

NUEVA TECNICA PARA LA OBTENCION DE REPLICAS FOLIARES MACROSCOPICAS Y MICROSCOPICAS CON EL EMPLEO DEL POLIACETATO DE VINILO Y FENOL

R. GORTAZAR

RESUMEN

Con el objetivo de encontrar una sustancia que permitiera obtener réplicas foliares de plantas sin alterar ni dañar los tejidos, se realizó esta investigación en el Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas (INCA). El trabajo demuestra la posibilidad de obtener réplicas del limbo foliar de diferentes especies de plantas, con la aplicación de poliacetato de vinilo y fenol en la superficie de las hojas. En el mismo se explica la técnica empleada para obtener las réplicas así como el montaje para su observación microscópica. En las réplicas obtenidas se puede determinar la morfología interna y externa de las hojas así como el área foliar de las mismas en cualquier lugar de la superficie foliar y en cualquier momento de su desarrollo. La técnica permite también obtener réplicas de todas las irregularidades microscópicas que presente cualquier superficie, como hifas y esporas de hongos, etcétera, siempre que no se mezcle el poliacetato de vinilo y fenol con la superficie o sea imposible su separación posterior.

INTRODUCCION

Las hojas constituyen el principal órgano fotosintético de los vegetales, ya que interceptan la luz solar y el dióxido de carbono intercambiable. También son importantes por realizar la transpiración, ya que expulsan el agua en forma de vapor. Una de las peculiaridades más expresivas, desde el punto de vista funcional, es la morfología externa de las hojas, por su característica laminar que ofrece una amplia superficie de contacto con la atmósfera en exposición directa a la luz solar. Las dos funciones importantes que se realizan, la fotosíntesis y la transpiración, explican el lugar destacado que ocupan en las investigaciones botánicas y fisiológicas. En el estudio taxonómico, las hojas constituyen también elementos importantes en la clasificación de las plantas. Las hojas presentan un crecimiento limitado pero su desarrollo, hasta alcanzar su madurez final, es un proceso continuo a partir de sus fases meristemáticas de expansión, maduración y caída. No se ha podido determinar en forma directa el proceso de este desarrollo, en toda o en parte de una misma hoja, en distintos momentos e incluso en un lugar determinado.

Cuando se estudia la morfología externa de las hojas generalmente se utilizan materiales vivos o conservados (herbarios).

Para la obtención de secciones longitudinales del tejido epidérmico se emplean diversas técnicas microscópicas. La literatura muestra diversos métodos, tanto mecánicos como químicos, enzimáticos, etcétera, desde los

simples cortes longitudinales con cuchillas o raspando partes de la superficie (Wallie, 1968; Nard, 1969 y Fryns-Classins, 1973), hasta los clásicos métodos de separación cuticular como el de Schulzen (Johansen, 1940) y los enzimáticos (Franchi et al., 1971 y Cataldo et al., 1974).

Muchas veces estas técnicas no ofrecen resultados favorables, bien por las características del limbo foliar al presentar una extrema finura, ser suculentas y presentar grandes venaciones, o bien porque el material foliar es escaso. Existen otros métodos que utilizan determinadas sustancias que impresionan la superficie de las hojas. Las más empleadas son el acetato de celulosa (Zelitch, 1972), colodión- solución de celuloide y acetona- (Pérez, 1976) o la pintura de uñas y otros materiales similares, aplicados generalmente cerca de la región central de la lámina foliar. Estos productos tienen limitaciones en su uso, ya que solo son aplicables en la obtención de pequeñas muestras, además de provocar daños parciales o totales en las partes donde son aplicados.

Dada la problemática nos propusimos encontrar alguna sustancia que nos permitiera obtener réplicas foliares sin dañar ni alterar los tejidos en estudio.

MATERIALES Y METODOS

El material utilizado en este experimento es un dispersor acuoso de poliacetato de vinilo y fenol conjuntamente con un 40-50 % de sólidos.

