

Comparación anatómica de la lámina foliar entre especies de *Psidium* y *Calycolpus moritzianus* (Myrtaceae)

Anatomical comparison between leaf blade of *Psidium* and *Calycolpus moritzianus* species (Myrtaceae)

G. Rivero-Maldonado¹, D. Pacheco¹, A.B. Sánchez-Urdaneta¹ y M. Quirós²

¹Departamento de Botánica, ²Departamento Fitosanitario, Museo de Artrópodos, Facultad de Agronomía, Universidad del Zulia. Apartado 15205. Maracaibo-Zulia, Venezuela, 4005.

Resumen

Calycolpus moritzianus (O. Berg) Burret (Myrtaceae), “Cínaro”, árbol ampliamente distribuido en los Andes Venezolanos, presenta diversos rasgos comunes con especies de *Psidium*, lo cual había afectado hasta recientemente su correcta identificación. Se planteó como objetivo estudiar su anatomía foliar y la de las especies: *Psidium guajava*, *P. guineense*, *P. acutangulum*, *P. maribense*, *P. salutare* y *P. sartorianum*, mediante la comparación de secciones histológicas y analizando con estadística descriptiva. *Calycolpus moritzianus* presentó como características diferenciales: células epidérmicas comunes rectangulares, ausencia de estratos sub-epidérmicos, presencia de haces vasculares secundarios, entre otras. Se concluyó que la anatomía foliar aporta información relevante para la identificación de especies de Mirtáceas, que complementados con datos de otra naturaleza, pueden contribuir al tratamiento taxonómico de estos grupos.

Palabras clave: *Psidium*, *Calycolpus moritzianus*, anatomía foliar, Venezuela.

Abstract

Calycolpus moritzianus (O. Berg) Burret (Myrtaceae), “Cínaro”, is a widely distributed plant species at the Venezuelan Andes, and it resembles in several characters to *Psidium* species, being the reason that affected, until now, its correct taxonomic identification. The foliar anatomy of *C. moritzianus* was studied and compared against the foliar anatomy of the following *Psidium* species: *Psidium*

guajava, *P. guineense*, *P. acutangulum*, *P. maribense*, *P. salutare* and *P. sartorianum*, using micromorphology with histological preparations and descriptive analysis. *Calycolpus moritzianus* presented the following characters that differentiate it from the rest of species studied: presence of rectangular epidermic cells, lack of subepidermic strata, and presence of secondary vascular bundles, among others. It is concluded that foliar anatomy provides important information that contributes to the taxonomic identification of species of Myrtaceae, along with other information data for this group of plants.

Key words: *Psidium* spp., *Calycolpus moritzianus*, foliar anatomy, Venezuela.

Introducción

En Venezuela existen 19 géneros de Myrtaceae, entre éstos *Psidium* y *Calycolpus*, los cuales tienen una amplia distribución en el occidente del país. La especie *C. moritzianus* se reporta para los estados Lara, Mérida, Táchira y Trujillo (Hokche *et al.*, 2008), pudiéndose localizar a altitudes entre 560 a 2340 msnm, asociada a vegetación de bosque nublado alto y compartiendo hábitat con algunas especies de *Psidium* como *P. guineense*. Entre los usos atribuidos a *C. moritzianus* se encuentran la utilización de su madera para la fabricación de muebles rústicos por su dureza y resistencia, así como para la elaboración de instrumentos y herramientas, tales como mazos, arados para bueyes, entre otras.

Recientemente, la especie *C. moritzianus* era identificada como *P. caudatum* debido a su afinidad morfoanatómica con especies de *Psidium*. Según Mc Vaugh (1968), *Calycolpus* se diferencia morfológicamente de *Psidium* entre otras, por las características del cáliz. Así mismo, los estudios anatómicos pueden aportar información valiosa para distinguir entre taxones muy relacionados, razón por la cual desde dé-

Introduction

There are 19 genres of Myrtaceae in Venezuela, among these are *Psidium* and *Calycolpus*, which have a wide distribution in the Occident of the country. *C. moritzianus* is reported in Lara, Mérida, Táchira and Trujillo states (Hokche *et al.*, 2008), in altitudes from 560 to 2340 masl, related to the vegetation of high cloudy forests, and sharing habitat with some *Psidium* species such as *P. guineense*. Among the uses attributed to *C. moritzianus* is the use of its wood for fabricating rustic furniture, due to its resistance, as well as for the elaboration of instruments and tools, such as hammer, ploughs among others.

