

EFECTOS DE LA CONTAMINACIÓN AMBIENTAL SOBRE LA ANATOMÍA DE LA HOJA DE *Celtis ehrenbergiana* (CELTIDACEAE) EN LA CIUDAD DE LA PLATA (ARGENTINA)

ENVIRONMENTAL POLLUTION EFFECTS ON LEAF ANATOMY OF *Celtis ehrenbergiana* (CELTIDACEAE) IN LA PLATA CITY (ARGENTINA)

Fecha de recepción: 10/04/2016 // Fecha de aceptación: 21/12/2016

Marcelo Hernández

Jefe de Trabajos Prácticos de Sistemática Vegetal, FCAyF, UNLP

Docente-Investigador del Lab. de Morfología Comparada de Espermatófitas (LAMCE), Departamento de Ciencias Biológicas, Facultad de Ciencias Agrarias y Forestales (FCAyF), Universidad Nacional de La Plata (UNLP) mphciencia@yahoo.com

Ana Arambarri

Profesora Titular de Morfología Vegetal, FCAyF, UNLP

Docente-Investigador del Lab. de Morfología Comparada de Espermatófitas (LAMCE), Departamento de Ciencias Biológicas, Facultad de Ciencias Agrarias y Forestales (FCAyF), Universidad Nacional de La Plata (UNLP) anaramba@yahoo.com.ar

Leandro Nughes

Estudiante de Ingeniería Agronómica, FCAyF, UNLP

RESUMEN

Se presenta el estudio de los efectos de la contaminación ambiental sobre la estructura de la hoja de *Celtis ehrenbergiana* (Klotzsch) Liebm. "tala" (Celtidaceae). Los árboles analizados fueron de áreas contaminadas (sector urbano de la ciudad de La Plata) y se confrontaron con los datos obtenidos en árboles que crecen en áreas no contaminadas (sector rural de Los Talas, Berisso) (Buenos Aires, Argentina). Se recolectaron hojas de la parte media de la copa, las que se emplearon para establecer la densidad por unidad de superficie (d/mm^2) y tamaño (μm) de las células epidérmicas y estomas; la densidad de tricomas sobre ambas caras de la lámina y el índice estomático. En cortes transversales de la lámina, se estudió la estructura e identificó almidón. Los datos fueron analizados con técnicas básicas de estadística. Las diferencias significativas entre la muestra urbana y rural fueron: en la primera, un incremento de la frecuencia de las células epidérmicas en la cara abaxial y del espesor de la lámina foliar,

SUMMARY

A study about the environmental pollution effects on the leaf structure of *Celtis ehrenbergiana* (Klotzsch) Liebm. "Desert hackberry" (Celtidaceae) is presented here. The trees analyzed were from polluted areas (urban area of La Plata city) and they were compared with data from trees growing in unpolluted areas (rural area of Los Talas, Berisso) (Buenos Aires, Argentina). Leaves from the middle part of the crown were collected. They were used to establish the density per unit area (d / mm^2) and size (μm) of epidermal cells and stomas. Trichomes density on both sides of leaf-blade, and stomatal index also were determined. In leaf-blade cross-sections, the structure was studied and starch was identified. Data were analyzed with basic statistical techniques. The urban sample showed significant differences compared with the rural sample, in the first an increase in the frequency of epidermal cells on the abaxial face and the thickness of the leaf blade, and a high starch concentration in the mesophyll was found. These parameters could be used as a

en cuyo mesofilo se encontró alta concentración de almidón, parámetros que podrían ser utilizados como bioindicador de polución ambiental.

Palabras clave: almidón, ambiente, *Celtis ehrenbergiana*, contaminación, estructura foliar.

bioindicator of environmental pollution.

Key words: *Celtis ehrenbergiana*, environment, leaf-blade structure, pollution, starch.

INTRODUCCIÓN

Celtis ehrenbergiana (Klotzsch) Liebm. “tala” (Celtidaceae), es un arbusto o arbolito de 3-10 (-20) m de altura con el tronco tortuoso, la corteza delgada y ramas flexuosas. Las hojas son simples, con filotaxis alterna. Es una especie de follaje caduco (MURRIELLO *et al.* 1993), con amplia distribución geográfica, hallándose en Brasil, Paraguay y Uruguay y en el centro-norte de la Argentina (ZULOAGA *et al.* 2008). En la provincia de Buenos Aires, tiene hábito gregario y ribereño, donde aún quedan sectores naturales de talaes y en la ciudad de La Plata se encuentra en algunas veredas y parques.

En la ciudad es donde los árboles están sometidos a diversas situaciones de estrés, tales como la reducción de la radiación solar por las partículas en suspensión, la contaminación provocada por el tránsito vehicular e industrial que conjuntamente con otros factores inciden sobre el desarrollo de los tejidos, estructura y fisiología de las hojas (WOODWARD 1987; BATTI Y IGBAL 1988; DALMASSO *et al.* 1997; PATRA Y SHARMA 2000; ROYER 2001; BRUNO *et al.* 2007; STIEFKENS *et al.* 2007; ARRIAGA *et al.* 2014). Las dimensiones de las células epidérmicas y estomas, su frecuencia, el espesor de las paredes celulares y la alteración de las ceras protectoras y cloroplastos son algunos de los cambios estructurales derivados de los ambientes polutos (MHATRE Y CHAPHEKAR 1985; WOODWARD Y BAZZAZ 1988; RAO Y DUBEY 1991; SRIVASTAVA 1999).

