

EFFECTO DE LA CONTAMINACIÓN AMBIENTAL EN LA ANATOMÍA DE LA HOJA DE *LIGUSTRUM LUCIDUM* (OLEACEAE)

GLORIA BRUNO¹, LAURA STIEFKENS¹, MIRIAM HADID¹, IRIS LISCOVSKY¹,
MARÍA TERESA COSA¹ y NILDA DOTTORI¹

Summary: Effects of the environmental pollution on the anatomy of *Ligustrum lucidum* (Oleaceae) leaf. «Siempreverde», cultivated in the downtown of Córdoba City, Prov. Córdoba, Argentina. The results are confronted with studies made in plants of the same species, which grow naturalized in distant areas without pollution. For it, fresh and conserved materials in FAA were used. The study of epidermis was made applying «the scraped» and the «peeling» techniques and replicas «in situ» were taken. The types and frequency of stomas and trichomes, and estomatic index were determined. The internal structure of leaf was studied in cross sections and colored with astral blue-safranina or with hematoxylin, saffranin and fast green. The leaf epidermis variables obtained in polluted and non-polluted areas were compared statistically. The results show that in the polluted areas, the frequency of stomas, trichomes and stomatic index of the leaf are higher than in not polluted areas; and a reduction in palisade parenchyma thickness respect to the spongy one in the mesophyll is observed in polluted leaf.

Key words: *Ligustrum lucidum*, environmental pollution, leaf, anatomy.

Resumen: El presente trabajo tiene por objetivo estudiar los efectos de la contaminación ambiental en la anatomía de la hoja de ejemplares de *Ligustrum lucidum* Aiton f. (Oleaceae) «siempreverde», cultivados en veredas del centro de la Ciudad de Córdoba, Prov. de Córdoba (Argentina). Los resultados son confrontados con estudios realizados en ejemplares de dicha especie, que crecen naturalizados en áreas no contaminadas distantes del centro de la Ciudad. Para ello, se utilizó material fresco y conservado en FAA. El estudio de la epidermis en vista superficial se realizó aplicando la técnica de «raspado» y la de peeling» y se tomaron improntas «in situ» de la epidermis adaxial y abaxial. Se determinaron los tipos y frecuencia de estomas y tricomas e índice de estomas. La estructura interna de la hoja se estudió en preparados de cortes transversales, temporarios, coloreados con azul astral-safranina y preparados permanentes, coloreados con hematoxilina, safranina y verde permanente. Se compararon estadísticamente las variables epidérmicas obtenidas entre las poblaciones de la zona poluta y no poluta. Los resultados ponen de manifiesto diferencias significativas entre la epidermis foliar de las plantas de ambientes contaminados y no contaminados; en las primeras es mayor la frecuencia de estomas y tricomas y el índice estomático. Asimismo, en los ejemplares de ambientes contaminados, se observa una reducción en el espesor del parénquima en empalizada respecto del esponjoso, independientemente del espesor de la misma.

Palabras clave: *Ligustrum lucidum*, contaminación ambiental, hoja, anatomía.

INTRODUCCIÓN

Ligustrum lucidum Aiton f. (Oleaceae) «siempreverde», es un árbol de 4 a 8 m de altura con hojas persistentes, originario de China y cultivado como ornamental (Dimitri, 1972) en parques y veredas

¹Laboratorio de Morfología Vegetal, Facultad de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales. Universidad Nacional de Córdoba. Avda. Vélez Sarsfield 299. 5000 Córdoba. Argentina. e-mail: stiefk@imbiv.unc.edu.ar

y para la formación de cercos vivos. Crece naturalizado en las sierras de Córdoba (Argentina) y compete con las especies nativas.