C. moritzianus has been recently identified as *P. caudatum*, due to the morph-anatomical similarities with *Psidium*. According to Mc. Vaugh (1968), *Calycolpus* differentiates morphologically from *Psidium* and other species, because of the characteristics of the calyx. Likewise, the anatomic researches might provide valuable information to distinguish related taxa, for this reason different researches have been carried out in myrtaceae in the last decade, considering anatomic characteristics,

cadass se han conducido investigaciones en mirtáceas considerando características anatómicas, muchas de éstas realizadas a nivel de la lámina foliar.

El objetivo de esta investigación fue comparar la anatomía foliar de *Calycolpus moritzianus* con especies del género *Psidium*, a fin de determinar rasgos distintivos que contribuyan a la caracterización y al tratamiento taxonómico de éstos taxa en Venezuela.

Materiales y métodos

Las especies analizadas fueron *Calycolpus moritzianus* (O. Berg) Burret, *Psidium guineense* Sw., *P. guajava* L., *P. acutangulum* DC., *P. maribense* DC., *P. salutare* (Kunth) O. Berg y *P. sartorianum* (O. Berg) Nied., empleando muestras frescas de las tres primeras especies, recolectadas en diversas localidades de los estados Mérida, Táchira, Trujillo y Zulia. Para el análisis del resto de las especies se tomaron muestras foliares de especímenes herborizados de las colecciones del Herbario Nacional de Venezuela (VEN), Herbario de la Facultad de Ciencias Forestales y Ambientales de la Universidad de Los Andes (MER) y del Herbario de la Facultad de Agronomía de la Universidad Central de Venezuela (MY), provenientes de diversos estados de Venezuela.

En las recolectas de campo se extrajeron del tercio medio de la copa de la planta cinco hojas maduras provenientes de una o de cuatro plantas de las especies estudiadas, dependiendo de su disponibilidad; se cuidó que las plantas presentaran buenas condiciones fitosanitarias; seguidamente se

many of these performed in the leaf blade.

The objective of this research was to compare the foliar anatomy of *Calycolpus moritzianus* with species of *Psidium* gender, with the aim of determining distinctive traits that contribute to characterize, and for the taxonomic treatment of these taxa in Venezuela.

Materials and methods

The analyzed species were *Calycolpus moritzianus* (O. Berg) Burret, *Psidium guineense* Sw., *P. guajava* L., *P. acutangulum* DC., *P. maribense* DC., *P. salutare* (Kunth) O. Berg and *P. sartorianum* (O. Berg) Nied., using fresh samples of the first three species collected from different locations of Mérida, Táchira, Trujillo and Zulia. For analyzing the rest of the species, foliar samples were used from herbal species taken from the National Herbarium of Venezuela (VEN), Herbarium of the Forest and Environmental Sciences Faculty of Universidad de los Andes (MER) and the Herbarium of the Agronomy Faculty of Universidad Central de Venezuela (MY), coming from different states of Venezuela.

During the field collection, five ripened leaves were collected from the middle section of the canopy, coming from one or four plants of the studied species, depending on the availability; the researches were very careful that the plants have good phytosanitary conditions; additionally, these were fixed in a formaldehyde solution, with glacial acetic acid and ethanol (FAA) (90:5:5) for their posterior processing.

fijaron en una solución de formaldehído, ácido acético glacial y etanol (FAA) (90:5:5) para su posterior procesamiento. En las plantas herborizadas el número de muestras varió, seleccionando como mínimo cinco ejemplares, dependiendo de la disponibilidad de exsicatas en buen estado. De éstas se tomaron igualmente hojas maduras y completas, sometiéndolas previamente a un ablandamiento mediante hidratación en agua a temperatura de ebullición por 1 o 2 min.

