

POLIBOTÁNICA Núm. 8:1-12, 1998

ANATOMÍA FOLIAR Y MORFOLOGÍA DEL POLEN DE *DRIMYS GRANADENSIS* VAR. *MEXICANA* (WINTERACEAE: MAGNOLIALES)

Salvador Acosta Castellanos

C.I.I.D.I.R. Instituto Politécnico Nacional, Unidad Oaxaca
Apartado Postal 24
Administración 3
68101 Oaxaca, Oax.
México

Alejandra E. Vilela

Lab. de Sistemática de Plantas Vasculares
Pab. II, Piso 4
Facultad de Ciencias Exactas y Naturales
Universidad de Buenos Aires
(1428) Buenos Aires
Argentina

RESUMEN

Se presenta un estudio de la anatomía foliar y morfología polínica de *Drimys granadensis* var. *mexicana*, un taxon poco conocido de las Winteraceae. Este taxon de afinidad austral es uno de los elementos del bosque mesófilo de algunos lugares desde México a Costa Rica, pero sus hojas presentan una combinación de características de planta mesófila con otras adaptaciones para evitar la pérdida de agua: hojas hipostomáticas, estomas hundidos y obstruidos; lo cual se interpreta como un rasgo relictual con valor adaptativo para ancestros xerófilos. La morfología polínica del taxon es muy similar a la de otras Winteraceae, aunque se discuten algunos caracteres distintivos.

Palabras clave: *Drimys granadensis*, anatomía foliar, cutícula, ultraestructura, polen, hábitat.

ABSTRACT

A study of leaf anatomy and pollen morphology of the poorly known taxon *Drimys granadensis* var. *mexicana* (Winteraceae) is presented. Although this taxon of southern affinity is an element of the cloud forests, occurring in a number of localities from southern Mexico to Costa Rica, its leaves present a mixture of mesophilous features and adaptations to avoid or decrease water loss, such as hypostomatic leaves and sunken and obliterated stomata; these latter are interpreted as relictual features which were of adaptative value for xerophilous ancestors. Pollen morphology is similar to other Winteraceae, although some distinctive features are discussed.

Key words: *Drimys granadensis*, leaf anatomy, cuticle, ultrastructure, pollen, habitat.

INTRODUCCIÓN

Drimys granadensis L. f. es una especie compuesta por arbustos y árboles de hasta 18 m de altura, que se distribuye desde el sur de México hasta Perú y el oeste de Venezuela.

Smith (1943) describe 5 variedades: *Drimys granadensis* var. *grandiflora* Hieron. en Colombia; *D. granadensis* var. *uniflora* (Turcz.) Smith en el oeste de Venezuela; *D. granadensis* var. *chiriquiensis* Smith en la región de Chiriquí en Panamá; *D. granadensis* var. *peruviana* Smith en Perú y *D. granadensis* var. *mexicana* (DC.) Smith en el sur de México, Guatemala y Costa Rica.

Esta última variedad es mencionada por Rzedowski (1978, 1996) como uno de los elementos florísticos del bosque mesófilo de montaña, donde la vegetación predominante es perennifolia. En México se conoce de los estados de Veracruz, Guerrero, Oaxaca y Chiapas donde se encuentra en el intervalo altitudinal de 1100–3000 m. De acuerdo a Smith (1943) en algunos lugares se le denomina vulgarmente “palo de chile”, haciendo alusión a su sabor picante.

La anatomía foliar de esta familia ha sido extensamente tratada, ya que se considera que los caracteres anatómicos de las hojas de las Winteraceae son diagnósticos a nivel de especies (Vink, 1988). La epidermis abaxial de la mayoría de los géneros y especies presenta un aspecto glauco. A este respecto, Bailey & Nast (1944) denominan “material alveolar” a la sustancia que se encuentra obstruyendo los estomas. La naturaleza química de este material ha sido largamente discutido: Bailey & Nast (op. cit.) consideran que no hay evidencia suficiente para indicar una composición cerosa o cutinácea; Baranova (1972) considera que los estomas están ocluidos por una capa gruesa y granular

de cutícula; Bongers (1973) menciona que si bien la composición es aparentemente cutinácea, también pueden presentarse ceras epicuticulares; Ehrendorfer et al. (1979) describen para varias especies del género, la presencia en la cara abaxial de gránulos de naturaleza cutinácea y de ceras en forma de bastoncillos o agujas; Vilela y Acosta (1995) citan para *Drimys winteri* la presencia de una capa cutinácea que puede adoptar diferentes formas, tales como hebras, gránulos, etc.