El follaje de los vegetales cumple un importante papel como receptor del polvo atmosférico y se ha comprobado que sirve como parámetro de referencia sobre el grado de contaminación del aire (Dalmasso *et al.*, 1997). El efecto perjudicial de los contaminantes atmosféricos, provoca obturación de estomas, reducción de la fotosíntesis y del crecimiento, y

modificaciones en la estructura de la hoja; estas alteraciones han sido puestas de manifiesto en numerosas especies (Inamdar & Chaudhari, 1984, Batti & Igbal, 1988; Silva *et al.*, 2000; Moraes *et al.*, 2000; Sant'Anna-Santos *et al.*, 2006). La respuesta de los vegetales a una agresión de este tipo, no depende sólo de la presencia del agente perturbador, sino que influyen decisivamente, el tiempo de exposición, la concentración, el volumen de contaminante absorbido por la planta en una unidad de tiempo, la especie, e incluso el estado general del individuo (Seoáñez Calvo, 1996).

El presente trabajo tiene como objetivo estudiar los efectos de la contaminación ambiental en la anatomía de la hoja de *Ligustrum lucidum*, cultivado en el centro de la Ciudad de Córdoba, Provincia de Córdoba. Los resultados son confrontados con estudios realizados en ejemplares de la misma especie, que crecen naturalizados en áreas no contaminadas. Los datos obtenidos serán un aporte de interés al conocimiento del impacto ambiental sobre la vegetación y de sus alteraciones y modificaciones en la estructura de la hoja.

MATERIALES Y MÉTODOS

Áreas de estudio

Se seleccionaron tres áreas de estudio una en el centro de la Ciudad de Córdoba y otras dos en la periferia de la Ciudad.

El área periférica corresponde a la Quebrada del Infiernillo: zona Parque del Chateau Carreras y a Villa Warcalde: zona Canal Maestro Sur. Las especies analizadas del centro de la Ciudad, se consideraron como muestras contaminadas por hallarse en una zona muy poluta; mientras que, las del Chateau Carreras y de Villa Warcalde fueron consideradas como testigos, por carecer supuestamente de contaminación estas dos últimas zonas.

Materiales

Los ejemplares de herbario de *Ligustrum lucidum* «siempreverde», se encuentran depositados en el Museo Botánico de Córdoba (CORD), con los siguientes datos:

Argentina: Prov. Córdoba: Dpto. Capital:

Parque San Martín, Chateau Carreras, 24-06-2006; L. Stiefkens 101, 107; Canal Maestro Sur, Villa Warcalde; 24-06-2006; L. Stiefkens 102, 108.

Centro de la Ciudad de Córdoba; Calle Independencia 0-100, 24-06-2006; L. Stiefkens 103;

Calle Vélez Sarsfield 0-100, 24-06-2006; L. Stiefkens 104; Calles Santa Rosa y Rivera Indarte 24-06-2006, L. Stiefkens 105; Calles Marcelo T. de Alvear y 9 de Julio, 24-06-2006; L. Stiefkens 106.

Método

Se muestrearon 10 árboles del centro de la Ciudad y 10 de las zonas testigo; de cada árbol se analizaron 10 hojas. Para el análisis epidérmico, se seleccionaron en cada hoja 5 campos de 0,026 mm², haciendo un total de 50 campos para cada árbol.

En todos los casos se utilizó material fresco o conservado en FAA. Para el estudio de la epidermis en vista superficial se aplicaron las técnicas de «raspado» y de «peeling» (D' Ambrogio de Argüeso, 1993); además, se tomaron improntas «in situ» de porciones de epidermis adaxial y abaxial, utilizando esmalte incoloro. Se determinaron la frecuencia y tipos de estomas e índice de estomas y frecuencia y tipo de tricomas.

La estructura del mesofilo se estudió en cortes transversales por hojas de tamaños similares e igual posición en la rama. Se realizaron preparados temporarios, coloreados con azul astral y safranina y preparados permanentes. Para estos últimos el material conservado, se deshidrató en serie de alcohol etílico y xilol y se lo incluyó en histoplast. Los cortes microtómicos de 10 a 15 µm de espesor se colorearon con hematoxilina activada, safranina y verde permanente (Conn *et al.*, 1960).

Se compararon estadísticamente las variables epidérmicas obtenidas entre las poblaciones de las zonas polutas y no polutas, mediante el programa «SPSS» (release 6.0 for Windows, SPSS Inc., 1993). Se efectuó la prueba de ANOVA, con el objeto de determinar si existían diferencias significativas entre ellas (Scheffé, 1959; Sokal & Rohlf, 1981).