Las muestras se procesaron en los laboratorios de Botánica Morfológica y Botánica Sistemática, Facultad de Agronomía, Universidad del Zulia, aplicando para la obtención de las secciones transversales de hojas la siguiente metodología: 1. Deshidratación en alcohol butílico terciario (TBA) en concentraciones ascendentes de 70% a 100%, con cambios a intervalos de una hora; 2. Inclusión en parafina; 3. Obtención de cortes transversales de 12 μ m practicados en la parte central de la lámina con un micrótopo de rotación Marca Spencer, modelo 820; 4. Coloración con azul de toluidina al 0,5% en solución alcohólica al 96%; 5. Las secciones se desparafinaron e hidrataron con xilol y alcohol, y se colocaron en láminas portaobjetos utilizando como medio de montaje bálsamo de Canadá. Para evaluar las características de la epidermis foliar, tanto en las muestras de recolecta reciente como en las herborizadas, se aplicó la técnica de impresión en silicón líquido (Sandoval, 2005).

De las secciones histológicas se tomaron microfotografías que posteriormente se digitalizaron. Se analizaron 33 variables relacionadas con ca-

In the herbal plants, the number of samples varied, selecting as a minimum number five samples, depending on the availability of the species in good shape. Out of these, were also selected ripened and complete plants, with a prior softening using hydration in boiling water from 1 to 2 min.

The samples were processed in the laboratories of Morphological Botany and Sistemic Botany, Agronomy Faculty, Universidad del Zulia, applying for the obtaining of transversal leaf blade the following methodology: 1. Dehydration in tertiary-butyl alcohol (TBA) in ascendant concentrations from 70% to 100%, with changes to intervals of an hour; 2. Inclusion in paraffin; 3. Obtaining of 12 μ m transversal cuts, practiced in the central side of the blade with a rotator microtome, Spencer brand, model 820; 4. Coloring was done with Toluidine blue at 0.5% in alcohol solution at 96%; 5. The paraffin was eliminated from all sections, and these were hydrated with xylol and alcohol, later, were put on slides using Canada balsam. The liquid silicon immersion technique was used (Sandoval, 2005) to evaluate the foliar epidermis, in both the collected samples and the herbal samples.

Micro-photographs were taken from the histological sections, which were later digitalized. 33 variables related to the characteristics of the foliar epidermis and mesophile tissue were analyzed; this information was collected in a data matrix to make a statistical analysis using a descriptive analysis.

racterísticas del tejido epidérmico foliar y del mesófilo; ésta información se recolectó en una matriz de datos, para ser procesada estadísticamente mediante un análisis descriptivo.

Resultados y discusión

Las diferencias más resaltantes correspondieron a las variables que se presentan a continuación:

1. Se evidenció que todas las especies de *Psidium* analizadas presentaron estratos celulares sub-epidérmicos (figuras 1A), mientras que en *C. moritzianus* éstos no se observaron (figura 1B).

Gomes *et al.* (2009), mediante comparaciones de caracteres morfológicos con estudios filogenéticos previos, concluyeron que hubo ciertas características que constataron la evolución del género *Psidium* dentro

Results and discussion

The most outstanding differences corresponded to the variables shown below:

1. It was seen that all the evaluated *Psidium* species presented sub-epidermis stratus (figures 1A), meanwhile these were not observed in *C. moritzianus* (figure 1B).

