

ÍNDICE Y DENSIDAD ESTOMÁTICA FOLIAR EN PLÁNTULAS DE TRES RAZAS DE AGUACATERO

STOMATAL DENSITY AND INDEX IN LEAVES OF THREE RACES OF AVOCADO SEEDLINGS

Alejandro F. Barrientos-Priego^{1*}, Michal W. Borys², Carlos Trejo³ y Luis López-López⁴

¹ Posgrado en Horticultura, Departamento de Fitotecnia, Universidad Autónoma Chapingo, C.P. 56230. Chapingo, Estado de México, México. Correo-e: abarrien@taurus1.chapingo.mx. ²Escuela de Agronomía, Universidad Popular Autónoma del Estado de Puebla, 21 Sur 1103, C.P. 72160. Puebla, Puebla, México. ³Especialidad de Botánica, Instituto de Recursos Naturales, Colegio de Posgraduados. C.P. 56230. Montecillo, Estados de México, México. ⁴Fundación Salvador Sánchez Colín-CICTAMEX, S.C. Ignacio Zaragoza No. 6. C.P. 51700. Coatepec Harinas, Estado de México, México

* Autor responsable

RESUMEN

Se estudió la densidad estomática, densidad de células epidérmicas e índice estomático, en las primeras once hojas maduras de plántulas de aguacatero. Se utilizaron plántulas de las tres razas de aguacatero (Antillana, Guatemalteca y Mexicana). Se encontró que en las primeras hojas (hasta la séptima), las plántulas de la raza Antillana tuvieron menor densidad de estomas, la raza Mexicana mostró la mayor densidad estomática y la raza Guatemalteca fue intermedia. En la hoja 11 se detectó la mayor densidad estomática en las tres razas; la raza Mexicana tuvo 419.3 estomas/mm², seguida de la raza Antillana con (360.6 estomas/mm²) y de la raza Guatemalteca con 305.9 estomas/mm². En las primeras hojas la densidad de células epidérmicas fue mayor en la raza Guatemalteca, seguida por las razas Mexicana y Antillana, y a partir de la octava hoja fue similar en las tres razas, con una tendencia a incrementarse. El índice estomático presentó baja variación en las diferentes posiciones en el tallo, pero con diferencias entre las tres razas con el siguiente orden: Mexicana > Antillana > Guatemalteca.

Palabras clave: *Persea americana* Mill., raza Antillana, raza Mexicana, raza Guatemalteca, estomas.

SUMMARY

Stomatal density, epidermal cell density and stomatal index, in the first eleven mature leaves of avocado seedlings were studied. Three avocado races (Guatemalan, Mexican and West Indian) were evaluated. It was found that up to the first seven leaves, West Indian seedlings had the lowest stomatal density. Mexican seedlings showed the highest stomatal density and the Guatemalans had intermediate values. In the eleventh leaf stomatal density was highest in the three races; in Mexican, West Indian and Guatemalan seedlings values were 419.3, 360.6 and 305.9 stomata/mm², respectively. In older leaves epidermal cell density was greatest in the Guatemalan race, followed by Mexican and West Indian races; and from the eighth leaf onwards the three races were similar, with a trend to increase. The stomatal index was similar in different leaf position on the stem, but with differences among the races as follows: Mexican > West Indian > Guatemalan.

Index words: *Persea americana* Mill., Guatemalan Race, West Indian Race, Mexican Race, stomata.

INTRODUCCIÓN

En las plantas superiores varias funciones fisiológicas importantes involucran intercambio de gases entre la atmósfera y la hoja. El intercambio de gases generalmente se lleva a cabo a través de los estomas en la epidermis. Los estomas son responsables de la toma de CO₂ y de la pérdida de agua durante la transpiración bajo las cambiantes condiciones ambientales. Por ello, la información acerca de la morfología, densidad y frecuencia de los estomas es importante para el mejor entendimiento del intercambio de gases.

La hoja del aguacatero (*Persea americana* Mill.) es hipostomática, con estomas sólo en la superficie abaxial (Heisman, 1939). Según Morales-Escobar *et al.* (1992), los estomas están distribuidos uniformemente en la superficie abaxial, sin diferencias entre la parte apical, media y basal de la hoja.