CHRISTODOULAKIS Y FASSEAS (1990) y CHRISTODOULAKIS Y KOUTSOGEORGOPOULOU (1991), mostraron que así como las especies desarrollan cambios de adaptación al estrés provocado por las estaciones secas, también poseen la habilidad de adaptarse y tolerar condiciones de contaminación del ambiente. Dada la sensibilidad de las plantas a la contaminación ambiental, los cambios producidos en ellas podrían ser utilizados como indicadores de la calidad del ambiente (RANI *et al.* 2006; ARRIAGA *et al.* 2014). De acuerdo con estos antecedentes se propone analizar los cambios histológicos y estructurales de la hoja de ejemplares de *Celtis ehrenbergiana* cultivados en la ciudad de La Plata y confrontar estos resultados con

ejemplares que crecen en los talaes, áreas no contaminadas. Se espera realizar un aporte al conocimiento de caracteres que podrían ser utilizados como indicadores de contaminación ambiental, así como sumar a la plasticidad fenotípica de la especie demostrada por NUGHES *et al.* (2013), conocimiento sobre la capacidad adaptativa de la misma al ambiente urbano.

MATERIALES Y MÉTODOS

Áreas de estudio

Se eligieron dos áreas de estudio, la de árboles cultivados en las veredas sobre Av. 60 y Av. 122 con alto tránsito vehicular, en la ciudad de La Plata, considerada como zona urbana contaminada y otra en un talar de la localidad Los Talas, Partido de Berisso, considerada zona rural no contaminada, ambas ubicadas en la provincia de Buenos Aires, Argentina. También se analizó un ejemplar en situación intermedia tratada desde ahora como zona “suburbana”, cultivado en el Jardín Botánico y Arboretum “C. Spegazzini”, Facultad de Ciencias Agrarias y Forestales, UNLP.

Materiales estudiados

En diciembre de 2013 y 2014 de los árboles de la zona urbana, suburbana y rural, se recolectaron ramas con hojas de la parte media de la copa y con orientación noreste. Parte del material se herborizó y depositó en el herbario del Área de Botánica, Facultad de Agronomía de la Universidad Nacional de La Plata. 10 y 11-XII-2013, Hernández MP 146i, j, k y l (LPAG).

Análisis macroscópico

Con la finalidad de visualizar las impurezas presentes o no, en cada muestra, en el mismo día de recolección, se pesaron 10 g de hojas de cada ejemplar, se sumergieron en 200 mL de agua destilada en vaso de precipitado, agitándolo en varias oportunidades con varilla de vidrio. Para evitar la incorporación de impurezas se mantuvieron tapados durante todo el proceso. A las 24 h, se retiraron las hojas y agitó el líquido hasta lograr una mezcla homogénea, de la cual se tomó una alícuota con pipeta de Pasteur llenando tubos de ensayos etiquetados para

cada muestra. Los tubos se dejaron en reposo durante 24 h para lograr el precipitado de la solución. Los tubos de ensayo con los precipitados de impurezas de la zona urbana, suburbana y rural fueron fotografiados con cámara digital Sony DSC-W30. Con la finalidad de establecer la correlación entre el resultado del depósito de impurezas y el color de las hojas, estas también fueron fotografiadas y se muestran en la Fig. 1A-D.

Los datos meteorológicos fueron proporcionados por el personal del Departamento de Sismología e Información Meteorológica, Facultad de Ciencias Astronómicas y Geofísicas, Universidad Nacional de La Plata (Tabla 1).

Tabla 1. Valores medios mensuales de temperatura (°C), humedad relativa (%); presión atmosférica (Hpa); velocidad del viento (km/h) y Lluvias (mm) en diciembre de 2013 y 2014.

Table 1. Monthly average values of temperature (°C), RH (%), atmospheric pressure (Hpa), wind speed (km/h), and rains (mm) in December 2013 and 2014

Mes	Temp. °C	Hum. %	Pres. Hpa	Vel. Km/h	Lluv. mm
2013 Diciembre	24,9	69,9	1010,1	12,1	16
2014 Diciembre	22,2	71	1011,8	12,1	48,6

Análisis microscópico

Hojas frescas fueron fijadas en FAA 70% (JOHANSEN 1940). Para el estudio de la epidermis en vista superficial, las hojas se diafanizaron a temperatura ambiente (método ensayado en el Laboratorio de Morfología Comparada de Espermatofitas, Facultad de Ciencias Agrarias y Forestales, UNLP). Para ello, el material fue sumergido en una mezcla por partes iguales de hidróxido de sodio (NaOH) al 5% e hipoclorito de sodio (NaOCl) al 5%, cuando alcanzaron suficiente decoloración se completó la misma con NaOCl al 50% y luego de lavarlas varias veces en agua destilada, se dejaron 24 h en hidrato de cloral para alcanzar una completa clarificación. Los materiales diafanizados se colorearon con safranina alcohólica 80% y montaron con gelatina-glicerina. Para el estudio de la estructura interna se realizaron cortes transversales a mano alzada, en la parte media de la lámina, los mismos fueron seleccionados y decolorados con NaOCl al 50%, luego de lavarlos con agua destilada hasta eliminar el NaOCl, algunos se trataron con el reactivo lugol (IKI) para identificar almidón (D'AMBROGIO DE ARGÜESO 1986). En la vista en superficie de las hojas transparentes se hicieron los recuentos de las células epidérmicas, estomas y tricomas sobre ambos

semilimbos en cuatro campos ópticos de la cara adaxial y cuatro en la cara abaxial. No se consideraron aquellas células, estomas o tricomas ubicados en el borde del campo. Estos datos permitieron establecer la densidad de los mismos, expresada por unidad de superficie (d/mm^2) y el índice estomático (IE%). Para el cálculo de IE se empleó la fórmula de SALISBURY (1927): $[(no. de estomas/no. de estomas + no. de células epidérmicas) \times 100]$. Las imágenes se lograron con un microscopio Gemalux equipado con cámara Motic 2.0 con software Motic Image Plus 2.0. El mismo software fue utilizado para obtener las medidas de longitud y latitud de las células epidérmicas y estomas en vista superficial y las medidas de espesor de la epidermis adaxial, abaxial, mesofilo y lámina, en corte transversal. La totalidad de las medidas fueron expresadas en micrómetros (μm).