RESULTADOS

Epidermis en vista superficial: Las células epidérmicas propiamente dichas en ambas caras de la hoja, son pequeñas, isodiamétricas o ligeramente alargadas, de paredes anticlinales rectas a levemente onduladas y cutícula gruesa y estriada.

Los estomas, tipo anomocítico (Fig. 1 A y B), se distribuyen sin ningún orden preferencial, únicamente en el hipofilo. Hay un solo tipo de tricoma, glandular con pie unicelular (Fig. 1 C) y cabezuela pluricelular, con hasta ocho células dispuestas todas

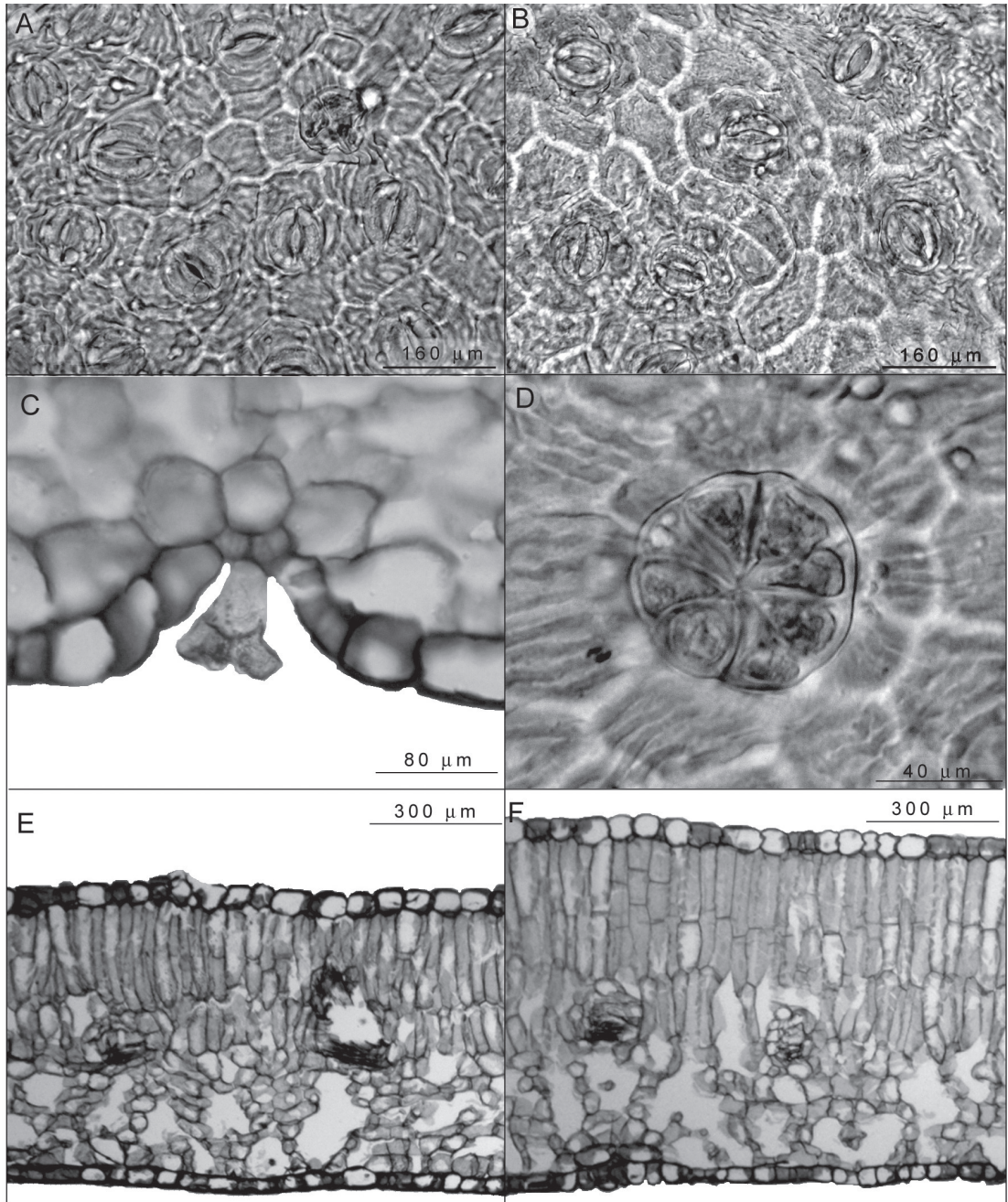


Fig. 1. *Ligustrum lucidum*: **A, C, D y E** (L. Stiefkens 103); **B, F** (L. Stiefkens 101). **A y B**: epidermis foliar cara abaxial, en vista superficial, de ejemplares polutos y no polutos respectivamente; se observa en el primero mayor número de estomas. **C y D**: tricomas de la epidermis foliar cara abaxial, en corte transversal y vista superficial respectivamente, de ejemplar poluto; se observa en **C** el pie hundido y en **D** la cabezuela glandular pluricelular. **E y F**: cortes transversales por lámina foliar de ejemplares de áreas contaminadas y no contaminadas respectivamente; se observa en la primera, reducción del parénquima en empalizada.

perpendiculares al pie (Fig. 1 D).

Anatomía de la lámina foliar: En sección transversal es comprimida. Consta de epidermis

unistrata y cutícula gruesa; los estomas se ubican al mismo nivel o sobresalen ligeramente de la superficie epidérmica y los tricomas, se introducen en el mesofilo

sobresaliendo sólo la cabezuela (Fig. 1 C y D).

El mesofilo es dorsiventral, presenta, hacia la cara adaxial, 2 ó 3 estratos de parénquima en empalizada y hacia la cara abaxial se diferencian 4-5 estratos de parénquima esponjoso (Fig. E y F).

El análisis comparativo de los ejemplares cultivados en el centro de la Ciudad de Córdoba, afectados por la polución ambiental, provocada principalmente por el tránsito vehicular y de los ejemplares que crecen naturalizados en la periferia de la Ciudad, puso de manifiesto modificaciones en la estructura foliar.

