acuerdo con la prueba de Dúncan.

Cuadro 8. Prueba de Dúncan para la frecuencia de células epidérmicas entre superficies.

SUPERFICIES	Frecuencia media de células epidérmicas
Superficie Adaxial (haz)	279.94
Superficie Abaxial (envés)	279.84
Relación Adaxial-Abaxial	1.0

Cuadro 9. Prueba de Dúncan para la frecuencia de células epidérmicas entre posiciones.

POSICIONES	Frecuencia media de células epidérmicas				
A - b	353.66	a			
A - c	335.53	a	b		
A - n	319.53		b	c	
C - b	309.25			c	
B - b	265.59			d	
C - c	264.06		d	e	
C - n	244.53		d	e	
B - c	225.56			e	f
B - n	219.28				f

NOTA: Las medias con la misma letra son iguales al 5% de probabilidad, de acuerdo con la prueba de Dúncan.

Cuadro 10. Prueba de Dúncan para la frecuencia de células epidérmicas en la interacción Razas x Superficies (R x S).

SUPERFICIES Y RAZAS		Frecuencia media de células epidérmicas		
Superficie Adaxial (haz)				
Palomero Toluqueño	324.17	a		
Tabloncillo Perla	288.36	b		
Jala	276.72	b		
Apachito	230.50	c		
Superficie Abaxial (envés)				
Palomero Toluqueño	356.75	a		
Tabloncillo Perla	270.58	b		
Jala	254.56	b	c	
Apachito	237.47		c	

Cuadro 11. Análisis de varianza del Índice estomático.

F V	G L	S C	C M	F C	
R	3	522.69	174.23	6.89	**
Error a	12	303.43	25.29		
S	1	2478.08	2478.08	211.80	**
R x S	3	95.85	31.95	2.72	
Error b	12	140.42	11.70		
P	8	206.75	25.84	1.99	*
P x R	24	442.95	18.46	1.26	
P x S	8	412.75	51.59	3.98	**
P x S x R	24	299.80	12.49	0.96	
Error c	192	2482.95	12.93		

NOTA: Valor significativo *

Valor altamente significativo **

Cuadro 12. Prueba de Dúncan para el Índice estomático entre razas.

R A Z A	Media del Índice estomático	
Tabloncillo Perla	18.20	a
Jala	17.16	b
Apachito	16.99	b
Palomero Ioluqueño	14.53	c

NOTA: Las medias con la misma letra son iguales al 5% de probabilidades, de acuerdo con la prueba de Dúncan.

Cuadro 13. Prueba de Dúncan para el Índice estomático entre superficie.

S U P E R F I C I E	Media del Índice estomático	
Superficie Abaxial (envés)	19.65	
Superficie Adaxial (haz)	13.79	
Relación Abaxial-Adaxial	1.4	

Cuadro 14. Prueba de Dúncan para el Índice estomático entre posiciones.

P O S I C I O N E S	Media del Índice estomático		
C - c	17.82	a	
A - n	17.38	a	b
C - n	17.37	a	b
A - b	17.17	a	b c
B - n	16.99	a	b c
A - c	16.69	a	b c
B - c	16.44	a	b c
C - b	15.41		b c
B - b	15.20		c

NOTA: Las medias con la misma letra son iguales al 5% de probabilidades, de acuerdo con la prueba de Dúncan.

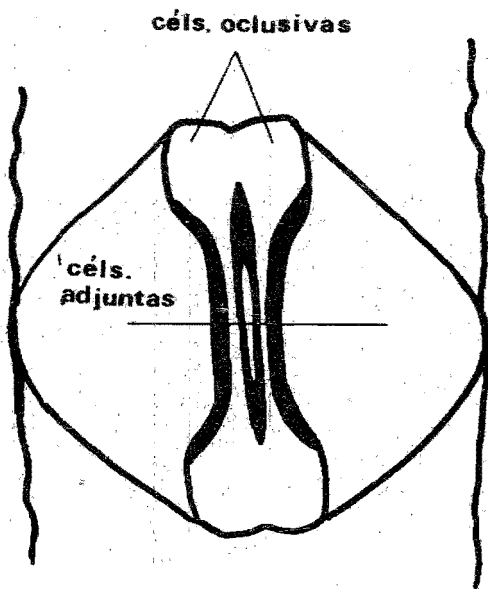
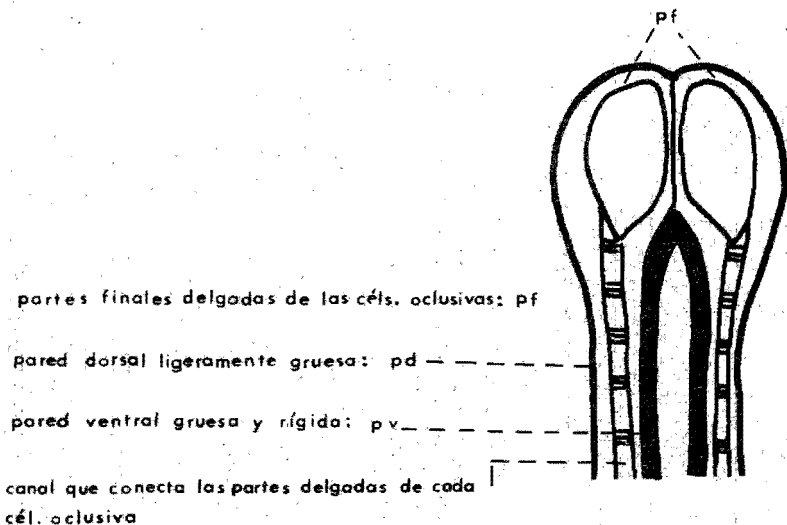


Fig 1 Estoma de tipo gramináceo

(Meidner y Mansfield, 1968)



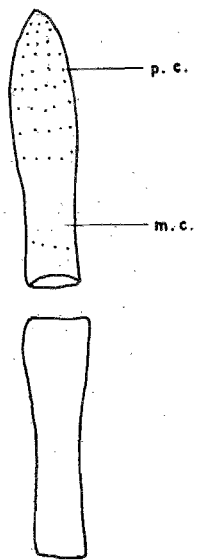


Fig. 2 Crecimiento basípeto de la hoja.
 Poco crecimiento p. c.
 Mayor crecimiento m. c.