Gomes *et al.* (2009), comparing the morphological characteristics with previous phylogenetic researches, concluded that there were some characteristics that contrasted the evolution of the *Psidium* genre in the Myrtaceae family; among these is the presence of sub-epidermis stratus, for this reason these authors suggested it as an useful characteristic for the taxonomy of the family. According to Torres *et al.* (2004), the presence of sub-epidermis layers corresponded to

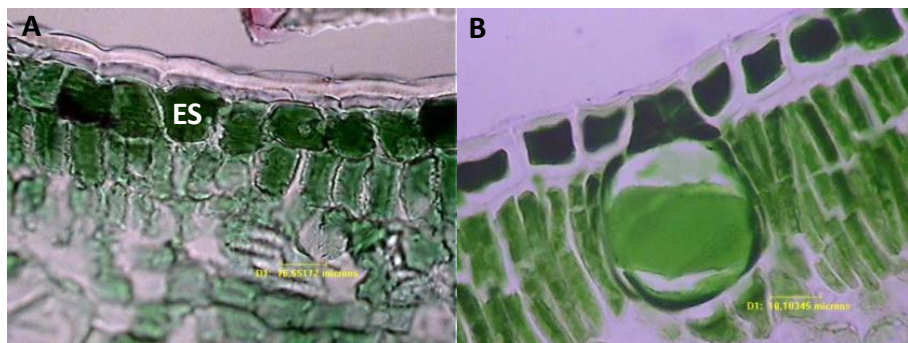


Figura 1. A. Sección transversal de la lámina de *A. Psidium salutare*, donde se observó estrato celular sub-epidérmico (ES). B. Sección transversal de la lámina de *Calycolpus moritzianus* donde éstos estratos no fueron visibles. 400X.

Figure 1. A. Blade transversal section of *Psidium salutare*, where was observed sub-epidermis cellular stratus (ES). B. Blade transversal section of *Calycolpus moritzianus* where these stratus were not visible. 400X.

de la familia Myrtaceae, entre estas la presencia de estratos subepidérmicos, por ello lo sugirieron como un carácter útil para la taxonomía de la familia. De acuerdo a Torres *et al.* (2004) la presencia de capas sub-epidérmicas correspondieron a características xeromórficas, las cuales incrementaron el grosor total de las hojas y textura coriácea de las mismas. De la misma forma, Feller (1996) estableció que estas capas celulares subepidérmicas en hojas coriáceas, fueron consideradas como una protección del tejido fotosintético, especialmente cuando el metabolismo fue limitado por deficiencia de nutrientes y luz excesiva. Esto último podría corresponderse con el hábitat natural en donde se han encontrado las plantas de éstos géneros; las especies de *Psidium* podrían localizarse en áreas de baja fertilidad natural, presentaron mayor adaptabilidad a diversas condiciones climáticas, mientras que *C. moritzianus* se desarrolló en ambientes con menos incidencia solar y en suelos más ricos, según las observaciones recabadas en esta investigación.

2. La forma de las células epidérmicas comunes fue predominantemente oval en las especies de *Psidium* estudiadas (figura 2A), mientras que en *C. moritzianus* fue rectangular (figuras 2B).

Con respecto a esta variable, Gomes *et al.* (2009) recomendaron el carácter de la forma de las células de la epidermis como útil para la taxonomía de la familia, aún cuando se ha considerado un rasgo influenciado fuertemente por el ambiente.

the xeromorphic characteristics, which increased the total thickness of the leaves and the dermochelys coriacea texture of these. Likewise, Feller (1996) established that these sub-epidermis cellular walls in coriacea leaves were considered as a photosynthetic protecting tissue, especially when the metabolism was limited by deficiency of nutrients and excessive light. The latter might correspond to the natural habitat where these plants have been found; the *Psidium* species might be located on natural low fertility areas, and presented a better availability of diverse weather conditions; meanwhile, *C. moritzianus* developed in environments with less solar incidence and richer soils, according to the observations of the current research.

2. The shape of the common epidermis cells was predominantly oval in the studied *Psidium* species (Figure 2 A), meanwhile, in *C. moritzianus* it was rectangular (figures 2B).

Regarding this variable, Gomes *et al.* (2009) recommended the characteristics of the epidermis cells' shape as useful for the taxonomy of the family, even when it has been considered as a strong influenced rank for the environment.