En las hojas de plantas de ambientes polutos (Fig. 1 A), se observó que es mayor la frecuencia de estomas por mm² y el índice estomático que en las hojas de plantas no polutas (Fig. 1 B) y algunos estomas presentan el ostiolo obstruido por partículas sólidas. En cambio, el número de células epidérmicas propiamente dichas no varió significativamente. En

cuanto a los tricomas, también es mayor el número en el hipofilo de los ejemplares de zonas polutas que en las no polutas; pero no varió significativamente el número de tricomas en el epifilo. Asimismo, hay variaciones en la relación entre ambos parénquimas del mesofilo; en las plantas que crecen en ambientes polutos es menor el desarrollo del parénquima en empalizada (Fig. 1 E) respecto del esponjoso que en aquellas de áreas no polutas (Fig. 1 F), independientemente del espesor de la lámina.

Los resultados obtenidos se sintetizan en la Tabla 1.

Cuando se comparan estadísticamente las variables epidérmicas de las hojas de plantas sometidas a polución ambiental con las de áreas no polutas, se evidencian diferencias significativas en la frecuencia de estomas, índice de estomas y frecuencia de tricomas; estos resultados se muestran en la Tabla 2.

Tabla 1. Comparación de la lámina de la hoja de *L. lucidum*, en vista superficial y en corte transversal correspondientes a ejemplares de zonas polutas y no polutas.

<i>Ligustrum lucidum</i>	Áreas polutas	Áreas no polutas
Características de la hoja		
Frecuencia de estomas por mm ² en cara abaxial	581	370
Frecuencia de células epidérmicas por mm ² en cara abaxial	3357	3003
Índice de estomas en cara abaxial	17,30	12,32
Frecuencia de tricomas por mm ² en cara abaxial	29	14
Relación: parénquima en empalizada / esponjoso en c/t	menor desarrollo de tejido en empalizada que esponjoso	mayor desarrollo de tejido en empalizada que esponjoso

Tabla 2. Comparación de tres variables epidérmicas de la hoja para la zona polutas y no polutas, por análisis de varianza (ANOVA) para un p < 0.05. gl = grados de libertad. * Diferencias estadísticamente significativas.