Análisis estadístico

Sobre los datos de densidad de células epidérmicas, estomas y tricomas de la cara abaxial y el espesor de las láminas se aplicó el análisis de varianza (ANOVA). Asimismo se realizó la prueba de Tukey de comparación múltiple de las medias para obtener grados de significancia ($P < 0.05$) (Tablas y Gráficos 1-3, 5) Los análisis fueron realizados con el software Statistica 7.0 para Windows.

RESULTADOS

Las hojas de *Celtis ehrenbergiana* son brevemente pecioladas con la lámina aovado-asimétrica, de tamaño variable de 2,5-6,0 cm long. x 0,9-2,5 cm lat., con el margen entero y aserrado hasta dentado en la mitad distal. En ambas caras presenta indumento formado por tricomas glandulares y eglandulares con cistolito basal. Su consistencia y color varían con la exposición a la luz, pero es notable que en los ejemplares del área urbana y suburbana presentaron en la misma época un color verde muy oscuro; en el área urbana y suburbana hubo ataque del ácaro *Eriophyes* (Eriophyidae) pero este fue intenso en el área suburbana, mientras que en el área rural las hojas mostraron un color verde claro y no se observó la acción del arácnido. El color verde oscuro de las hojas fue coincidente con un mayor y más oscuro depósito de impurezas en las muestras del área urbana (Fig. 1A, B; Av. 122 y Av. 60).

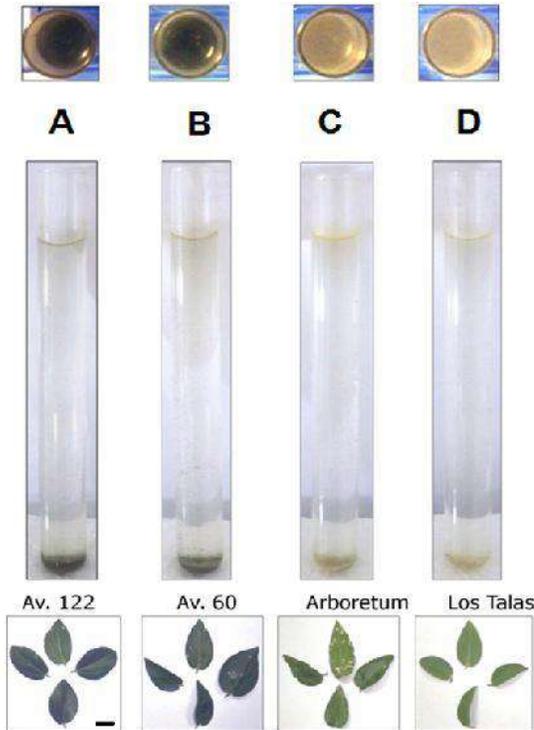


Fig. 1A-D: Tubos de ensayo mostrando el depósito de impurezas que se obtuvo en cada muestra, color más oscuro indica mayor contaminación. A, B, área urbana: A, Avenida 122; B, Avenida 60. C, área suburbana: Arboretum. D, área rural: Los Talas. Siguiendo en columna, debajo de cada tubo están las fotos de las hojas, en vista adaxial y abaxial, mostrando color verde oscuro las del área urbana que coincide con el mayor depósito de partículas. En la muestra Arboretum, suburbana, se observa con mayor intensidad el síntoma causado por el ácaro (puntos blancos en superficie) y en la columna de Los Talas, las hojas verde claro y limpias del área rural. Escala: 1 cm.

Fig. 1A-D. The test tubes showing the deposit of impurities that were obtained in each sample, darker color indicates greater contamination. A, B, urban area: A, Avenue 122; B, Avenue 60. C, suburban area: Arboretum. D, rural area: Los Talas locality. Dark color indicated more contamination in the test tubes. Following in column, below each tube there are photographs of the leaves, in adaxial and abaxial surface view, showing dark green color the ones from the urban area that coincides with the largest deposit of particles. The symptom caused by mite may be seen in suburban (Arboretum) sample (white spotted surfaces), and in the column from Los Talas, a clean and clear green color in leaves from rural area are observed. Scale bar: 1 cm.

Epidermis en vista superficial

La epidermis adaxial de la muestra urbana mostró la persistencia de partículas adheridas, aún después de los tratamientos para su diafanización y preparación, mientras que una epidermis adaxial limpia se halló en la muestra rural (Fig. 2A, B).

Las células epidérmicas de la cara adaxial son siempre de mayor tamaño que las de la cara abaxial. En general, en la cara adaxial son isodiamétricas o ligeramente alargadas, con paredes anticlinales rectilíneas, mientras que en la epidermis abaxial son ligeramente onduladas y con frecuencia con la cutícula estriada.

En los ejemplares del área urbana las células epidérmicas de la cara adaxial resultaron de mayor tamaño y algo más alargadas ($43,47 \times 30,25 \mu\text{m}$), que las más pequeñas e isodiamétricas ($35,45 \times 28,73 \mu\text{m}$) de los ejemplares del área rural. Sin embargo, las diferencias de tamaño de las células epidérmicas no son significativas.

En la muestra urbana, la densidad de las células epidérmicas ($1120,69 \text{ d/mm}^2$) en la cara adaxial sufrió reducción frente a la muestra rural ($1248,27 \text{ d/mm}^2$), mientras que en la cara abaxial hubo un incremento en la frecuencia de células epidérmicas en el área urbana ($4110,34 \text{ d/mm}^2$) respecto al área rural ($2303,45 \text{ d/mm}^2$). El incremento de densidad de células epidérmicas en la cara abaxial en el área urbana es significativa (Tabla 2, Gráfico 1).