3. The presence of secondary vascular bundles only in *C. moritzianus* represented another aspect of interest (Figure 3A); in the studied *Psidium* species was only observed a central vascular bundle at the level of the main nerve (Figure 3B)

These results differed partially from the ones obtained by Backes (1971) who observed in *P. multiflorum* the presence of secondary bundles at

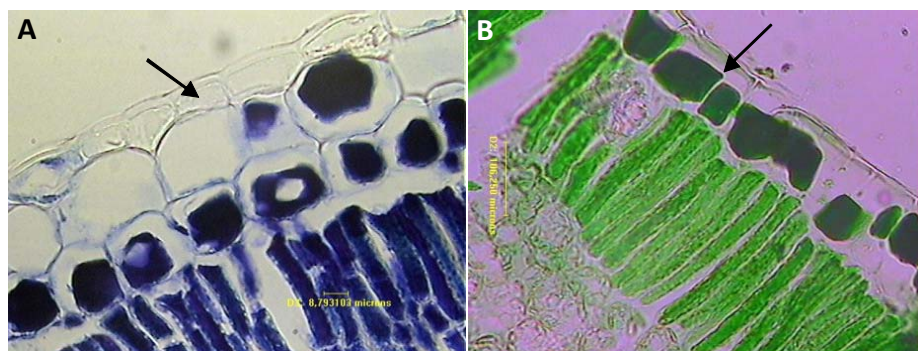


Figura 2. A. Sección transversal de la lámina de *Psidium guajava* donde se señalan células epidérmicas ovales. B. Sección transversal de la lámina de *Calycolpus moritzianus* con células epidérmicas de forma rectangular. 400X.

Figure 2. A. Blade transversal section of *Psidium guajava* where are pointed out the oval epidermis cells. B. Blade transversal section of *Calycolpus moritzianus* with rectangular epidermis cells. 400X.

3. La presencia de haces vasculares secundarios solo en *C. moritzianus* representó otro aspecto de interés (figura 3A); en las especies de *Psidium* analizadas únicamente se evidenció un haz vascular central a nivel de la nervadura principal (figura 3B).

Estos resultados difirieron parcialmente de los obtenidos por Backes (1971) quien observó en *P. mutiflorum* la presencia de haces secundarios a nivel de la nervadura principal. En el análisis anatómico en Myrtaceae realizado por Gomes *et al.* (2009) se determinó que la mayoría de las especies evaluadas de esta familia presentaron un haz vascular único a nivel central, exceptuando a *Myrcia decrescens* que presentó grupos adicionales de haces menores.

Otras características diferenciales que presentó *C. moritzianus* fueron: la forma alargada de las células

the main nerve level. The anatomic analysis in Myrtaceae done by Gomes *et al.* (2009) determined that most of the evaluated species of this family presented a unique central vascular bundle, excepting in *Myrcia decrescens*, which presented additional groups of lower bundles. Other differential characteristics that presented *C. moritzianus* were: the long shape of the parenchyma stockade cells, the well differentiated voluminous parenchyma, and the shape of the central nerves which were different to the ones observed in *Psidium* species, which were biconvex, flat-convex or concave-convex.

On the other hand, the common anatomical characteristics among *Psidium* species and *C. moritzianus* were determined, outstanding the presence of simple or mono-stratified epidermis, uniformly distributed

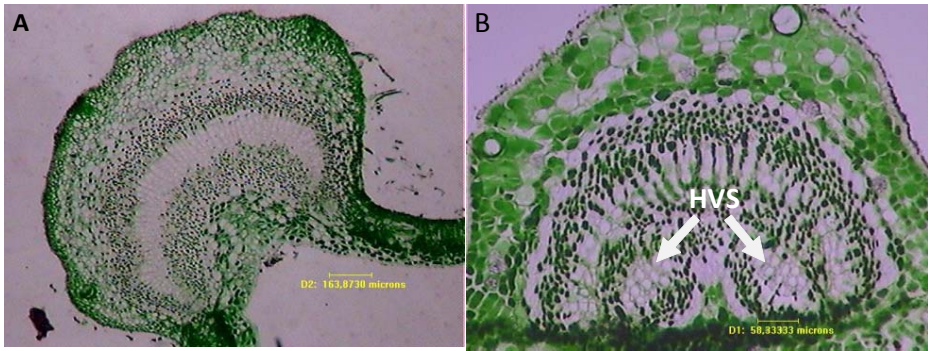


Figura 3. A. Sección transversal de la lámina foliar de *Psidium guajava* con haz vascular único en la nervadura principal. 100X. B. Sección transversal de *Calycolpus moritzianus* donde se señalan haces vasculares secundarios (HVS). 400X.