Estudios en razas y cultivares de aguacatero bajo diferentes condiciones y etapas de desarrollo, han mostrado que la densidad estomática puede variar de 100 a 610 estomas por mm² (Kadman, 1965) Según Chartzoulakis *et al.* (2002) la anatomía foliar en aguacatero está influenciada por condiciones ambientales; tal es caso de la sequía, que causó reducción en varias características anatómicas, por lo que es probable que también cambie la densidad estomática. El sombreado podría ocasionar diferencias aún dentro del mismo dosel del árbol, como en manzano (*Malus domestica* Borkh.), en el que ocasiona una reducción en la densidad estomática (Coward, 1936).

La variación en el número de estomas por unidad de superficie es una característica intrínseca del cultivar de aguacatero, con diferencias hasta de 100 % (Barrientos-Pérez y Sánchez-Colín, 1983; Barrientos-Priego y

Sánchez-Colín, 1987). En árboles de 4 meses, 9, 15 y 23 años de edad, Saavedra (1993) detectó que la densidad estomática es muy estable en cada cultivar, como también se encontró en el portainjerto clonal de manzano M27 de 2, 6, 9 y 22 años de edad (Beakbane y Majumder, 1975). Conviene aclarar que en el primer caso se trataba de injertos y en el segundo de acodos, de modo en ambos casos las plantas ya habían terminado la etapa juvenil y estaban en etapa adulta.

Otra posible fuente de variación es el desarrollo y posición de las hojas. Tichá (1982) señala que la densidad estomática tiende a incrementarse en hojas completamente expandidas al avanzar de la base al ápice caulinar en plántulas derivadas de semilla, basado en datos de varias publicaciones. Sin embargo, en plántulas de aguacatero derivadas de semilla no se han estudiado las posibles diferencias en densidad estomática entre hojas con diferente posición en el tallo.

Es común que los investigadores utilicen en sus estudios plántulas de aguacatero derivadas de semillas en estado juvenil; incluso se ha propuesto hacer preselección de genotipos en estado de plántula con base en la densidad estomática (Barrientos-Pérez y Sánchez-Colín, 1983). Es necesario entonces evaluar la densidad estomática en hojas de diferente posición en el tallo, para así poder considerar dicho factor en estudios que involucren plántulas derivadas de semilla, para evitar sesgos en los resultados y conclusiones inadecuadas. El objetivo de este estudio fue analizar la densidad e índice estomático en hojas ubicadas desde la base hasta el ápice caulinar en plántulas de aguacatero derivadas de semilla.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se utilizaron plantas derivadas de semilla de polinización libre de las razas Antillana (*P. americana* var. *americana* Mill.), Guatemalteca (*P. americana* var. *guatemalensis* Williams), y Mexicana (*P. americana* var. *drymifolia* Schlect. & Cham.). Con estas razas se espera encontrar mayor variabilidad genética, sobre todo por ser provenientes de polinización libre, pero menor variabilidad que dentro cultivares de aguacatero que generalmente se forman por hibridación. Las semillas fueron obtenidas de los bancos de germoplasma de la Fundación Salvador Sánchez Colín-CICTAMEX, S.C. en Coatepec Harinas, Estado de México.

Se removió la cubierta seminal de las semillas y los embriones fueron tratados con una solución de benomyl (Benlate^{MR}) a 1.0 g L⁻¹. Después, los embriones se sembraron en macetas de polietileno negro de 90 x 230 mm, previamente llenados con un sustrato de textura franca. Las

plántulas se desarrollaron en invernadero, a una temperatura de 25/12 °C (día/noche). Las macetas fueron regadas cada dos días a capacidad de campo.

Para el estudio de los estomas, se utilizaron tres plántulas de 150 días después de germinadas, de cada raza. Cuando las plántulas presentaron 11 hojas completamente desarrolladas se midieron las variables que a continuación se indican.