Variabes	Gl	F	p
Frecuencia de estomas	1	38,49	0,0001*
Frecuencia de células epidérmicas propiamente dichas	1	3,23	0,1
Índice estomático	1	46,13	<0,0001*
Frecuencia de tricomas	1	40,55	<0,0001*

DISCUSIÓN Y CONCLUSIONES

La anatomía de las hojas de *L. lucidum*, pone en evidencia algunas particularidades que son propias de xerófitos, entre ellas: la presencia de células epidérmicas pequeñas, cutícula gruesa y paredes anticlinales rectas o ligeramente onduladas (Pyykkö, 1979; Fahn & Cutler, 1992), ello contribuiría a soportar diversas situaciones de estrés.

Estudios realizados acerca del efecto de la polución ambiental, sobre la frecuencia de estomas y tricomas, demostró diferentes resultados según las especies. Es así que (Patel & Devi, 1985), sostienen que cuando la epidermis está protegida por tricomas, la frecuencia de estomas disminuye, ya que ellos actúan como un filtro evitando el ingreso de partículas por los estomas. Esto se vio en ejemplares de áreas contaminadas de *Pueraria lobata* Willd. y de *Peristrophe bicaliculata* Nees (Sharma *et al.*, 1980; Inamdar & Chaudhari, 1984). En *L. lucidum*, los resultados obtenidos del análisis de la frecuencia de estomas pone de manifiesto en cambio, un aumento en el número de estomas por mm² en los ejemplares polutos; esto concuerda con lo señalado por Sharma & Butler (1973) en *Trifolium repens* L. y por Patel & Devi (1985) en *Lantana camara* L., *Tamarindos indica* L. y *Ficus benghalensis* L., entre otras especies. El aumento en el número de estomas, en ejemplares de ambientes polutos de *L. lucidum*, se debe posiblemente a que los tricomas no cumplen la función de protección ya que son escasos, de tipo glandular y además hundidos en el mesófilo.

Cambios en la forma y estructura celular en hojas de áreas polutas han sido señalados en numerosas especies. En *Euphorbia hirta* L., hay reducción en el espesor de la cutícula y disminución en el tamaño de las células de la epidermis, de la hipodermis y del parénquima en empalizada (Gupta & Ghouse, 1988). En *Ficus benghalensis*, Jahan & Iqbal (1992), mostraron que es significativa la reducción del parénquima esponjoso. Mientras que Iqbal (1985), encontró en las hojas de *Trifolium repens* una notable reducción del parénquima en empalizada. Nuestras observaciones en *L. lucidum*, igual que en *T. repens*, mostraron reducción del parénquima en empalizada en los ejemplares de ambientes polutos, no detectándose otra modificación ni necrosis celular como en las hojas de *Genipa americana* L. (Sant' Anna-Santos *et al.*, 2006). Es posible que en la especie aquí analizada el efecto negativo producido por la contaminación, que afecta directamente a la fotosíntesis, estuviera compensado por el aumento

en el número de estomas.

Conforme a nuestros resultados *L. lucidum*, reuniría las características de una especie vegetal para ser reconocida como buen indicador de contaminación (Seoáñez Calvo, 1996), ya que es abundante, presenta hojas perennes y además, tiene una sensibilidad significativa, reaccionando con síntomas reconocibles en su anatomía, que indicarían calidad del aire.

AGRADECIMIENTOS

Agradecemos a la Biól. Liliana Argüello por sus sugerencias; a la Biól. Nora Pericola† por contribuir con sus observaciones y a quién recordamos con afecto; a la Srta. Julieta Chehda por el diseño y armado de la lámina. A la Secretaría de Ciencia y Técnica de la Universidad Nacional de Córdoba por el apoyo económico brindado.