Las hojas de todas las muestras fueron hipostomáticas, los estomas son de tipo anomocítico, ocasionalmente anisocíticos, muy variables en forma, desde redondeados hasta alargados. En la epidermis abaxial se encontró un incremento en la densidad promedio de estomas ($334,48 \text{ d/mm}^2$) en las muestras del área urbana con respecto al área rural ($227,59 \text{ d/mm}^2$). Sin embargo, desde el punto de vista estadístico esta diferencia no es significativa (Tabla 3, Gráfico 2). De igual manera tampoco es significativa la diferencia de tamaño de los estomas.

El índice estomático fue uniformemente menor en los ejemplares del área urbana (7,34%) en contraste con el área rural (9,19%).

Ambas epidermis son pubescentes. La frecuencia de los tricomas glandulares, no varió significativamente entre las muestras. En la densidad por unidad de superficie de los tricomas eglandulares se halló una reducción en ambas epidermis de la muestra urbana (epidermis adaxial: $36,21$; epidermis abaxial: $22,41 \text{ d/mm}^2$) respecto a la muestra rural (epidermis adaxial: $48,27$; epidermis abaxial: $39,65 \text{ d/mm}^2$), sin embargo, esta diferencia no es significativa (Tabla 4, Gráfico 3).

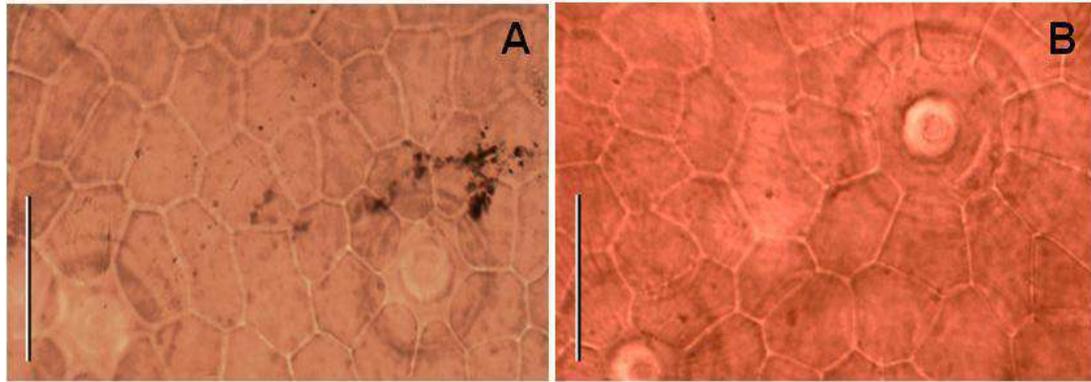


Figura 2. Epidermis adaxial en vista superficial. *Celtis ehrenbergiana*. A, muestra urbana (Av. 122) con partículas de suciedad adheridas; B, muestra rural (Los Talas) con la superficie limpia. Escalas: A, B, 300 μm .

Figura 2. Adaxial epidermis in surface view. *Celtis ehrenbergiana*. A, urban sample (Av. 122), with adhered dirty particles; B, rural sample (Los Talas), clean surface. Scale bars: A, B, 300 μm .

Tabla 2. Test de Tukey para densidad de células epidérmicas en la cara abaxial (d/mm^2).

Table 2. Tukey test for epidermal cells density in the abaxial surface (d/mm^2).

ÁREA	7110,6	4384,8
URBANA		0,000118
RURAL	0,000118	

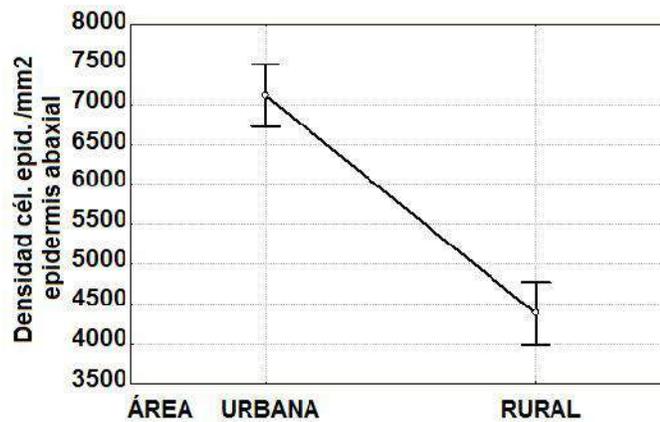


Gráfico 1. En el ambiente urbano, el incremento de la frecuencia de células epidérmicas en la cara abaxial de la lámina es significativo.

Graphic 1. In the urban environment, the increased frequency of epidermal cells on the abaxial side of the leaf-blade is significant.

Tabla 3. Test de Tukey para densidad de estomas (d/mm^2).
Table 3. Tukey test for stomas density in the abaxial surface (d/mm^2).

ÁREA	681,06	672,72
URBANA		0,829335
RURAL	0,829335	

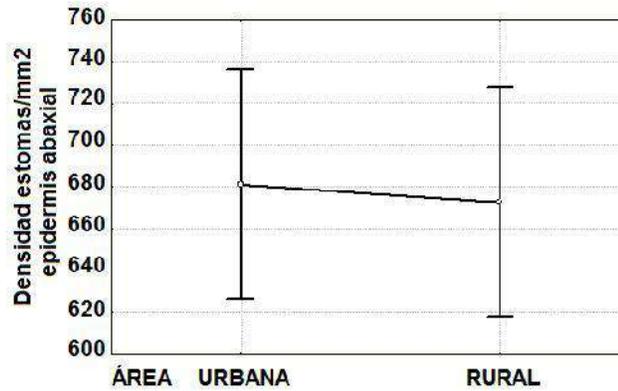


Gráfico 2. En el ambiente urbano, el incremento de la frecuencia de estomas en la cara abaxial de la lámina no es significativo.

Graphic 2. In the urban environment, the increased frequency of stomata on the abaxial side of the leaf-blade is not significant.

Tabla 4. Test de Tukey para densidad de tricomas (d/mm^2).
Table 4. Tukey test for trichomes density in the abaxial surface (d/mm^2).