Se obtuvieron impresiones epidérmicas de las hojas completamente maduras; la técnica consistió en la aplicación de barniz para uñas transparente en un área pequeña (cerca de 50 mm²) en la superficie abaxial de la hoja. Después de que el barniz se secó, por aproximadamente 90 s, la capa fue removida y montada en un portaobjetos. Se tomaron dos muestras de cada hoja en la región de la parte central entre las venas secundarias, y se observaron ocho campos en un microscopio (Carl Zeiss, Alemania) con el objetivo 40X. Se calculó el área con un portaobjeto micrómetro y se determinó la densidad estomática y de células epidérmicas por mm². Con dicha información se calculó el índice estomático (IE; Salisbury, 1928), de acuerdo con la siguiente expresión: $IE = [DE/(DE + DCE)] \times 100$; donde DE = densidad estomática, y DCE = densidad de células epidérmicas. Después de obtener las impresiones foliares, se procedió a determinar el área individual de cada hoja con un integrador LICOR modelo LI-3000 (Licor, Inc. Lincoln, NE., EE.UU.).

Se utilizó un diseño experimental completamente al azar, con un arreglo factorial de tratamientos, donde los factores fueron las tres razas y las 11 posiciones de hojas en el tallo. La unidad experimental consistió de ocho áreas microscópicas en cada hoja, y cada unidad experimental tuvo tres repeticiones (tres plántulas). El mismo número de repeticiones fue utilizado por Miskin y Rasmusson (1970) en cebada (*Hordeum vulgare* L.) para estudiar la frecuencia estomática en hojas de diferentes genotipos, aunque sólo utilizaron dos áreas microscópicas. Para el área foliar, la unidad experimental fue hoja y se utilizaron tres repeticiones. Se llevaron a cabo pruebas de Tukey (0.05) para la comparación de medias. Se calcularon los coeficientes de correlación entre las variables evaluadas, tanto en forma conjunta como dentro de cada raza. Además, se calcularon los errores estándar de las medias para cada raza y cada posición de la hoja en el tallo, procedimiento conveniente para separar medias cuando se tienen pocos grados de libertad, de acuerdo con lo indicado por Bryan-Jones y Finney (1983). Se hicieron gráficos con las medias y sus errores estándar, de acuerdo con la posición de la hoja y la raza. Para confirmar los resultados obtenidos en el índice estomático, se calculó la línea de regresión e intervalos de confianza a una

probabilidad de 5 % en cada raza, para cada posición de la hoja en el tallo.

RESULTADOS

El análisis conjunto de todas las hojas mostró que la densidad estomática fue mayor en la raza Mexicana, seguida de la raza Guatemalteca y Antillana (Cuadro 1), respectivamente. La densidad de células epidérmicas en la raza Guatemalteca fue mayor que las otras dos razas y la raza Antillana presentó la menor densidad. En el índice estomático la raza Mexicana tuvo el valor más alto, seguido de las razas Antillana y Guatemalteca. En contraste, la raza Antillana presentó el área foliar más alta, y sin diferencias entre las razas Guatemalteca y Mexicana.

Cuadro 1. Densidad de estomas y de células epidérmicas, índice estomático, y área foliar en tres razas de aguacatero. Los promedios fueron obtenidos de 11 posiciones de hoja desde la base al ápice caulinar (n=8 en variables microscópicas y n=3 en área foliar).

Raza	Densidad estomática (estomas/mm ²)	Densidad de células epidérmicas (células/mm ²)	Índice estomático (%)	Área foliar (cm ² /hoja)
Antillana	287.2 c ¹	971.9 c	22.9 b	87.6 a
Guatemalteca	307.6 b	1247.1 a	20.1 c	28.1 b
Mexicana	365.2 a	1069.0 b	25.5 a	29.2 b
DMS	9.9	43.2	0.5	13.5
CV (%)	15.1 %	19.2 %	11.3 %	47.5 %

¹Valores con la misma letra en cada columna no son diferentes entre sí (Tukey, 0.05).

DMS= Diferencia mínima significativa; CV= Coeficiente de variación.

Las densidades estomáticas y de células epidérmicas también variaron entre posiciones de hoja (P≤0.05). Los valores más altos ocurrieron en la onceava hoja y los más bajos en la séptima hoja (Cuadro 2). Entre la primera y la hoja 11 la diferencia fue de 55.2 estomas/mm², que fue significativa (P≤0.05). En contraste, el índice estomático fue menos variable, al fluctuar entre 22.3 y 23.3 %. El área foliar aumentó significativamente de la primera a la séptima hoja, y luego disminuyó ligeramente en las hojas 8-10, para alcanzar el máximo valor de 67.4 cm² en la hoja 11.