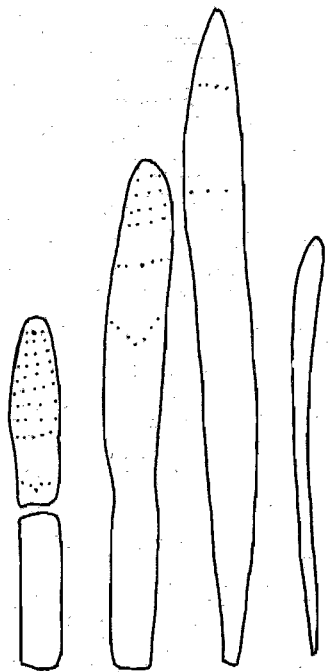


Fig. 3 Estado de desarrollo de las cuatro primeras hojas de la plántula con perforaciones resultantes al marcar la primera de ellas.

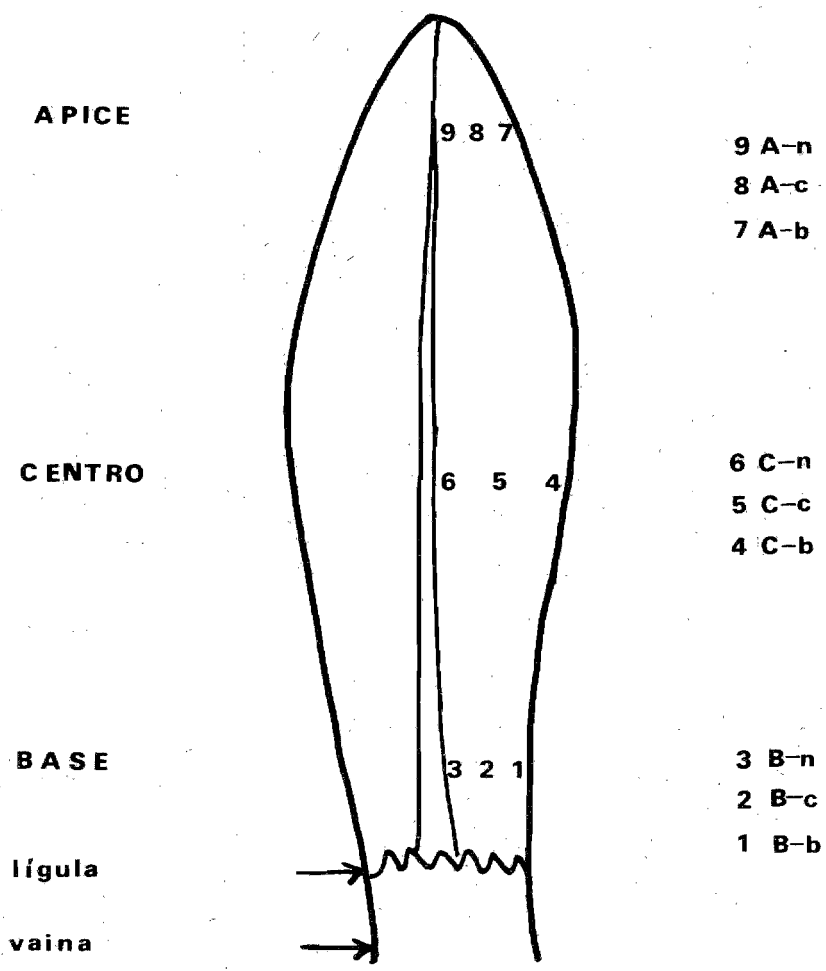
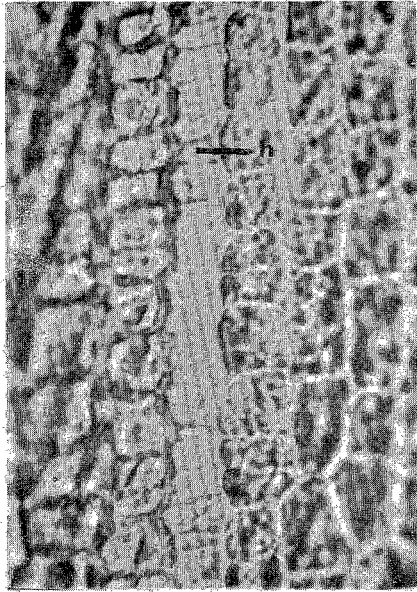


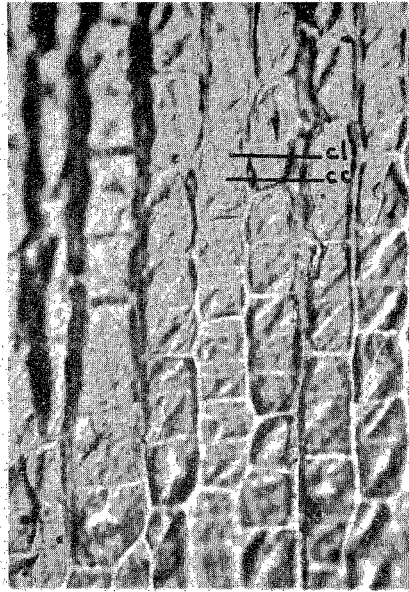
Fig.5 Zonas de muestreo

Fig. 4-A Desarrollo del complejo estomático (434 X)

- a.- Hilera donde se formarán estomas, h.
- b.- Resultado de la división asimétrica c.c. célula corta; c.l. célula larga.
- c.- Fase de inducción a la división de las células largas laterales, c.l.l.
- d.- Formación de las células adjuntas, c.a.