BIBLIOGRAFÍA

- BATTI, G. H. & IGBAL, M. Z. 1988. Investigations into the effect of automobile exhausts on the phenology, periodicity and productivity of some roadside trees. *Acta Soc. Bot. Poloniae*, p 57.
- CONN, H. J., DARROW, M. A. & EMMEL, V. M. 1960. *Staining procedures* I-XII. Williams and Wiltings, Baltimore, Maryland.
- DALMASSO, A., CANDIA, R. & LLERA, J. 1997. La vegetación como indicador de la contaminación por polvo atmosférico. *Muldequina* 6: 91-97.
- D'AMBROGIO de ARGÜESO, A. 1986. *Manual de Técnicas en Histología Vegetal*. 1° ed. I-II, 1-83. Ed Hemisferio Sur S.A., Argentina.
- DIMITRI, R. 1972. *Enciclopedia Argentina de Agricultura y Jardinería* 2da ed. 1-1028. Ed. Acme. Buenos Aires.
- FAHN, A & CUTLER, D. F. 1992. *Xerophyte*. 1-176. Stuttgart., Berlin.
- GUPTA, M. C. & GHOUSE, A. K. M. 1988. Effects of coal smoke pollutants from different sources in the growth, chlorophyll content, stem anatomy and cuticular traits of *Euphorbia hirta* L. *Environ. Pollut.* 47: 221-230.
- INAMDAR, J. A. & CHAUDHARI, G. S. 1984. Effects of environmental pollution on leaf epidermis and leaf architecture of *Peristrophe bicalyculata*. *J. Pl. Anat. Morph.* 1: 1-8.
- IQBAL, M. Z. 1985. Cuticular and anatomical studies of white clover leaves from clean and air-polluted areas. *Pollut. Res.* 4: 59-61.
- JAHAN, S. & IQBAL, M. Z. 1992. Morphological and anatomical studies of leaves of different plants affected by motor vehicles exhaust. *J. Islamic Acad. Sci.* 5: 1: 21-23.

- MORAES, R. E., CARVALHO DELITTI, W. B. & PROENCA VIEIRA DE MORAES, J. A. 2000. Respostas de individuos jóvenes de *Tibouchina pulchra* Cogn. à poluição aéreas de Cubatão, SP: fotossíntese líquida, crescimento e química foliar. *Revista Bras. Bot.* 23: 443-449
- PATEL, J. D. & DEVI, G. S. 1985. Studies on leaf epidermis of some Angiosperm species growing under pollution stress of a fertilizer complex. *J. Pl. Anat. Morph.* 2: 1-10.
- PYYKKÖ, M. 1979. Morphology and anatomy of leaves of some woody plants in a humid tropical forest of Venezuelan Guayana. *Acta Bot. Fenn.* 112: 1-41.
- SANT'ANNA-SANTOS, B. F., CAMPOS DA SILVA, L., AZEVEDO, A. A. & AGUILAR, R. 2006. Effects of simulated acid rain on leaf anatomy and micromorphology of *Genipa americana* L. (Rubiaceae). *Brazilian Arch. Biol. Techn.* 49: 313-321.
- SCHEFFÉ, H. 1959. *The Analysis of Variance*. Ed. John Wiley; New York.
- SEOÁNEZ CALVO, M. 1996. *Ingeniería del medio ambiente aplicada al medio natural continental*. 1-701. Ed. Mundi-Prensa, Madrid.
- SHARMA, G. K. & BUTLER, J. 1973. Leaf cuticular variations in *Trifolium repens* L. as indicators of environmental pollution. *Environ. Pollut.* 5: 287-293.
- SHARMA, G. K., CHANDLER, C. & SALAMI, L. 1980. Environmental pollution and leaf cuticular variation in Kudzu (*Pueraria lobata* Willd.). *Ann. Bot.* 45: 77-80.
- SILVA, L. C., AZEVEDO, A. A., MONTERIRO DA SILVA, E. A. & OLIVA, M. A. 2000. Flúor em chuva simulada: sintomatologia e efeitos sobre a estrutura foliar e o crescimento de plantas arbóreas. *Revista Bras. Bot.* 23: 385-393.
- SOKAL, R. R. & ROHLF, F. J. 1981. *The Principles and Practice of Statistic in Biological Research*. Ed. Freeman and Co., San Francisco.

Recibido el 13 de Diciembre de 2006, aceptado el 23 de Octubre de 2007.