Figure 3. A. Blade transversal section of *Psidium guajava* with a unique vascular bundle in the main nerve. 100X. B. Transversal section of *Calycolpus moritzianus* where secondary vascular bundles are pointed out (HVS). 400X.

del parénquima en empalizada, el parénquima esponjoso muy diferenciado, y la forma de la nervadura central diferente a las observadas en las especies de *Psidium*, las cuales fueron biconvexas, plano-convexas o cóncavo-convexas.

Por otro lado, se determinaron características anatómicas comunes entre las especies de *Psidium* y *C. moritzianus*, resaltando la presencia de epidermis simple o uniestratificada, estomas paracíticos distribuidos uniformemente, tricomas unicelulares, mesófilo bifacial o dorsiventral, presencia de idioblastos, cavidades secretoras de forma circular presentes en ambas superficies de la lámina foliar, con células adyacentes de paredes anticlinales sinuosas y haz vascular principal de tipo biclateral con células parenquimáticas isodiamétricas y fibras pericíclicas.

parasitic stomatas, mono-cellular trichome, bifacial or dorsiventral mesophile, presence of idioblasts, circle-shape secreting holes present in both surfaces of the leaf blade, with adjacent cells of sinuous anticlinal walls and biclateral main vascular bundle with isodiametric parenchyma cells and pericyclic fibers.

Conclusion

In the leaf blade anatomic comparison of *C. moritzianus* with the evaluated *Psidium* species were determined differential characteristics that provided relevant information for identifying these taxa, as well as similar traits that showed the close relation that these two genres presented. This data complemented the other information with different nature, and might contribute to the

Conclusión

En la comparación anatómica de la lámina foliar de *C. moritzianus* con las especies de *Psidium* objeto de estudio, se determinaron caracteres diferenciales que aportaron información relevante para la identificación de éstos taxa, así como también rasgos semejantes que denotaron la estrecha relación que presentaron éstos dos géneros. Estos datos complementados con otros de diferente naturaleza, podrían contribuir al tratamiento taxonómico de estos miembros de la familia Myrtaceae en Venezuela.

Literatura citada

- Backes, A. 1971. Contribuição ao estudo da anatomia foliar e da fisiologia de *Psidium multiflorum* Camb. *Ciência e Cultura* 23:297-303.
- Feller, L.C. 1996. Effects of nutrient enrichment on leaf anatomy of dwarf *Rhizophora mangle* L. (red mangrove). *Biotropica* 28:13-22.
- Gomes, S., N. Somavilla, K. Gomes-Bezerra, S. de Miranda, P. De-Carvalho y D. Graciano-Ribeiro. 2009. Anatomia

taxonomic treatment of the members of the Myrtaceae family in Venezuela.

End of english version

foliar de espécies de Myrtaceae: contribuições à taxonomia e filogenia. *Acta Bot. Bras.* 23(1):223-238.

- Hokche, O., P. Berry y O. Hubber. 2008. Nuevo catálogo de la flora vascular de Venezuela. Fundación Instituto Botánico de Venezuela Dr. Tobías Lasser. Caracas, Venezuela. 859 p.
- Mc Vaugh, R. 1968. The genera of American Myrtaceae, an interim report. *Taxon, Journal of the Internacional Association for Plant Taxonomy.* 17:1.
- Sandoval, E. 2005. Técnicas aplicadas al estudio de la anatomía vegetal. Cuadernos 38, Instituto de Biología de la UNAM, México DF. 278 p.
- Torres, M., L. Alves y R. Rejane. 2004. Leaf morphology of 89 tree species from a Lowland tropical rain forest (Atlantic Forest) in south Brazil. *Brazilian Archives of Biology and Technology* 47(6):933-943.