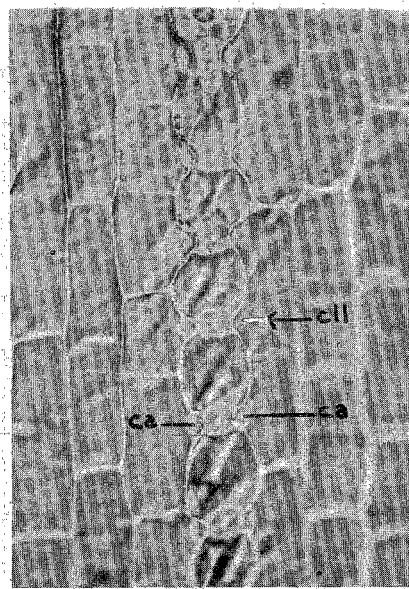
a



b



c



d

Fig. 4-B

e.- Formación de las células oclusivas, (c.o.)

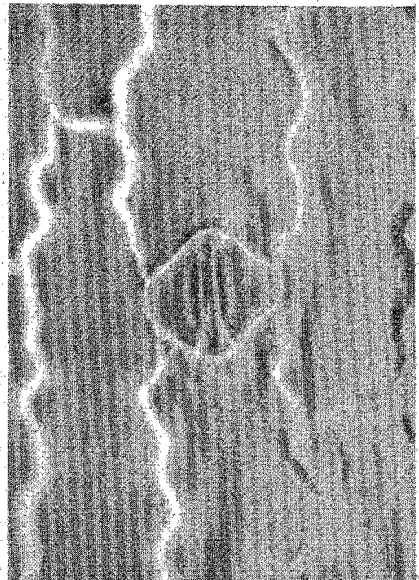
f.- Estoma maduro.

g.- Vista superior de una parte de la superficie
de la lámina con estomas (e), células epidé-
micas normales (c.n.) y nervadura (n.v.)

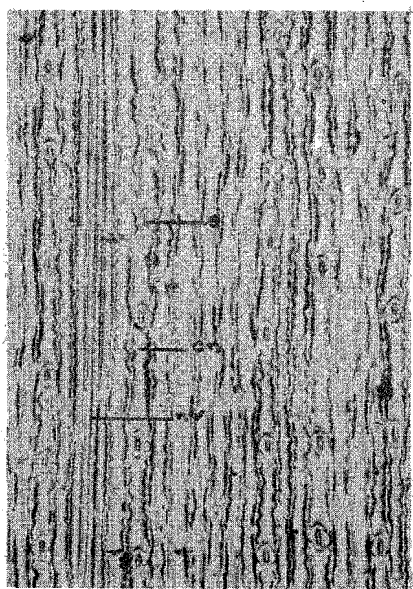
(94 X)