La interacción entre raza x posición de la hoja fue significativa (P≤0.05), en las variables: densidad estomática, densidad de células epidérmicas e índice estomático, pero no en área foliar.

Los coeficientes de correlación muestran una asociación positiva y significativa (P≤0.05) entre la densidad estomática y la densidad de células epidérmicas, y negativa de esta última con el índice estomático, tanto en cada raza como en forma conjunta (Cuadro 3).

Cuadro 2. Densidad de estomas y de células epidérmicas, índice estomático y área foliar en once posiciones de hoja, contadas de la base al ápice caulinar, en plantas de aguacatero derivadas de semillas. Los promedios incluyen a tres razas de aguacatero (n=8 en variables microscópicas y n=3 en área foliar).

Posición de hoja	Densidad estomática (estomas/mm ²)	Densidad de células epidérmicas (células/mm ²)	Índice estomático (%)	Área foliar (cm ² /hoja)
1	306.7 bc [†]	1093.1 bc	22.3 a	16.7 c
2	329.2 b	1115.7 b	23.2 a	28.6 bc
3	329.1 b	1139.3 ab	22.9 a	36.7 abc
4	323.3 bc	1113.5 b	22.9 a	47.0 abc
5	318.8 bc	1075.4 bc	23.2 a	51.2 abc
6	313.6 bc	1064.4 bc	23.1 a	59.9 ab
7	299.8 c	998.5 c	23.3 a	65.4 a
8	305.4 bc	1032.9 bc	22.8 a	56.8 ab
9	306.7 bc	1049.9 bc	22.6 a	49.0 abc
10	325.5 bc	1140.2 ab	22.3 a	52.4 abc
11	361.9 a	1233.4 a	22.6 a	67.4 a
DMS	26.1	113.7	1.4	36.1
CV (%)	15.1 %	19.2 %	11.3 %	47.5 %

[†]Valores con la misma letra en cada columna no son diferentes entre sí (Tukey, 0.05).

DMS= Diferencia mínima significativa; CV= Coeficiente de variación.

Cuadro 3. Coeficientes de correlación entre variables evaluadas en hojas de plántulas de aguacatero derivadas de semilla provenientes de las razas Antillana (A), Guatemalteca (G), Mexicana (M), y analizadas en conjunto (C).

Factor	Densidad estomática	Densidad de células epidérmicas	Índice estomático	Área foliar
Densidad estomática	-	A: 0.894** G: 0.863** M: 0.863** C: 0.662**	A: -0.074 ns G: -0.229 ns M: 0.057 ns C: 0.238 ns	A: 0.123 ns G: -0.103 ns M: 0.169 ns C: -0.248 ns
Densidad de células epidérmicas		-	A: -0.505** G: -0.660** M: -0.449** C: -0.557**	A: 0.268 ns G: -0.042 ns M: 0.013 ns C: -0.195 ns
Índice estomático			-	A: -0.246 ns G: -0.131 ns M: 0.282 ns C: -0.064 ns
Área foliar				-

ns, **, no significativo y significativo con P≤0.01, respectivamente.

Las densidades estomáticas de cada posición de hoja en el tallo, se presentan en la Figura 1 para las tres razas de aguacatero. La raza Antillana tuvo el menor número de estomas por mm² hasta la séptima hoja; en posiciones superiores la densidad de estomas en esta raza se incrementó gradualmente hasta la onceava hoja, donde alcanzó 350 estomas por mm². En el caso de las razas Guatemalteca y Mexicana las densidades estomáticas fueron bastante similares de la primera a la cuarta hoja; después de esta posición, la densidad estomática en la raza Mexicana se mantuvo hasta la novena hoja (350 estomas/mm²), y luego aumentó en la décima y onceava hojas hasta alcanzar un valor máximo de 410 estomas/mm². En contraste, la raza Guatemalteca presentó una reducción considerable a partir de la sexta hoja, misma que se prolongó hasta la octava hoja, para después mantenerse hasta la décima hoja, e incrementarse un poco en la onceava hoja.