ÁREA	66,668	77,321
URBANA		0,135814
RURAL	0,135814	

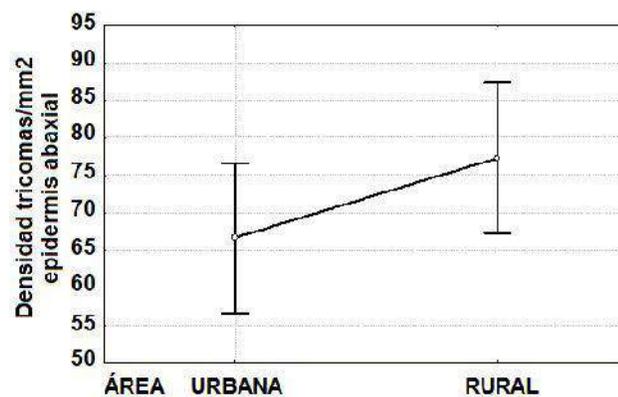


Gráfico 3. En el ambiente urbano, la reducción de la frecuencia de tricomas en la epidermis abaxial no es significativa.

Graphic 3. In the urban environment, the decreased frequency of trichomes on the abaxial side of the leaf-blade is not significant.

Estructura de la lámina en corte transversal

Presenta ambas epidermis uniseriadas, con espesor mayor en la cara adaxial que abaxial. El espesor de las epidermis fue notablemente mayor en las especies procedentes del área contaminada en contraste con el área rural. El mesofilo de la hoja de *C. ehrenbergiana* es variable en su estructura de acuerdo a las condiciones de luminosidad. En los ejemplares

analizados la estructura del mesofilo no presentó variación marcada, manteniéndose en una estructura dorsiventral con tendencia a empalizada. El análisis comparativo de los ejemplares de ambas áreas puso en evidencia un incremento significativo del espesor del mesofilo y espesor total de la lámina en las hojas de las plantas de áreas contaminadas (Fig. 3A, B) (Tabla 5, Gráfico 4; Tabla 6, Gráfico 5).

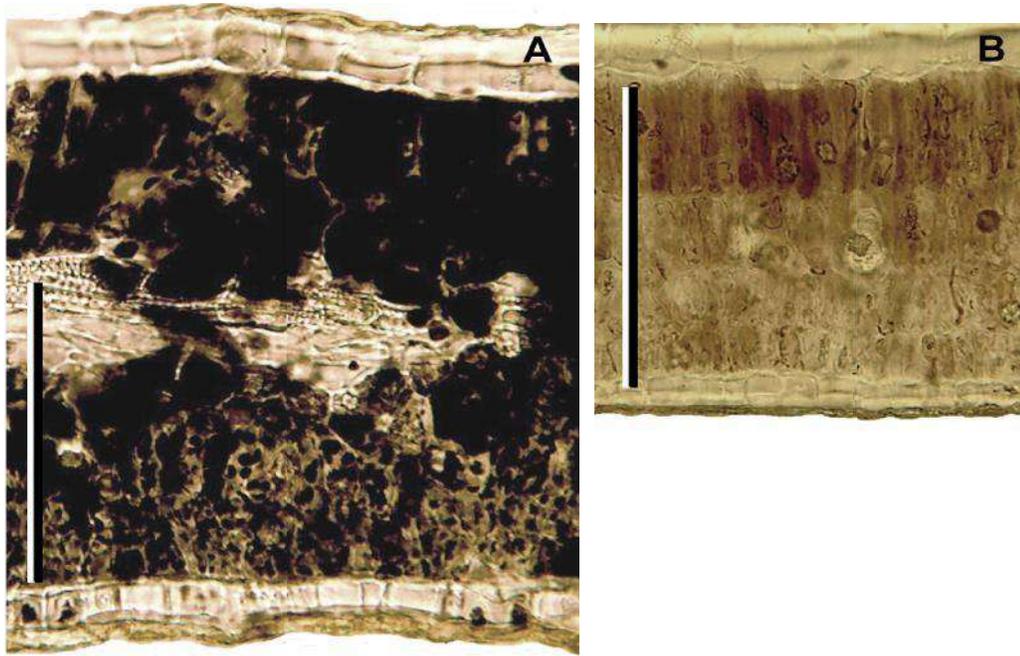


Fig. 3. Cortes transversales de lámina de *Celtis ehrenbergiana*. A, de hoja en área contaminada, mayor espesor de epidermis, mesofilo y lámina total. Abundante almidón (coloración oscura dada con el reactivo lugol). B, de hoja de área rural, menor espesor y ausencia de almidón. Escalas: A, B, 100 μ m.

Fig. 3. *Celtis ehrenbergiana* leaf-blade cross sections. A, in the contaminated area, the leaf-blade shows a thicker epidermis, mesophyll and leaf-blade, and a lot of starch (dark coloration given to the IKI reagent). B, from rural area, the leaf-blade exhibits less thickness and absence of starch. Scale bars: A, B, 100 μ m.

Tabla 5. Valores promedio de espesor en micrómetros (μ m), de las epidermis (Epid), Mesofilo y Lámina foliar.

Table 5. Average thickness values in micrometers (μ m), of epidermis (Epid), mesophyll and leaf-blade.