e



f



g

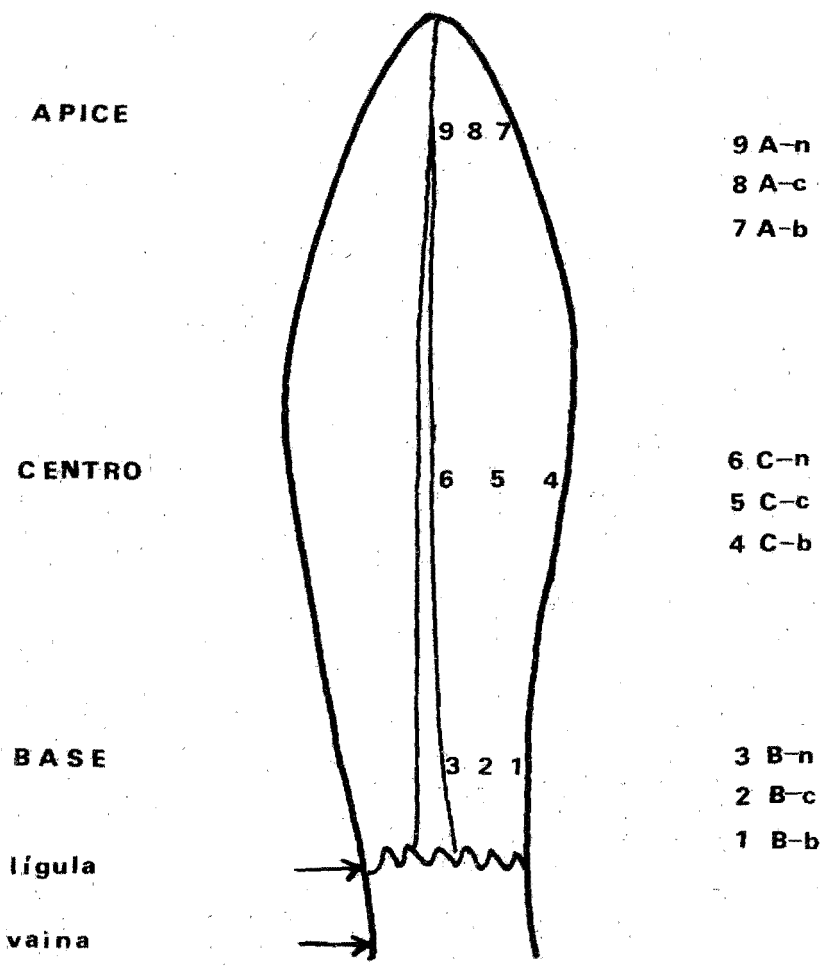


Fig.5 Zonas de muestreo

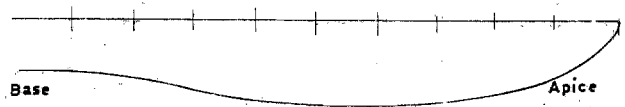
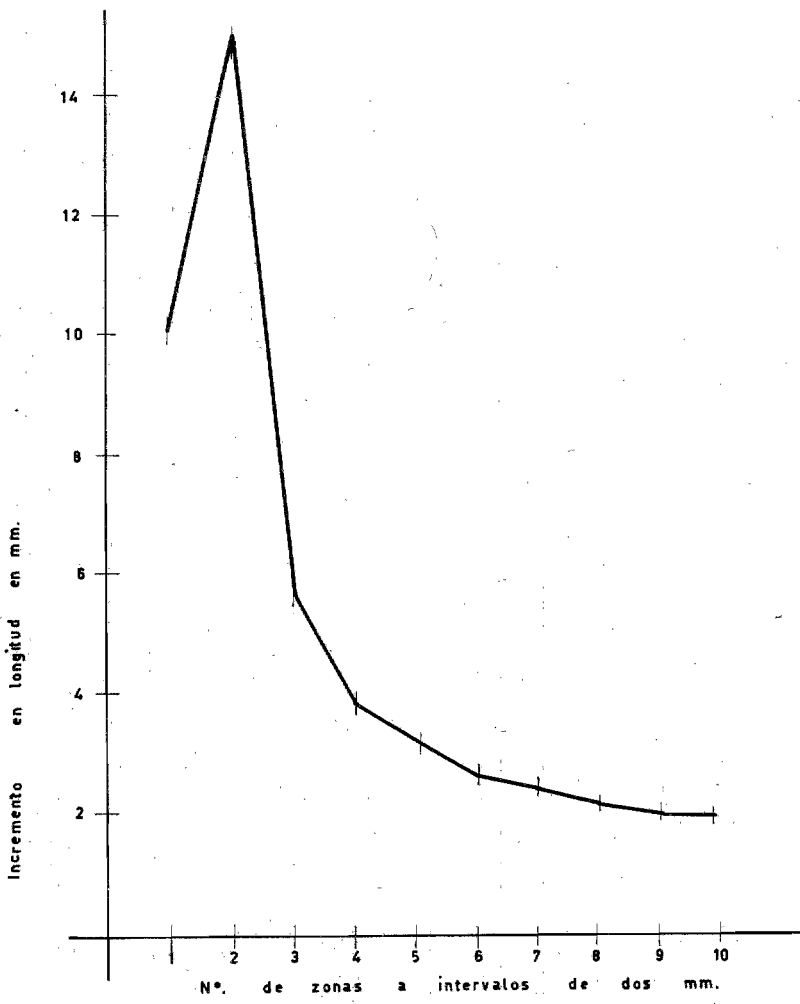


Fig. 6 Crecimiento en cada zona de la lámina.

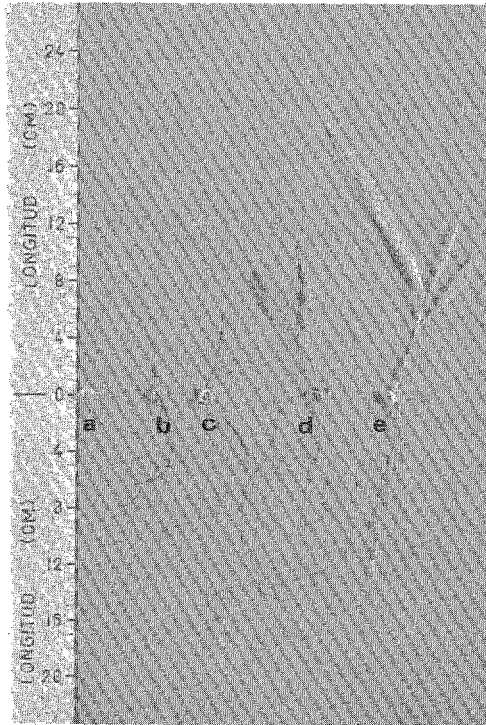


fig. 7 Estados de desarrollo de las plántulas en los momentos muestreados: a-96 h, b-120 h, c-144 h, d-192 h, e-264 h (Apachito)

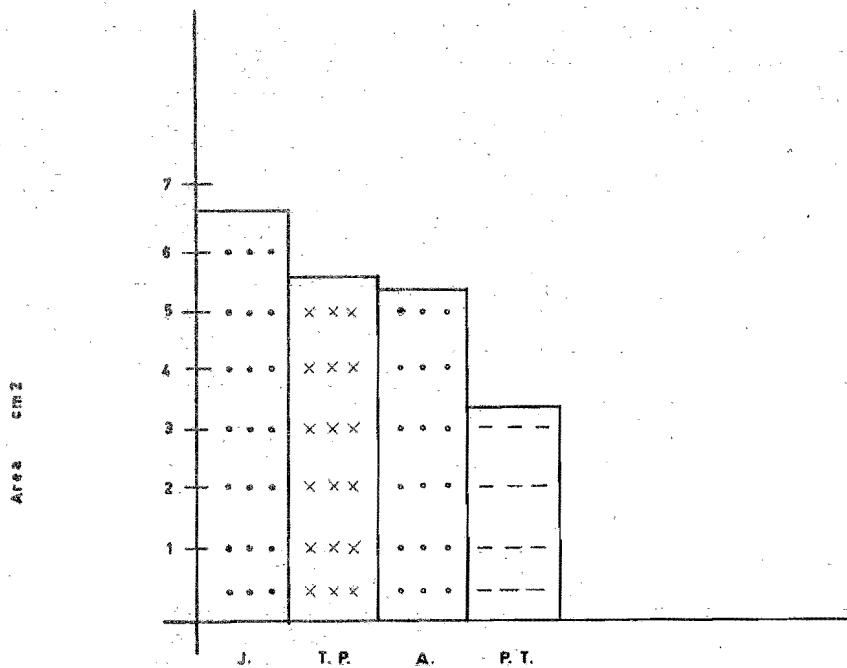


Fig. 8 . Área media de la lámina de cada raza.

J: Jala. T.P.: Tabloncillo perla

A: Apachito. P.T.: Palomero toluqueño.