Esta capa alveolar que cubre a la superficie abaxial de las hojas también ha sido reportada para otra familia del orden Magnoliales: Myristicaceae (Koster & Baas, 1982).

El objetivo del presente trabajo es analizar la anatomía foliar y la morfología del polen de *D. granadensis* var. *mexicana*, un taxon no muy bien conocido.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se trabajó principalmente con material de herbario y además material fresco colectado por los autores. En ambos casos se utilizaron hojas completamente desarrolladas.

Para la observación de la arquitectura foliar, las hojas fueron diafanizadas siguiendo la técnica de Dizzeo de Strittmater (1973) y coloreadas con safranina.

La terminología usada para la descripción de la arquitectura foliar es la propuesta por Hickey (1974).

Para su observación al microscopio óptico, se realizaron cortes transversales de material fresco a mano libre, que fueron posteriormente coloreados con la tinción metacromática violeta de cresyl y montados en gelatina glicerizada (D'Ambrogio de Argüeso, 1986). El material de herbario

estudiado fue incluido en resina “spurr low viscosity” y cortado mediante ultramicrotomo (aproximadamente 1 μm de espesor). Los mismos fueron teñidos con azul de toluidina al 1 %. Cortes de 750-900 nm, del mismo material fueron observados al microscopio electrónico de transmisión (MET).

Para su observación al microscopio electrónico de barrido (MEB), se deshidrató el material (tanto hojas como anteras en anthesis) mediante una serie ascendente de soluciones de alcohol etílico hasta alcohol absoluto y fue metalizado en oro (Au).

Para su observación al microscopio óptico, el polen obtenido a partir de botones florales cerrados, fue acetolizado siguiendo el método de Erdtman (1943) y montado en gelatina glicerizada.

La terminología utilizada para la descripción de los granos de polen es la propuesta por Erdtman (op. cit.) y para las medidas específicas de las tétradas se siguió también a Fiser & Walker, 1967.

Las medidas de las diferentes características del polen registradas fueron obtenidas de al menos 20 tétradas de cada preparación estudiada.

Material estudiado

México

Oaxaca: Cerro Machín, Dto. Ixtlán, 26 junio 1960, J. Rzedowski s.n. (ENCB); Macuiltianguis, 18 marzo 1980, Lucero L08 (ENCB); 9.3 Km al N de la desviación a Yolox, mpio. Yolox, alt. 2400 m, 7 abril 1981, G. Martin 495 (ENCB); Camino de Capulpan a Talea, 2.5 Km al N de la desviación a Yalina, Dto. Villa Alta, alt. 2850

m, D. Lorence 4225, 31 mayo 1983 (ENCB); 10-30 Km al N de Ixtlán por la carretera 175, 24 julio 1983, C. M. Taylor 2453 (ENCB); Cerro Pelón, Dto. Ixtlán, 28 enero 1994, A. Vilela Mex10 (OAX); A. Vilela Mex12 (OAX).

Veracruz: La Guacamaya, mpio. Chiconquiaco, 26 marzo 1975, F. Ventura 11142 (ENCB); Joya Chica, febrero 1979, F. Ventura 15813 (ENCB); 31 enero 1981, F. Ventura 18163 (ENCB); Pixquiac, Plan de Cedeño, 4 marzo 1978, M. Cházaro 864 (ENCB); entre Loma y Mesa de los Laureles, mpio. Coatepec, febrero 1983, M. Cházaro 2684 (ENCB); Rancho Nuevo, mpio. Chiconquiaco, 15 abril 1978, F. Ventura 15203 (ENCB).

Chiapas: alrededor de la torre Zontehuitz, mpio. San Cristóbal de las Casas, alt. 9600 ft, 21 junio 1970, Thorne & Lathrop 40117 (ENCB).

Guatemala: Departamento El Quiché: Nebaj, alt. 7800 ft, 20 junio 1964, Contreras 5064 (ENCB).

RESULTADOS

Arquitectura foliar.

Hoja de lámina simétrica, forma elíptica angosta (relación largo: ancho, aproximadamente 3:1), ápice obtuso, base aguda, margen entero y textura coriácea (Fig. 1, A).