Precisamente la presencia del agua como medio dispersor impide la destrucción o daño de los órganos. Por otra parte, la presencia del fenol permite la conservación de los mismos.

Se utilizaron hojas de 4 cultivares de tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill), naranja agria (*Citrus aurantium* Lin.), café (*Coffea arabica* Lin.), uva (*Vitis vinifera* Lin.) y yuramira (*Jatropha hastata* Jacq.). A cada hoja, tanto por la parte adaxial como la abaxial, desde la base hacia el ápice y desde el centro hacia los bordes, se les aplicó una capa delgada de aproximadamente 1-1,5 cm de poliacetato de vinilo y fenol, con la yema de los dedos, de forma similar a la aplicación de una goma o pegamento a papeles o etiquetas. Una vez aplicado, se deja secar hasta desaparecer el color blanco mate que lo caracteriza, entonces la hoja queda finalmente con un aspecto brillante y se procede a la separación. La separación del material impresionado de la hoja se realiza fácilmente, bien directamente con los dedos o ayudándose de una pinza. No necesita ninguna otra técnica o cuidado posterior.

De esta forma se pueden tomar impresiones de superficies foliares completas o de pequeñas secciones. Si se toman impresiones de partes del limbo foliar (aproximadamente de 2,5 x 1,5 cm), estas deben hacerse dobles, de forma que al situarlas en el portaobjeto, una de ellas quede con la cara que estuvo en contacto con la hoja directamente al cristal del portaobjeto y la otra en sentido contrario.

Esto permite que al observarlas con el microscopio óptico, por ejemplo, en el caso de los pelos, por una parte se observe la longitud y dimensión de estos y por la otra la base celular de los mismos. Para proceder al montaje y sellado del portaobjeto y cubreobjeto se utiliza el propio producto, que en este caso sustituye ventajosamente a otras sustancias que generalmente se utilizan en los montajes.

En el caso de distintos cultivares de tomates se tomaron muestras de las mismas hojas en distintas fechas.

RESULTADOS Y DISCUSION

De las impresiones tomadas tanto en el limbo foliar completo como en partes de este, puede estudiarse la morfología externa y la estructura microscópica del tejido epidérmico en una misma hoja, desde su inicio hasta su total madurez.

Las impresiones pueden conservarse sin deterioro durante mucho tiempo.

Morfología externa del limbo foliar

La morfología externa del limbo foliar se observa directamente sin ninguna dificultad, independientemente de la irregularidad que pueda presentar la hoja, como es por ejemplo en el caso del tomate o la uva. En las fotos 1-4 (11/3/1965) pueden apreciarse las características de los bordes, base y ápice y por su transparencia las características de las nerviaciones de 4 cultivares de tomate: *Lycopersicon esculentum* Mill, cv Campbell; *L. esculentum* Mill, cv Caribe; *L. esculentum* Mill, cv Roma y *L. esculentum* Mill, cv Saint Pierre. A las mismas hojas se les tomaron impresiones el 11/4/1965 (fotos 5 a la 8) y se apreció que las mismas son bipinnatisectas con segmentos interpolados. Estas características pueden apreciarse también en las fotos 9-12 que corresponden a naranja agria (*Citrus aurantium* Lin), café (*Coffea arabica* Lin), uva (*Vitis vinifera* Lin) y yuramira (*Jatropha hastata* Jacq.).

Estructura interna de la epidermis foliar adaxial y abaxial

En las fotos 13-16 se puede apreciar la estructura interna del tejido foliar, tanto adaxial como abaxial, de los distintos cultivares de tomate. La foto 13 muestra las formas de las células epidérmicas de su parte adaxial, así como los estomas, que son poco numerosos. Las fotos 14-16 muestran estomas abiertos y cerrados y tejido epidérmico abaxial. Las fotos 17-20 corresponden al tejido epidérmico de la parte adaxial; ellas muestran además la forma de los pelos. La foto 17 muestra, junto con los pelos, células epidérmicas alargadas situadas sobre el tejido conductor así como la forma que adoptan.