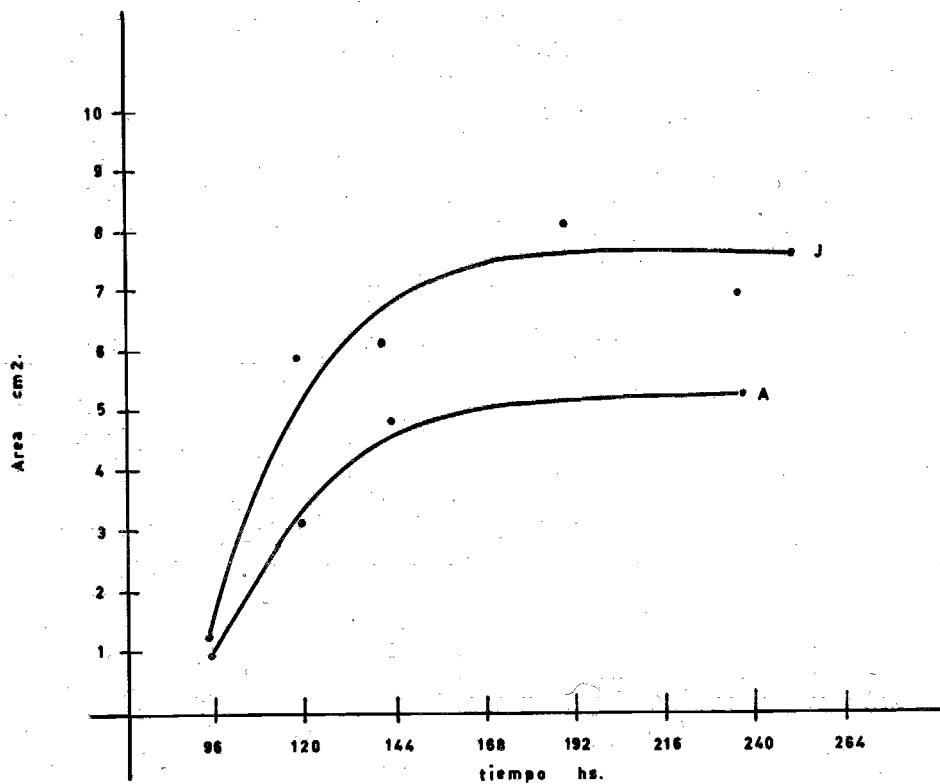


Fig. 9 Curva de crecimiento en la lámina de Apachito (A) y Jala (J).

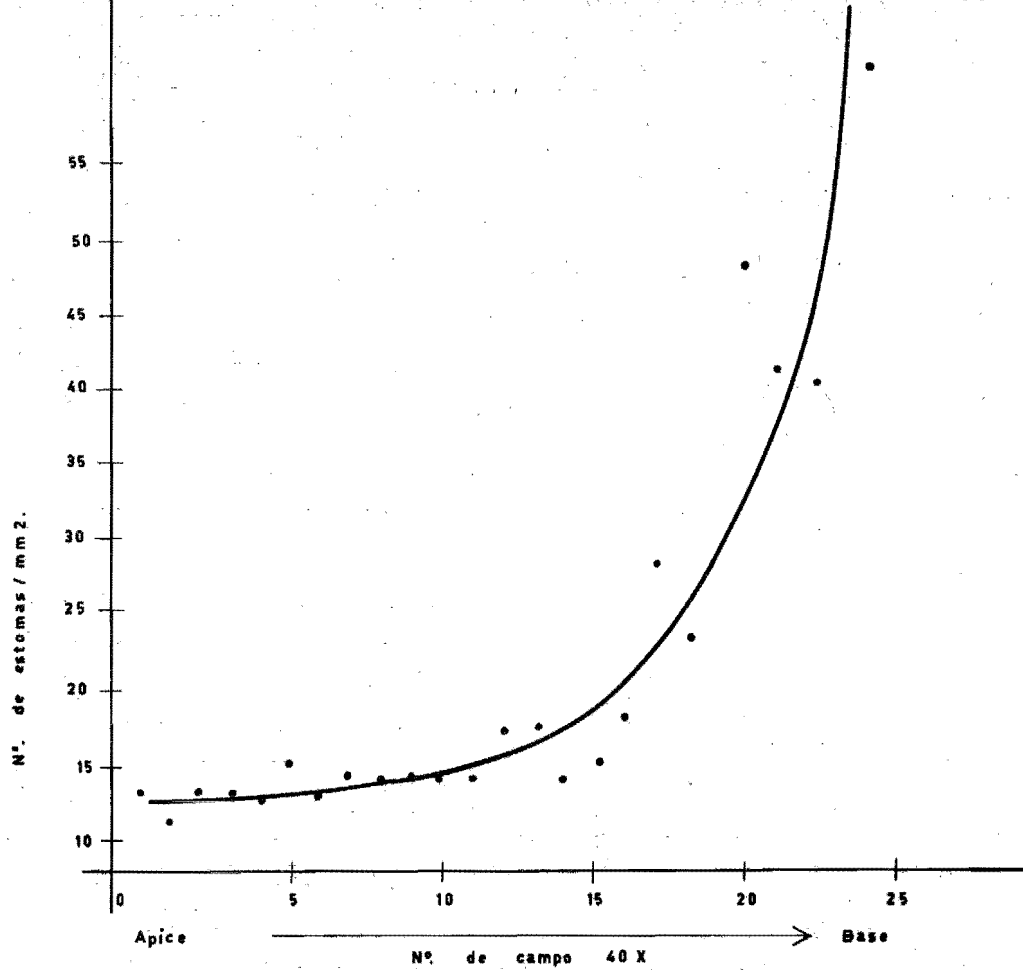


Fig. 10. Frecuencia estomática en una lámina joven, (Palomero toluqueño 86 h.)