	Epid adaxial	Epid abaxial	Mesofilo	Lámina
Área Urbana	11,80	7,36	67,39	86,63
Área Rural	5,66	5,24	59,22	61,12

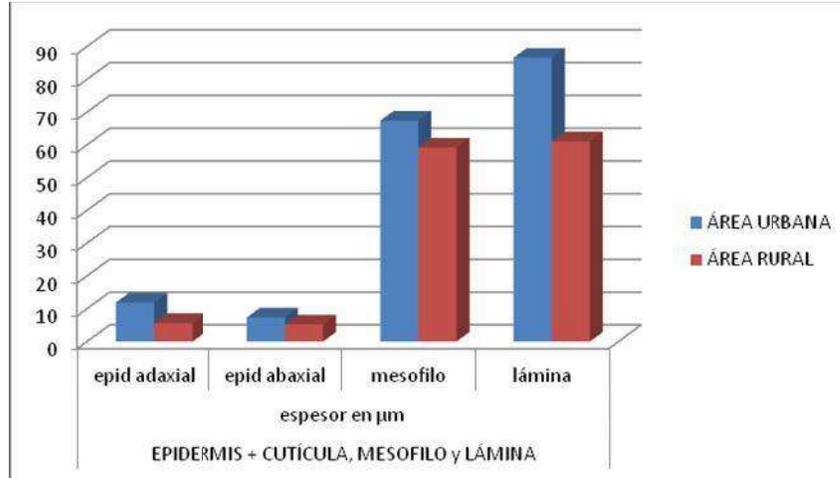


Gráfico 4. Muestra el incremento significativo de espesor de la lámina y tejidos constituyentes, células epidérmicas y el mesofilo, en muestras del área urbana.

Graphic 4. It shows the notable increase of leaf-blade thickness and tissues constituents epidermal cells and mesophyll in samples of the urban area.

Tabla 6. Test de Tukey para espesor de la lámina foliar (μm).

Table 6. Tukey test for leaf-blade thickness (μm).

ÁREA	83,150	66,800
URBANA		0,000118
RURAL	0,000118	

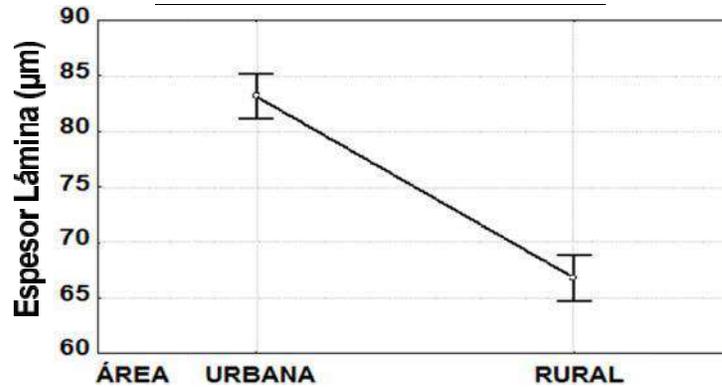


Gráfico 5. En el ambiente urbano, el incremento del espesor de la lámina, así como de sus partes, epidermis y mesofilo es altamente significativo.

Graphic 5. In the urban environment, the increase of leaf-blade thickness and tissues constituents, epidermal cells and mesophyll is significant.

Histoquímica

Al tratar con lugol los cortes transversales de las láminas de los ejemplares de las muestras del área contaminada, mostraron elevado contenido de almidón en las células del parénquima del mesofilo y en las

células oclusivas de los estomas (Fig. 3A); también en el parénquima del xilema (Fig. 4A). En los cortes transversales de hojas atacadas por *Eriophyes*, se observó la presencia de almidón en las lesiones del tejido producidas por el ácaro (Fig. 4B).

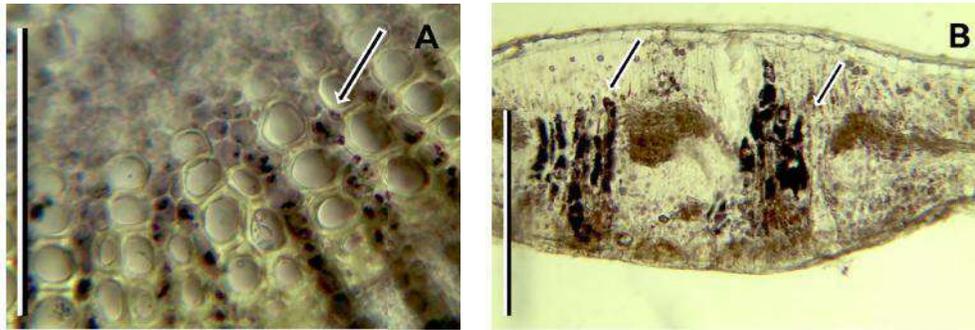


Figura 4. Corte transversal hoja de *Celtis ehrenbergiana*. A, Almidón (puntos oscuros) en el parénquima del xilema. B, Almidón (puntos oscuros) en el sector de la lámina afectado por el ácaro *Eriophyes* (los granos de almidón oscurecidos por el lugol son señalados por flechas). Escalas: A, 100 μ m; B, 300 μ m.

Figura 4. *Celtis ehrenbergiana* leaf-blade cross-section. A, starch (dark points) in xylem parenchyma. B, Starch (dark points) in the leaf sector affected by the mite *Eriophyes*, (dark starch grains treated by lugol are indicated by arrows). Scale bars: A, 100 μ m; B, 300 μ m.

DISCUSIÓN

La epidermis adaxial muestra paredes anticlinales de las células epidérmicas rectilíneas, lo cual corresponde a una alta radiación solar que recibirían en diciembre todas las muestras. En toda la estructura foliar se observaron variaciones macro y microscópicas que se pueden relacionar con la polución ambiental, tal como el color de las hojas, que fue verde oscuro en las recolectadas en la zona urbana, lo cual puede atribuirse a la reducción lumínica producida por las partículas en suspensión, coincidiendo con lo señalado por BRUNO *et al.* (2007) y STIEFKENS *et al.* (2007). ROTH (1984) indicó que las hojas que desarrollan bajo una elevada radiación solar, forman células del parénquima en empalizada más largas y delgadas y los cloroplastos se distribuyen a lo largo de las paredes anticlinales y alejados de la superficie para protegerse de la acción nociva de los rayos UV. En el presente estudio, las muestras no presentaron la capa de empalizada formada por células largas y delgadas ya que en ningún caso estuvieron sometidas a una excesiva radiación solar, menos aún en el área urbana. En el "tala", el mesófilo cambia de dorsiventral a empalizada con el incremento de la luz (NUGHES *et al.* 2013), en el presente estudio solo se observó tendencia a pasar a empalizada en la zona rural, ambiente donde por la pureza del aire recibe mayor luminosidad. Por otro lado, la presencia del ácaro en hojas de la zona urbana y suburbana estaría dado por un debilitamiento de los ejemplares creciendo en ambiente poluto combinado con otros factores climáticos desfavorables a la especie, coincidiendo con lo señalado en trabajos previos por

MASTER Y MCNEILL (1996) y STIEFKENS *et al.* (2007).