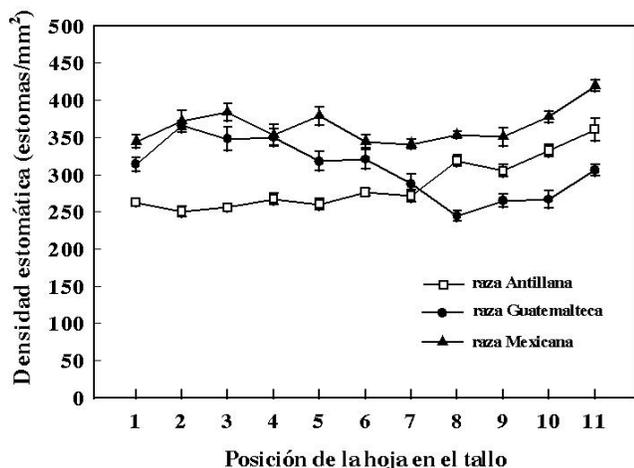


Figura 1. Densidad estomática en hojas de acuerdo a su posición en el tallo de la base al ápice caulinar, en plántulas derivadas de semilla de tres razas de aguacatero (*Persea americana* Mill.). Cada punto representa el promedio de tres repeticiones derivadas de ocho observaciones microscópicas por repetición \pm error estándar.

La densidad de células epidérmicas fue mayor en la raza Guatemalteca que en las otras dos razas, desde la primera a la séptima hoja. Después de la sexta hoja su densidad disminuyó considerablemente, pero al final tendió a recuperarse (Figura 2). Las diferencias entre las razas Mexicana y Antillana se mantuvieron sólo hasta la quinta hoja; después los valores fueron muy similares entre ambas razas, con un incremento gradual hasta la hoja 11. En la raza Mexicana, la densidad de células epidérmicas se mantuvo constante hasta la quinta hoja para después disminuir; en cambio, después de la quinta hoja la densidad comenzó a incrementarse gradualmente en la raza Antillana.

El índice estomático se mantuvo relativamente estable con pocas diferencias entre posiciones de hoja, en las tres razas de aguacatero (Figura 3). El análisis de regresión confirmó que no hubo asociación de dicho índice con la posición de la hoja (Figura 3). Sin embargo, hubo diferencias entre razas en la mayoría de las hojas, como lo muestran sus respectivos intervalos. La raza Mexicana superó en índice estomático a la raza Antillana, y ésta a la raza Guatemalteca.

La raza Antillana presentó la mayor área foliar y la mayor variación en tamaño de hoja al cambiar de posición, en comparación con las otras razas en las que área foliar de cada hoja presentó cambios pequeños (Figura 4).

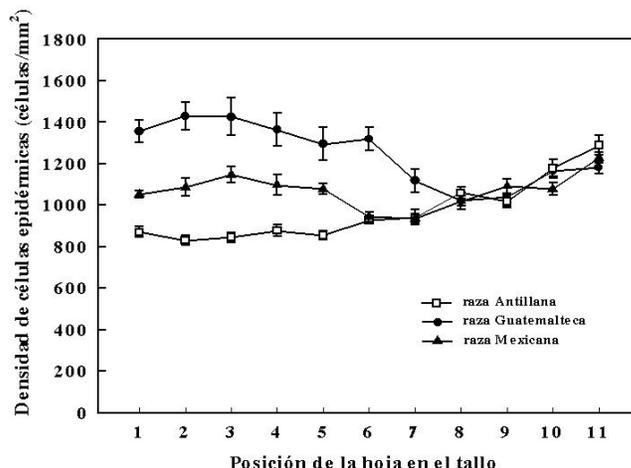


Figura 2. Densidad de células epidérmicas en hojas de acuerdo a su posición en el tallo, de la base al ápice caulinar, en plántulas derivadas de semilla de tres razas de aguacatero (*Persea americana* Mill.). Cada punto representa el promedio de tres repeticiones derivadas de ocho observaciones microscópicas en cada repetición \pm error estándar.