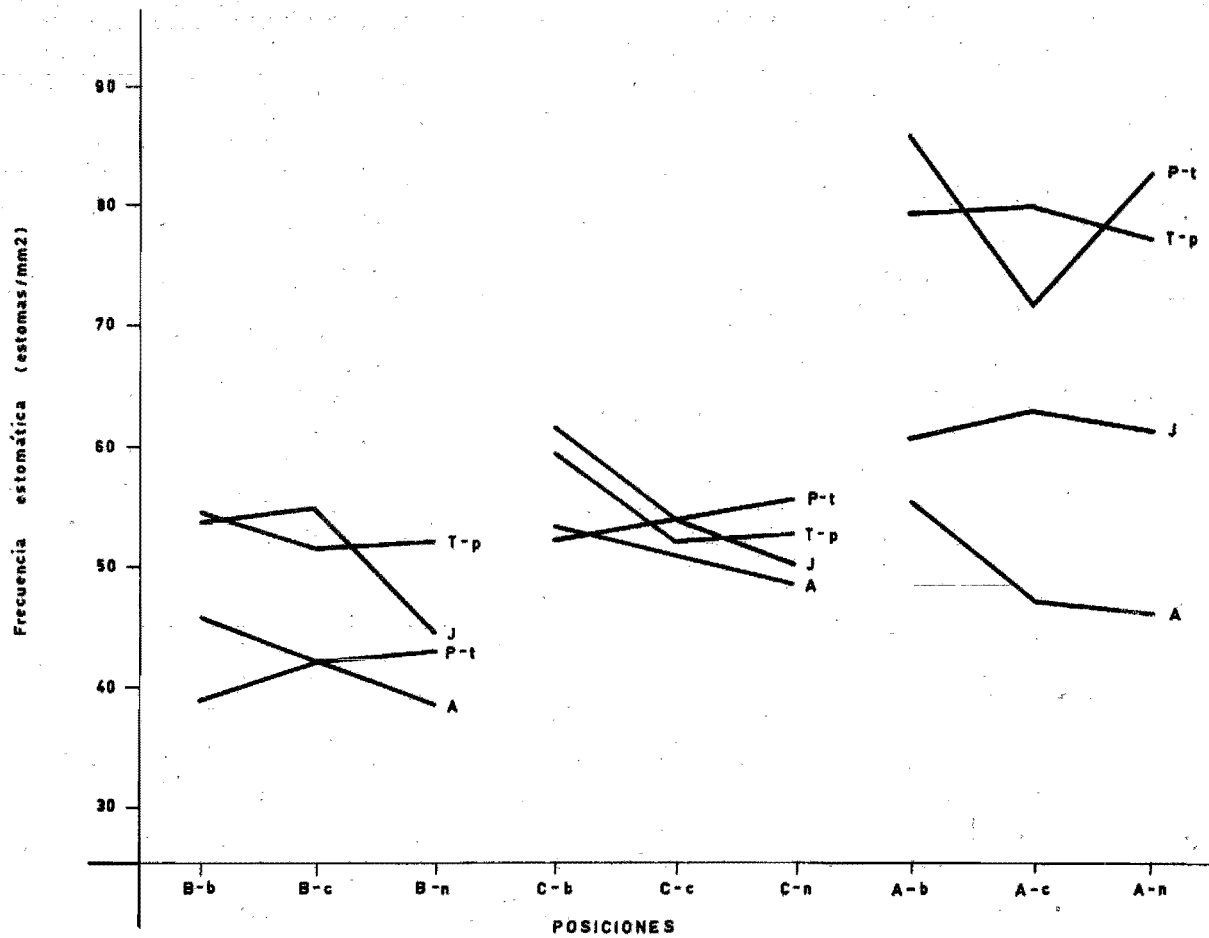


Fig. 11 Interacción razas-posiciones en frecuencia estomática.