En el área urbana se halló un significativo incremento de la frecuencia de células epidérmicas, también se observó un leve incremento de la densidad estomática y al mismo tiempo, una reducción de la densidad de tricomas. De acuerdo con PATEL Y DEVI (1985), la densidad de estomas se reduce cuando la epidermis está protegida por tricomas, ya que actúan como un filtro y evitan el ingreso de partículas a los mismos. De acuerdo con ello, la mayor frecuencia de estomas en la epidermis abaxial de *Celtis ehrenbergiana* en el área contaminada, podría deberse a la reducción de la frecuencia de tricomas y por lo tanto, su acción protectora. El incremento de estomas hallado es concordante con lo señalado en *Ligustrum lucidum* Aiton f. por BRUNO *et al.* (2007); en *Ceiba speciosa* (A. St.-Hil.) Ravenna por STIEFKENS *et al.* (2007); en *Eugenia uniflora* L. (Myrtaceae) por SEGALA ALVES *et al.* (2008). Por otra parte, la reducción de la frecuencia de tricomas en el área contaminada probablemente es una adaptación a la menor necesidad de protección provocada por la reducción de radiación solar existente en áreas con partículas en suspensión.

En las muestras de la zona urbana y en la cara adaxial de la lámina, se observaron diferencias de tamaño en las células epidérmicas y estomas con respecto a las muestras del área rural, pero estas diferencias no fueron significativas. La falta de diferencias en tamaño de los estomas era esperable, ya que la especie estudiada se caracteriza por la alta variabilidad de la forma y tamaño de los mismos, en especial en la época primaveral del año (NUGHES *et al.* 2013). El índice estomático se redujo en el área poluta coincidiendo con los resultados dados para

Ceiba (STIEFKENS *et al.* 2007), no así con Bruno *et al.* (2007) que en hojas de *Ligustrum lucidum* determinaron un incremento del índice estomático en área contaminada. Las diferencias entre los resultados de estudios realizados en diferentes especies y lugares lo explicaron BARNES Y WELLBURN (1998) y MAHMOODUZZAFAR *Et al.* (2006) quienes señalaron que las plantas están sometidas a una mezcla compleja de compuestos contaminantes, lo cual varía en tiempo y espacio.

Resultó altamente significativo el cambio estructural de la lámina en lo referente al incremento del espesor de las células epidérmicas y parénquima del mesofilo, determinando un aumento del espesor total de la lámina. En diversas especies que crecen en áreas contaminadas se han hallado cambios en el desarrollo y características anatómicas como el espesor del mesofilo y ceras epicuticulares (THOMAS Y HARVEY 1983); reducción del espesor de la lámina por reducción del número de estratos celulares en empalizada (BRUNO *et al.* 2007). MELETIOU-CHRISTOU *et al.* (2011) estudiaron los cambios estacionales en el contenido de compuestos de almacenaje en las hojas de *Nerium oleander* L., en áreas con distinto grado de polución. Sus resultados indicaron que el nivel de polución no afectó las variaciones en el contenido de azúcares solubles, almidón, ni lípidos, cuyo contenido se incrementa en primavera. Mientras que el contenido de clorofila en la hoja, el cual se reduce en primavera, declinó en sitios con polución de ozono. De acuerdo con ello, considerando que el presente estudio mostró un incremento del contenido de almidón en las hojas de ejemplares del área poluta y lo contrario en el área no poluta y además, la presencia de almidón en las partes de la hoja afectadas por el ácido, se hipotetiza que la acumulación de almidón es una respuesta de la especie a factores de estrés, bióticos y abióticos.

CONCLUSIÓN

Celtis ehrenbergiana mostró capacidad de adaptación fenotípica a la contaminación del ambiente. Las variables epidérmicas y estructurales de las hojas de plantas procedentes de áreas polutas evidenciaron un incremento significativo en la frecuencia de células epidérmicas en la cara abaxial de la lámina, en el espesor de las epidermis y del mesofilo, que determinó un notable incremento del espesor de la lámina foliar total, acompañada por la acumulación de almidón en los parénquimas de la hoja de *C. ehrenbergiana* en las muestras de áreas con contaminación vehicular e industrial de la ciudad de La Plata, características que podrían ser utilizadas como bioindicador de polución ambiental.

AGRADECIMIENTOS

Nuestro reconocimiento a la Lic. Araceli Vasicek por la determinación del arácnido. Gracias al personal del Departamento de Sismología e Información Meteorológica de la Facultad de Ciencias Astronómicas y Geofísicas, UNLP, por proveernos los registros climáticos. Extendemos nuestro agradecimiento a los evaluadores anónimos que permitieron con sus sugerencias mejorar el manuscrito.

BIBLIOGRAFÍA

ARRIAGA M. O.; M. L. Stampacchio; M. G. Fernández Pepi; P. E. Perelman y A. M. Faggi. 2014. Use of epidermal characters as bioindicators of environmental pollution. *Multequina* 23: 41-53.

BARNES J. D. y A. R. Wellburn. 1998. Air pollutant combinations. In: *Responses of plant metabolism to air pollution and global change* (De Kok, L. J. & I. Stulen, eds.), Backhuys Publishers, Leiden.