CONCLUSIONES

1. La técnica empleada permite observar directamente las características de la estructura de la epidermis en distintos momentos de su desarrollo, en toda la hoja e incluso en lugares determinados de la misma, gracias a que no causa deterioro, destrucción o daño alguno a las mismas.
2. El empleo del poliacetato de vinilo y fenol permite obtener réplicas del limbo foliar total o parcial así como el estudio tanto de la morfología externa como la estructura interna de la epidermis, de gran importancia en investigaciones agrónomas, botánicas y fisiológicas.
3. Pueden obtenerse réplicas del grado de apertura y cierre de estomas, pelos o tricomas y células epidérmicas en el momento deseado, desde un mismo lugar prefijado en una misma hoja, en distintas etapas de su desarrollo.
4. Las réplicas pueden estudiarse posteriormente, ya que no se deterioran.
5. La técnica empleada es sencilla y no requiere equipos especiales para obtener las réplicas.
6. Pueden obtenerse muestras de distintas superficies externas de órganos de plantas, animales, huellas dactilares, hifas y micelios de hongos, en fin, todo lo que presente irregularidades superficiales microscópicas, siempre que no se mezclen con este o impidan su separación.



FOTO 1

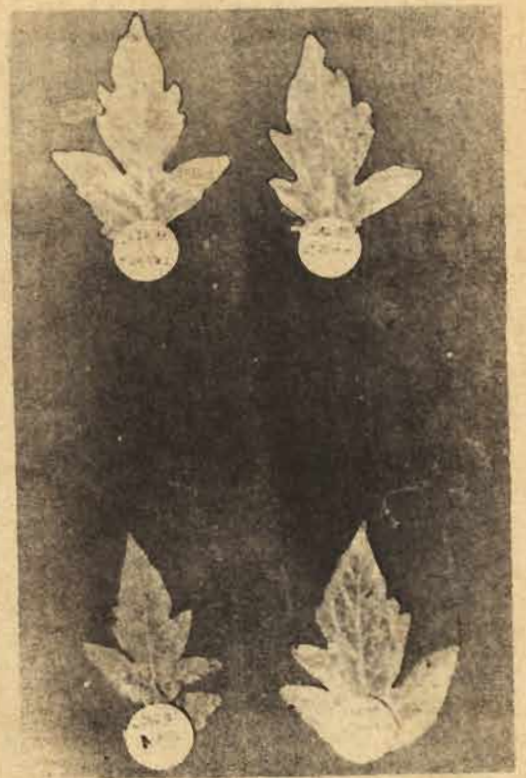


FOTO 2

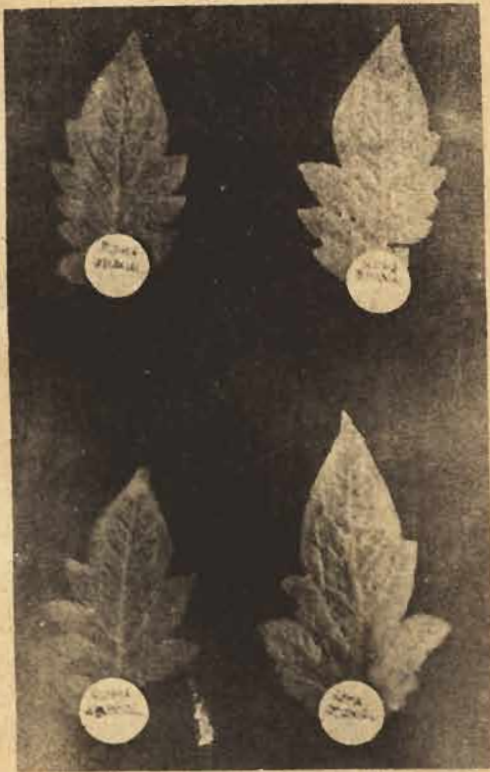