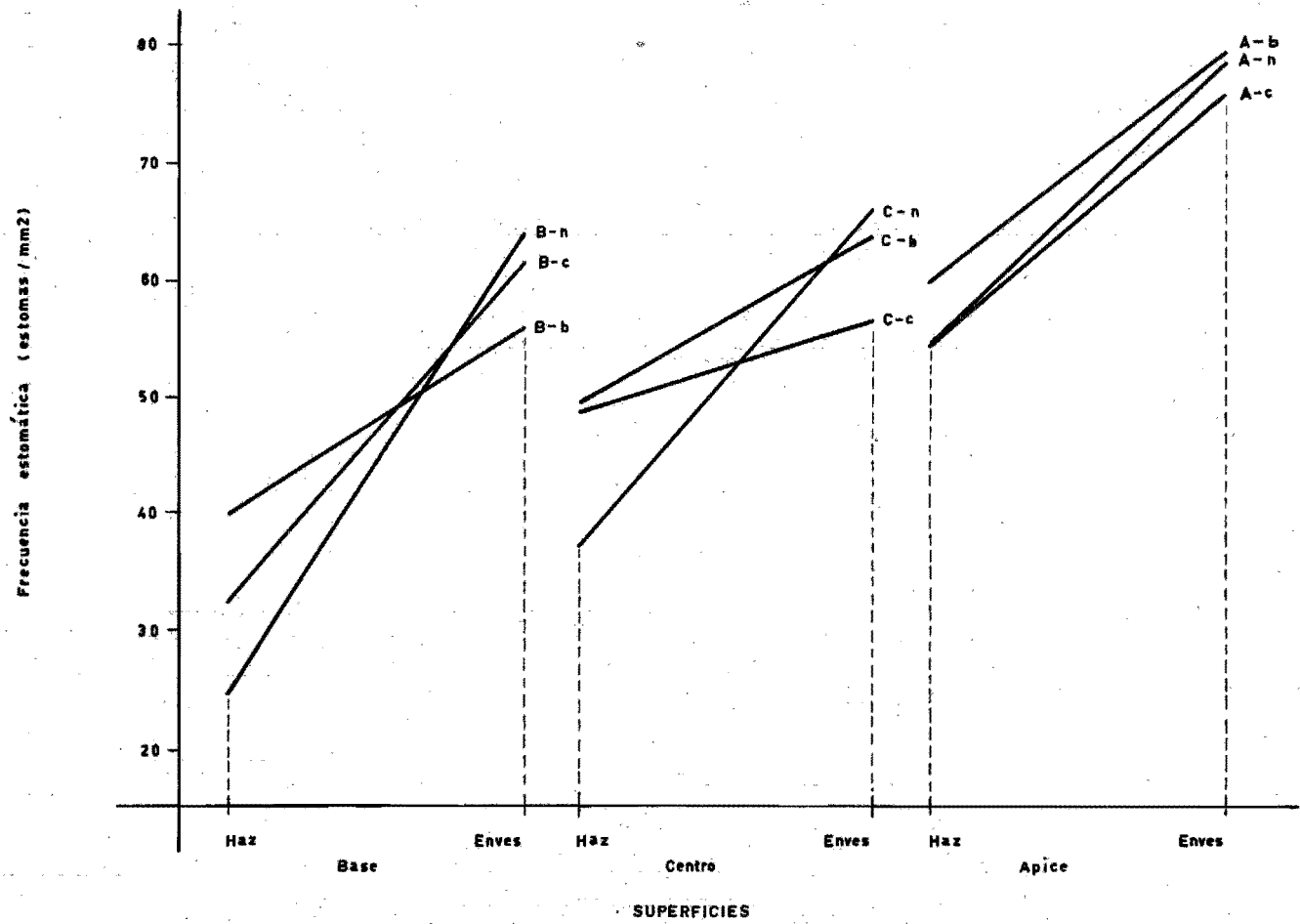


Fig. 12. Interacción posiciones-superficies en frecuencia estomática.

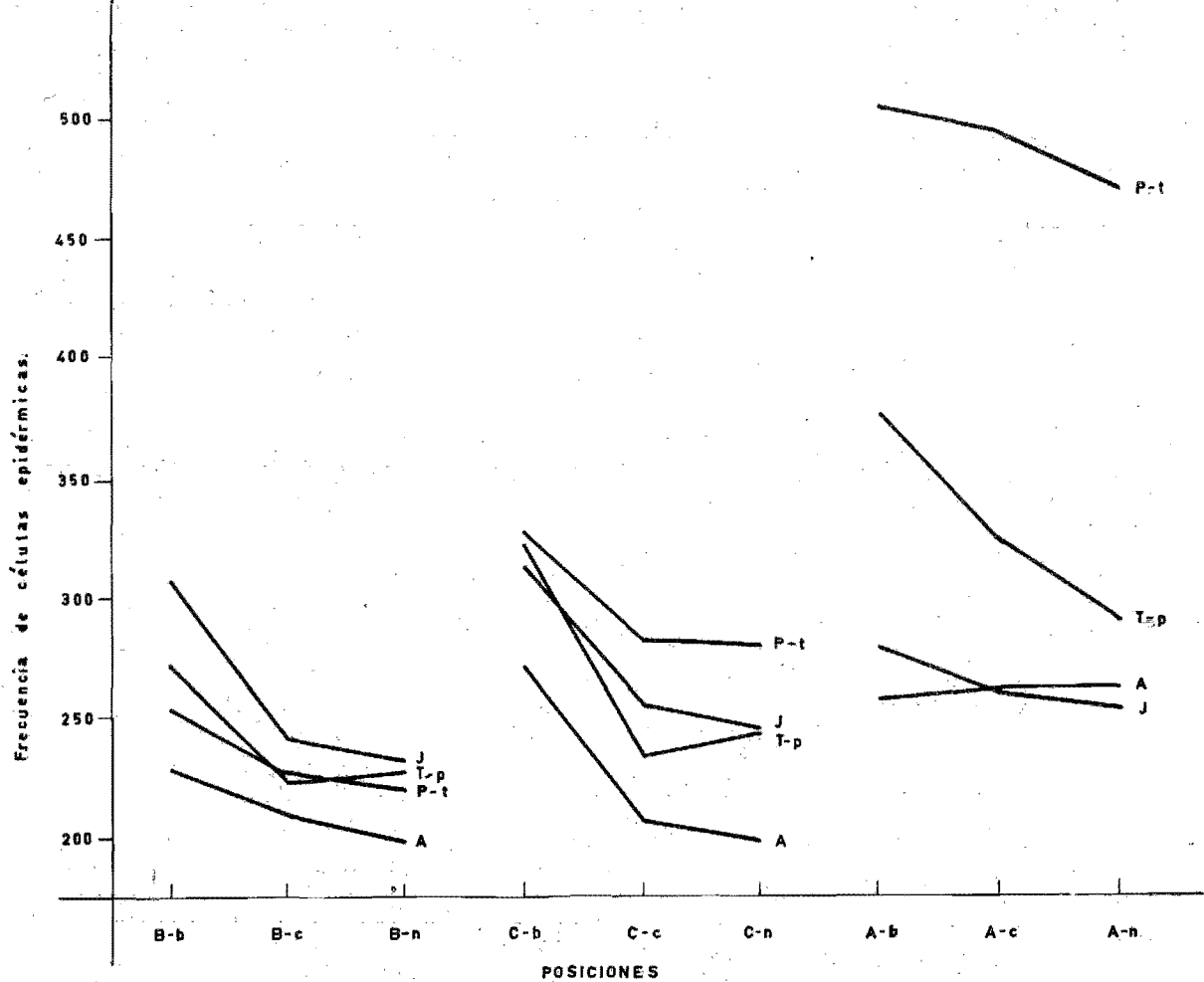


Fig. 13 Interacción razas-posiciones en frecuencia de células epidérmicas.