BATTI G. H. y M. Z. Igbal. 1988. Investigations into the effect of automobile exhausts on the phenology, periodicity and productivity of some roadside trees. *Acta Soc. Bot. Poloniae*, pp. 57.

BRUNO G. L. Stiefkens; M. Hadid; I. Liscovsky; M. T. Cosa y N. Dottori. 2007. Efecto de la contaminación ambiental en la anatomía de la hoja de *Ligustrum lucidum* (Oleaceae). *Bol. Soc. Argent. Bot.* 42: 231-236.

CHRISTODOULAKIS N. S. y C. Fasseas. 1990. Air pollution effects on the leaf structure of *Laurus nobilis*, an injury resistant species. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology* 44: 276-281.

CHRISTODOULAKIS N. S. y L. Koutsogeorgopoulou. 1991. Air pollution effects on the leaf structure of two injury resistant species: *Eucalyptus camaldulensis* and *Olea europaea* L. var. *sylvestris* Brot., *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology* 47: 433-439.

DALMASSO A.; R. Candia y J. Llera. 1997. La vegetación como indicador de la contaminación por polvo atmosférico. *Multequina* 6: 91-97.

D'AMBROGIO DE ARGÜESO A. 1986. *Manual de técnicas en histología vegetal*. Ed. Hemisferio Sur, Buenos Aires. 86 pp.

- JOHANSEN D. A. 1940. Plant microtechnique. Capítulo IV, Cytological methods, págs. 170-203, New York: McGraw-Hill Book Co.
- MASTER G. J. y S. Mcneill. 1996. Evidence that varieties respond differently to NO₂ pollution as indicated by resistance to insect herbivores. *Environment Pollut.* 91: 351-352.
- MAHMOODUZZAFAR V. R. B.; T. O. Siddici y M. Iqbal. 2006. Foliar response of *Ipomea pes-tigridis* L. to coal-smoke pollution. *Turkish Journal of Botany* 30: 413-417.
- MHATRE, G. N. y S. B. Chaphekar. 1985. The effect of mercuric chloride on the pigment content of a mulberry plant. *Pollution Research* 10: 123-133.
- MELETIOU-CHRISTOU M. S.; G. P. Banilas; C. Barnis y S. Rhizopoulou. 2011. Plant biomonitoring: impact of urban environment on seasonal dynamics of storage substances and chlorophylls of Oleander. *Global NEST Journal* 13: 395-404.
- MURRIELO S.; M. Arturi y A. D. Brown. 1993. Fenología de las especies arbóreas de los talares del este de la provincia de Buenos Aires. *Ecología Austral* 3: 25-31.
- NUGHES L.; M. Colares; M. Hernández y A. Arambarri. 2013. Morfo-anatomía de las hojas de *Celtis ehrenbergiana* (Celtidaceae) desarrolladas bajo condiciones naturales de sol y sombra. *Bonplandia* 22: 47-58.
- PATEL J. D. y G. S. Devi. 1985. Studies on leaf epidermis of some Angiosperms species growing under pollution stress of a fertilizer complex. *J. Pl. Anat. Morph.* 2: 1-10.
- PATRA M. y A. Sharma. 2000. Mercury toxicity in plants. *Botanical Review* 66: 379-422.
- RANI M.; N. Pal y R. K. Sharma. 2006. Effect of railway engines emission on the micromorphology of some field plants. *Journal of Environmental Biology* 27: 373-376.
- RAO M. V. y P. S. Dubey. 1991. Detoxifying mechanism: probable role in determining the plant response to SO₂ under different light intensities. *Indian Journal of Environmental and Toxicology* 1: 39-45.
- ROTH I. 1984. Stratification of tropical forests as seen in leaf structure. In: *Encyclop. Pl. Anat.*, Gebrüder Borntraeger, Berlín. 522 pp.
- ROYER D. L. 2001. Stomatal density and stomatal index as indicators of paleoatmospheric CO₂ concentration. *Rev. Paleobot. Palyno.* 114: 1-28.
- SALISBURY E. 1927. On the causes and ecological significance of stomatal frequency with special reference to the woodland flora. *Phil. Trans. R. Soc. Lond, Ser B*, 216: 1-65.
- SEGALA ALVES E.; F. Tresmondi y E. L. Longui. 2008. Análise estrutural de folhas de *Eugenia uniflora* L. (Myrtaceae) coletadas em ambientes rural e urbano, SP, Brasil. *Acta Botanica Brasilica* 22: 241-248.
- SRIVASTAVA K. 1999. *Celosia* as indicator of automobile pollution. In XVI International Botanical Congress, Abstracts (pp. 2580), St. Louis, Missouri, EEUU.
- STIEFKENS L.; G. Bruno; M. Hadid; N. Delbón; M. T. Cosa y N. Dottori. 2007. Alteraciones histológicas en las hojas de *Ceiba speciosa* (Bombacaceae), producidas por la contaminación ambiental. *Arnaldia* 14: 71-76.
- THOMAS J. F. y C. N. Harvey. 1983. Leaf anatomy of four species grown under continuous CO₂ enrichment. *Botanical Gazette* 144: 303-309.
- WOODWARD F. I. 1987. Stomatal numbers are sensitive to increases in CO₂ from preindustrial levels. *Nature* 327: 617-618.
- WOODWARD F. I. y F. A. Bazzaz. 1988. The responses of stomatal density to CO₂ partial pressure. *Journal of Experimental Botany* 39: 1771-1781.
- ZULOAGA F. O.; O. Morrone y M. J. Belgrano (eds.). 2008. Catálogo de las plantas vasculares del Cono Sur (Argentina, Sur de Brasil, Chile, Paraguay y Uruguay). *Monogr. Syst. Bot. Missouri Bot. Gard.* 107: 983 pp. St. Louis (<http://www.darwin.edu.ar> consultado abril 2016).