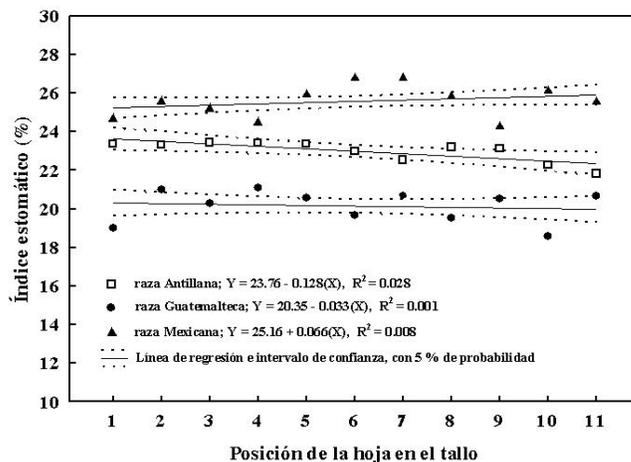


Figura 3. Líneas de regresión (ecuaciones y coeficiente de determinación) e intervalo de confianza ($P \leq 0.05$) del índice estomático, en hojas de acuerdo con su posición en el tallo de la base al ápice caulinar en plántulas derivadas de semilla de tres razas de aguacatero (*Persea americana* Mill.). Cada punto representa el promedio de tres repeticiones derivadas de ocho observaciones microscópicas en cada repetición.

DISCUSIÓN

La variación en la densidad estomática encontrada en este estudio fue de 200 a 450 estomas/mm², que coincide con los reportes de Blanke (1992) en el cv. Fuerte (Mexicana x Guatemalteca) y en plántulas derivadas de semilla de la raza Mexicana (Morales-Escobar *et al.*, 1992). Sin embargo, no coinciden con los datos de 100 a 120 estomas/mm² reportados por Kadman (1965) en plántulas derivadas de semilla de las razas Mexicana y Antillana. Estas discrepancias puede atribuirse a que las evaluaciones de este estudio sólo se realizaron en las primeras once hojas de las plantas, a las condiciones en que se realizó el

estudio, y al origen de los genotipos. Si las plantas de aguacate hubieran sido desarrolladas en condiciones de baja intensidad de luz, podrían haber tenido menor densidad de estomas, como se ha reportado en manzano (Coward, 1936).

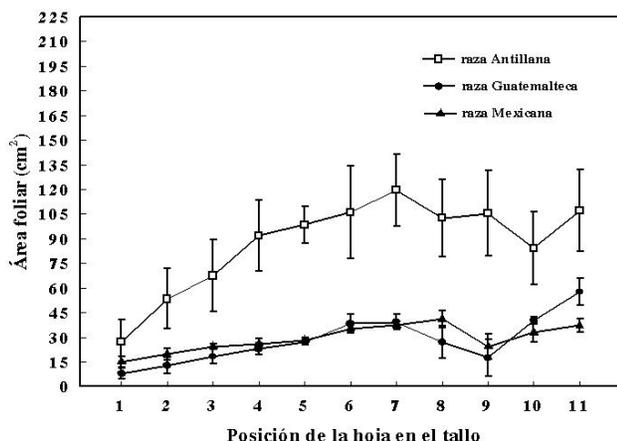


Figura 4. Cambios en el área foliar de hojas individuales en función de posición en el tallo, contada de la base al ápice caulinar, en plántulas derivadas de semilla de tres razas de aguacatero (*Persea americana* Mill.). Cada punto representa el promedio de tres repeticiones \pm error estándar.

Es posible que en densidad estomática el aguacatero aún no haya alcanzado estabilidad en la onceava hoja. Dicha estabilidad implicaría mantener la densidad estomática en las diferentes posiciones de la hoja en el tallo o brote, tal como se ha señalado para cultivares de aguacatero (Saavedra, 1993) y para portainjertos de manzano (Beakbane y Majumder, 1975), ambos en estado adulto pero de diferente edad de injertados o enraizados, respectivamente. Como no se evaluaron niveles superiores a la hoja 11, sería conveniente estudiar otros niveles hasta detectar si se logra la estabilidad en la densidad estomática.

Los resultados aquí obtenidos coinciden parcialmente con los reportes de García e Ichicawa (1979), quienes no encontraron diferencias entre las razas hortícolas del aguacatero, con observaciones realizadas en la séptima hoja. En el presente estudio, el análisis conjunto con las tres razas mostró que la densidad más baja ocurrió en la séptima hoja y que hubo diferencias significativas entre las tres razas, tanto en densidad estomática como en índice estomático, en casi todas las posiciones de hoja; en cambio, en densidad de células epidérmicas no hubo diferencias genotípicas en las posiciones 8 a 11.