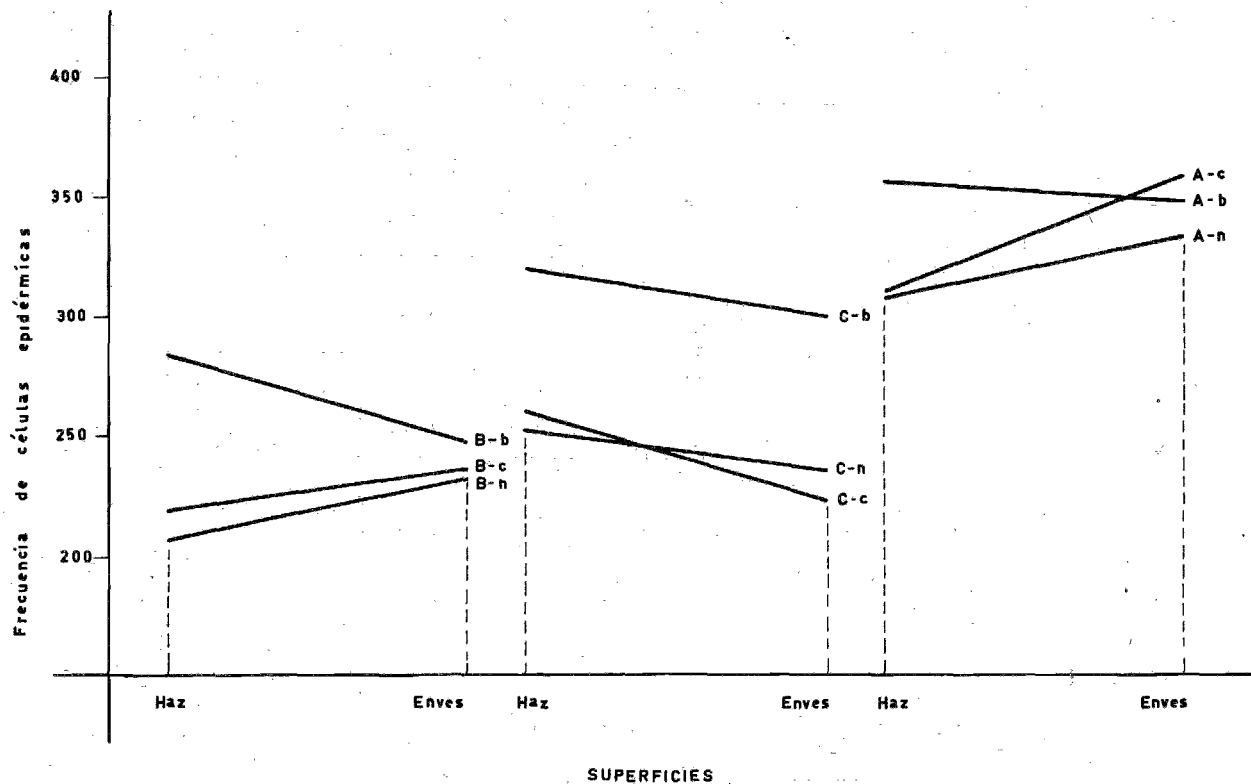


Fig. 14. Interacción posiciones-superficies en frecuencia de células epidérmicas.

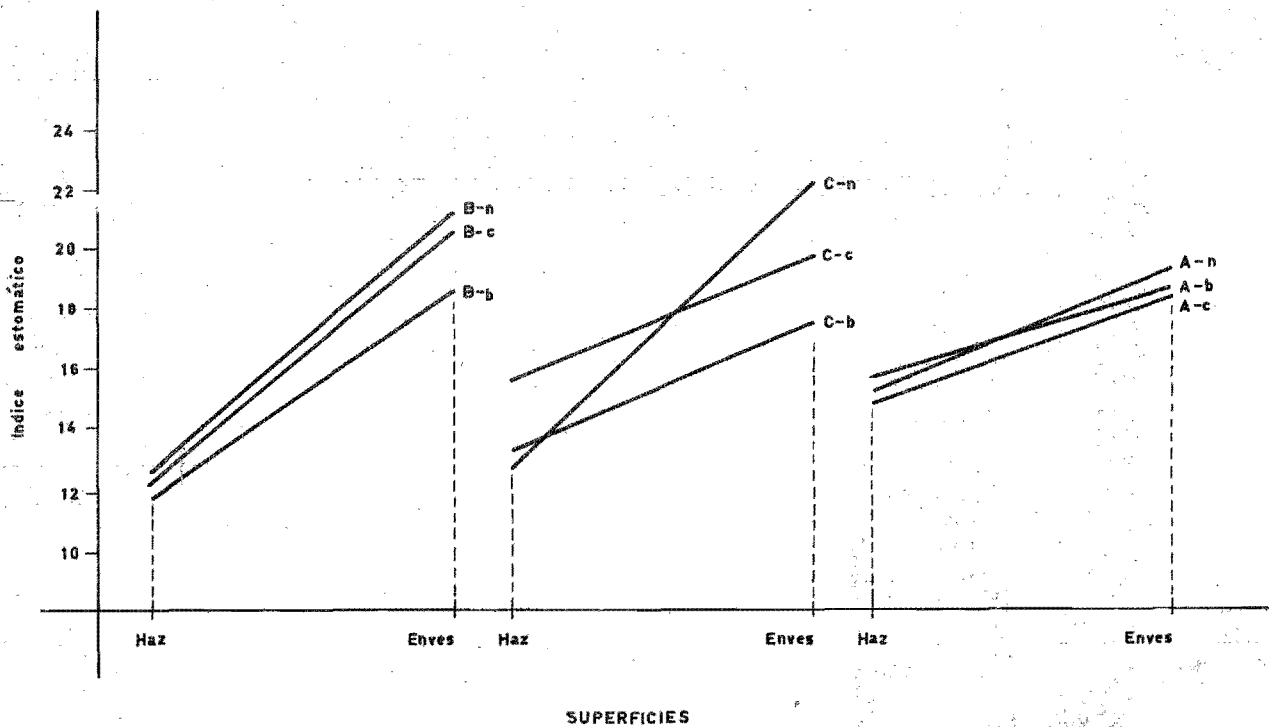


Fig. 15 Interacción posiciones-superficies en el índice estomático.