FOTO 3

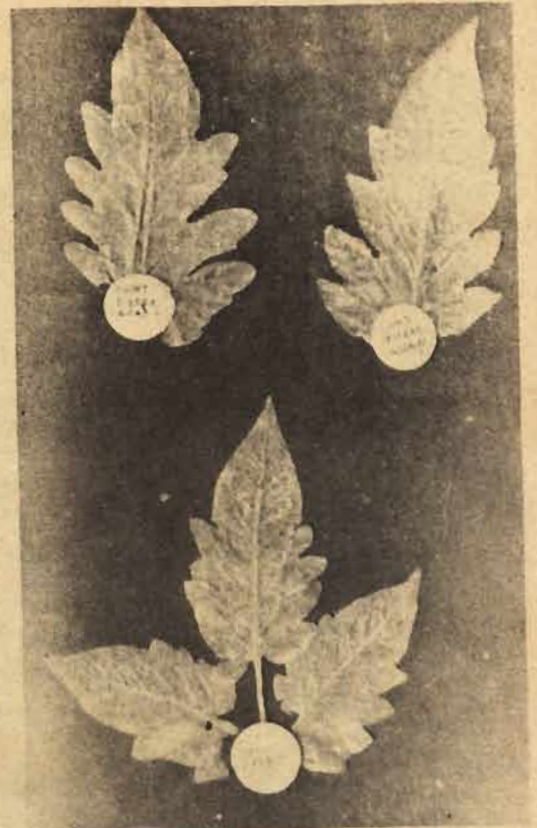


FOTO 4



FOTO 5



FOTO 6



FOTO 7



FOTO 8

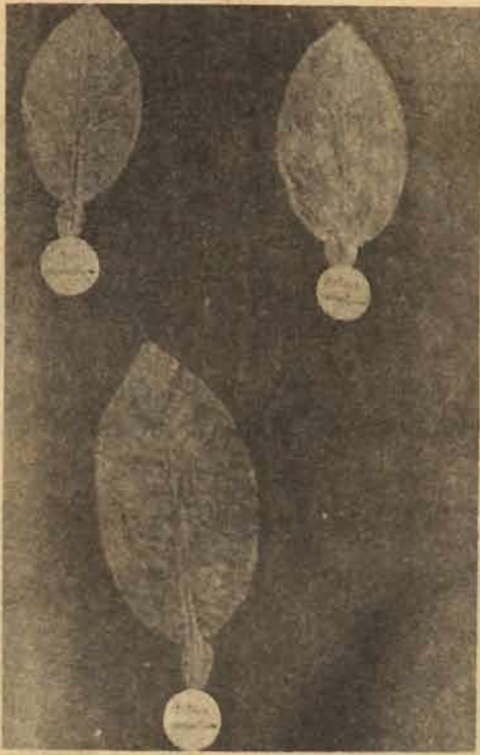


FOTO 9

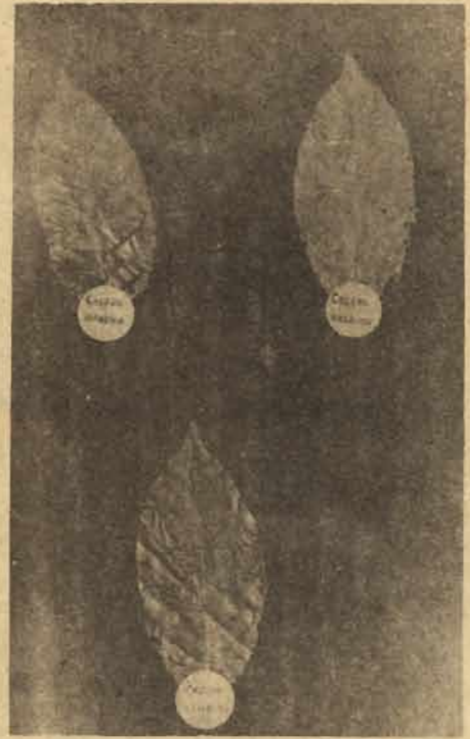


FOTO 10

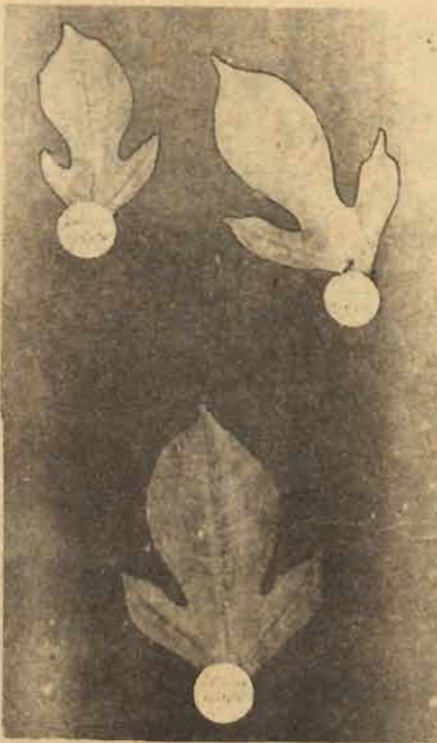


FOTO 11

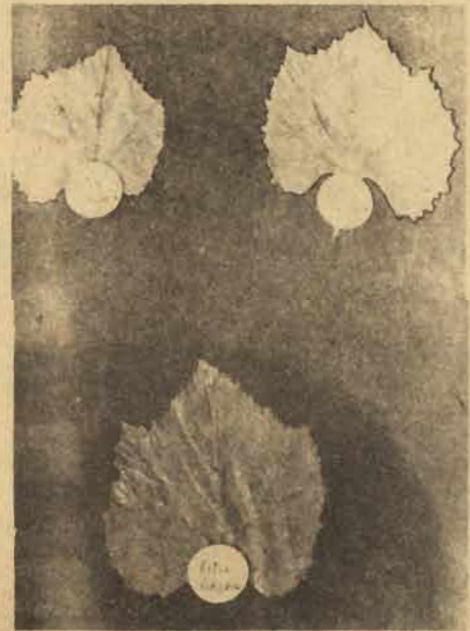


FOTO 12

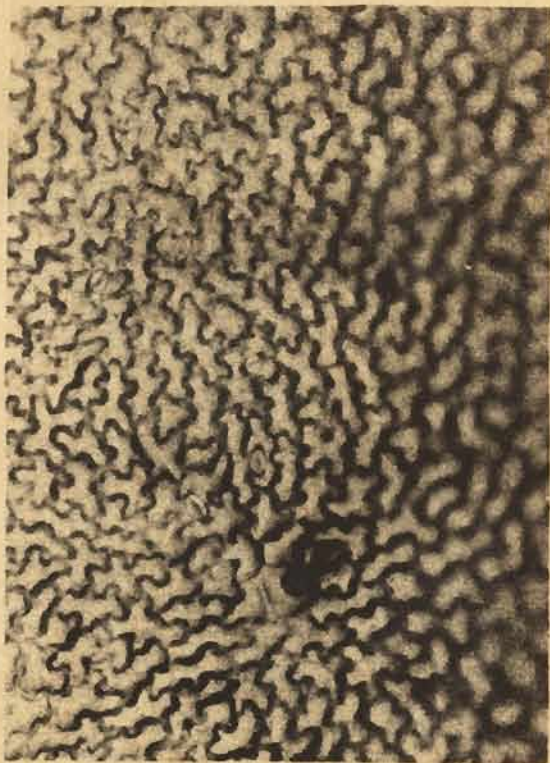


FOTO 13

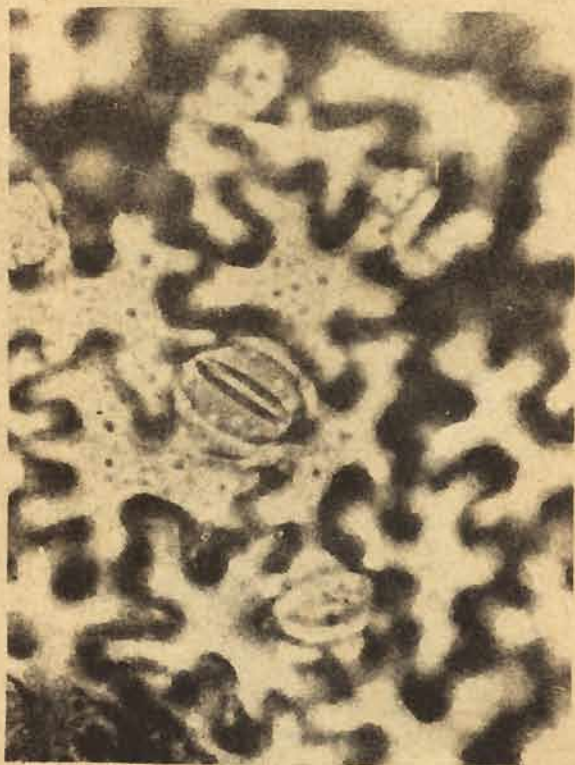


FOTO 14



FOTO 15



FOTO 16



FOTO 17

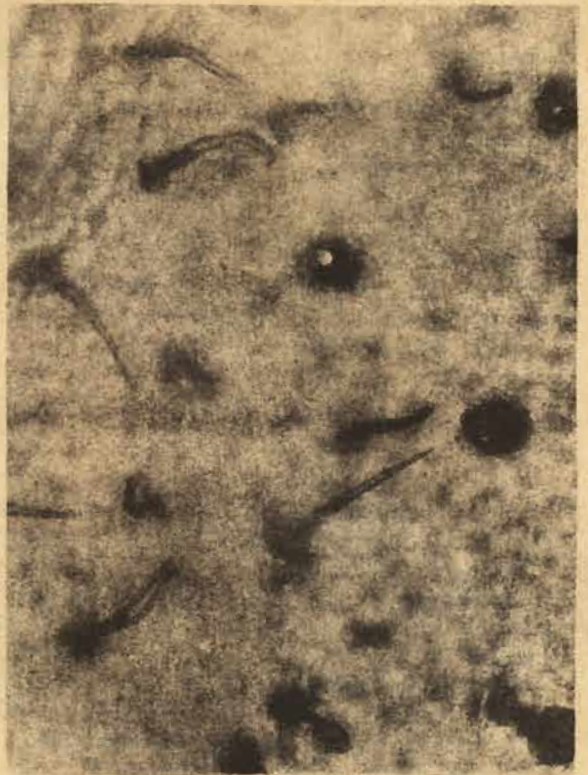


FOTO 18

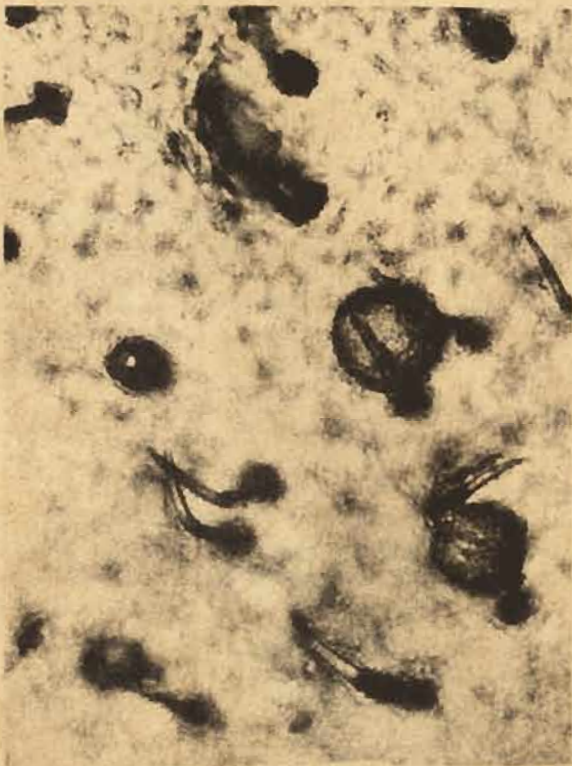


FOTO 19

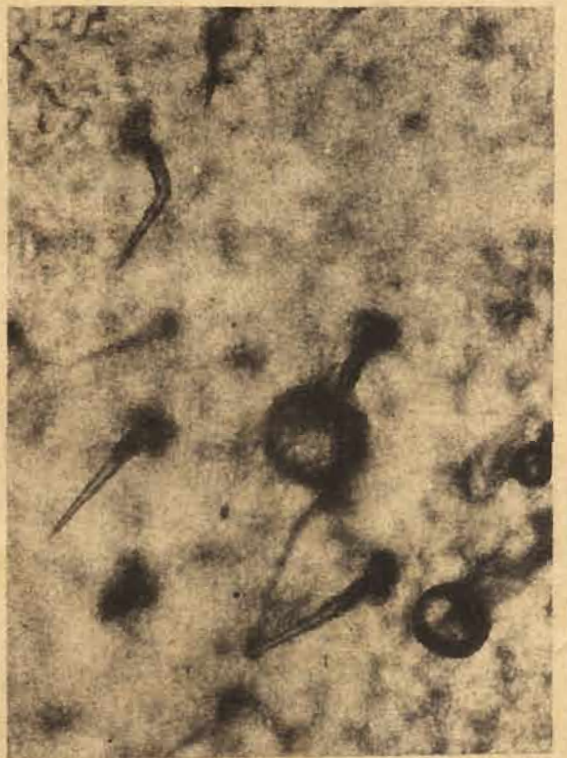


FOTO 20

REFERENCIAS

- CATALDO, D. A. ET AL. Amer. J. Bot. 61: 957-963, 1974.