Las diferencias en área foliar, en teoría podrían influir en las densidades estomáticas y de células epidérmicas; sin embargo, al correlacionar estas variables no se encontró asociación alguna. Los resultados del análisis de correlación indican que no hay compensación en la densidad estomática por el incremento del área foliar. Por tanto,

tampoco hay compensación en la densidad de células epidérmicas ni en el índice estomático.

El índice estomático presentó poca variación entre posiciones de hoja en el tallo, pero mostró claras diferencias entre genotipos. Por tanto, el índice estomático resulta un buen indicador para diferenciar plántulas con fines de selección. Este índice tiene la ventaja de compensar cambios en la densidad estomática con cambios en la densidad de células epidérmicas y en el área foliar.

CONCLUSIONES

La densidad estomática varió entre posiciones de las hojas en el tallo de la plántula de aguacatero. El índice estomático tendió a ser constante en los diferentes niveles de posición de hoja en la plántula, y constituye un mejor atributo para la identificación de genotipos en etapas tempranas del desarrollo, al menos hasta la hoja 11.

BIBLIOGRAFÍA

- Barrientos-Pérez F, S Sánchez-Colín (1983) Height variability obtained from a new dwarf avocado tree population. *Acta Hort.* 140: 163-168.
- Barrientos-Priego A F, S Sánchez-Colín (1987) Stomatal density and its relationship to growth habit in avocado. *South African Avocado Grower's Association Yrbk.* 10: 66-67.
- Beakbane A B, P K Majumder (1975) A relationship between stomatal density and growth potential in apple rootstocks. *J. Hort. Sci.* 50: 285-289.
- Blanke M M (1992) Photosynthesis of avocado fruit. *In: Proc. Second World Avocado Congress.* Orange, California, USA. pp: 179-189.
- Bryan-Jones J, D J Finney (1983) On an error in "instructions to authors". *HortScience* 18(3): 279-282.
- Chartzoulakis K, A Patakas, G Kofidis, A Bosabalidis, A Nastou (2002) Water stress affects leaf anatomy, gas exchange, water relations and growth of two avocado cultivars. *Scientia Hort.* 95: 39-50.
- Coward F F (1936) Apple leaf structure as related to position of the leaf upon the shoot and to type of growth. *Proc. Amer. Soc. Hort. Sci.* 33: 145-148.
- García V A, S Ichicawa (1979) Cytogenetical studies in the genus *Persea* (Lauraceae). II. A comparative morphological study on 61 strains. *Japan J. Breed.* 29(1): 66-76.
- Heisman P (1939) Notes on avocado anatomy. *California Avocado Society Yrbk.* pp: 87-91.
- Kadman A (1965) Influence of transpiration and some other factors on the uptake, transport and accumulation of chlorine and sodium in avocado seedlings. *In: Proc. Symp. Use of Isotopes and Radiation in Soil Plant Nutrition Studies.* June 28 - July 2 1965, Ankara, Turkey. International Atomic Energy Agency. Viena, Austria. pp: 539-562.
- Miskin K E, D C Rasmusson (1970) Frequency and distribution of stomata in barley. *Crop Sci.* 10: 575-578.
- Morales-Escobar L, A F Barrientos-Priego, F Barrientos-Pérez, M T Martínez-Damián (1992) Obtención de poliploides en aguacate (*Persea americana* Mill.) mediante el uso de colchicina. *Memoria 1992 de la Fundación Salvador Sánchez Colín-CICTAMEX,* S. C. Coatepec Harinas, Estado de México, México. Noviembre 1992. pp: 89-96.

Saavedra G C (1993) Determinación de índices para selección hacia porte bajo en aguacate. *In*: Memoria 1993 de la Fundación Salvador Sánchez Colín-CICTAMEX, S. C. Coatepec Harinas, México. Diciembre 1993. pp: 129-137.

Salisbury E J (1928) On the causes and ecological significance of stomatal frequency with special reference to woodland flora. *Phil. Trans. Royal Soc.* 216: 1-65.

Tichá I (1982) Photosynthetic characteristics during ontogenesis of leaves. 7. Stomata density and sizes. *Photosynthetica* 16: 375-471.