FRANCKI, R. J. ET AL. Amer. J. Bot. 58: 14-18, 1971.
FRYNS-CLAESSINS AND W. VAN COTTEN. The Bot. Review. 39: 71-138, 1973.
JOHANSEN, D. A. Plant Microtechnique. New York Mc. Grau-Hill, 1940.
NARD, FEDER T. Plan Microtechnique; Some Principles and New Methods.
Amer. J. Hort, Soc. 55: 123-142, 1968.
PEREZ, F., Practicas de Fisiología Vegetal. La Habana, Pueblo y
Educación, 1976.
WALLIE, T. Microscopía Analítica. Zaragoza, Editorial Acribia, 1968.
ZELITCH, E. Replicas de acetato de celulosa (silicon). Amer. J. Bot. 59:
722-728, 1972.

ABSTRACT

A NEW TECHNIQUE TO OBTAIN MACROSCOPIC AND MICROSCOPIC LEAF REPLICATES BY MEANS OF PHENOL AND VINYL POLYACETATE

This research study was aimed at looking for a substance that enables to obtain leaf replicates without damaging its tissues. The present paper proves the possibility of obtaining leaf replicates from different plant species by means of phenol and vinyl polyacetate. It also deals with a technique applied for this purpose and its microscopic observation. Those replicates enable to determine the inner and outer leaf morphology as well as leaf area at any of its site or developing stage. Besides, this approach repltes microscopic irregularities of leaf surface, such as fungus spores or hyphas, provided this substance is not closely adhered or united to it.

Manuscrito recibido el 3/X/86.