La venación es de tipo pinnada camptódroma broquidódroma, es decir que a partir de una vena primaria única se originan venas secundarias que no terminan en el margen y se unen en una serie de arcos prominentes (Fig. 1, A).

La vena primaria es de tamaño fuerte (ancho 2-4 % del total de la hoja) y recorrido derecho no ramificado. Las venas secundarias divergen de la primaria con un ángulo agudo moderado en la mayoría de los casos (45°-65°), aunque se pueden encontrar ángulos más agudos (menores de 45°).

El ángulo de desviación de las venas secundarias es casi uniforme a lo largo de la hoja. Las venas secundarias tienen un recorrido curvo, doblándose en arco abruptamente. Se unen a otras venas secundarias supradacentes en ángulo más bien recto.

A partir de la vena media y esparcida entre las venas secundarias, se encuentran venas intersecundarias de tipo compuesto, que siguen una trayectoria casi paralela a las secundarias.

Las venas terciarias se anastomosan con otras venas terciarias formando un retículo (Fig. 1, A).

En la zona basal de la hoja la última venación es incompleta (Fig. 1, B), mientras que en la parte superior, las últimas venas se curvan formando ojales (Fig. 1, C).

La areolación está bien desarrollada. Las areolas de forma cuadrangular o poligonal, pueden ser sin vénulas, o con una vénula simple, recta o curva (Fig. 1, D) o lineal (Fig. 1, E) o con vénulas ramificadas una o más veces (Fig. 1, F-H).

Estructura anatómica de la hoja en corte transversal

La epidermis es monoestratificada (Fig. 2, A). La pared tangencial externa (pte) de las células epidérmicas no presenta diferencias apreciables de grosor entre la cara adaxial y

abaxial de la hoja, mide en promedio 10.6 μm y un mínimo de 7.5 μm (Fig. 2, B-C).

La hoja es hipostomática. Los estomas, solo presentes en la cara abaxial, están ligeramente hundidos y ocluidos por material de naturaleza cutinácea (Fig. 2, E).

El mesófilo es dorsiventral, compuesto por parénquima en empalizada en la cara adaxial y parénquima esponjoso del lado abaxial (Fig. 2, A). Dentro del mesófilo puede observarse la presencia de esclereidas aisladas (Fig. 2, D). Las mismas presentan diversas formas y tamaños, pudiendo ser redondeadas o alargadas en el sentido del eje transversal de la hoja. También se observó la presencia de idioblastos esféricos con contenidos que se tiñen intensamente con violeta de cresyl (Fig. 2, A).

Los haces vasculares son colaterales. El floema tiene forma de herradura y rodea parcialmente al xilema. Alrededor del haz vascular puede observarse la presencia de escasas esclereidas.

Ultraestructura de la pared tangencial externa de las células epidérmicas.

Las observaciones realizadas al MET permitieron distinguir las siguientes capas que componen la pared tangencial externa de las células epidérmicas en la cara abaxial:

- 1) Cutícula, electrónicamente densa, con foveas de diverso tamaño (capa alveolar) (Fig. 3, A-C).
- 2) Pared cutinizada, electrónicamente menos densa que la cutícula (Fig. 3, D).
- 3) Pared celular, de naturaleza celulósica (Fig. 3, E).

La cara adaxial, por el contrario, no presenta material alveolar. En ella puede distinguirse a

la pared celular, de naturaleza fibrilar, donde las microfibrillas de celulosa se extienden y ramifican hacia las regiones internas de la cutícula (Fig. 3, F).

Superficie foliar

La cara abaxial de las hojas de *Drimys granadensis* var. *mexicana* que están cubiertas por una capa de naturaleza alveolar, observadas al MEB mostraron la presencia de una intrincada trama de bastoncillos de cera epicuticular (Fig. 4, B).

Acompañando a dicha trama se encuentran gránulos de naturaleza cutinácea, distribuidos sobre la superficie en forma heterogénea (Fig. 4, A-B).

Las células oclusivas de los estomas están hundidas con respecto a las subsidiarias. La cámara supraestomática se halla obturada por material alveolar (Fig. 4, C).

Morfología del polen

Pragłowski (1979) estudió el polen de las cinco variedades de *D. granadensis*, incluyendo solo dos especímenes de la var. *mexicana*. Sin embargo por las características del polen observadas en este estudio y que se discuten más adelante, se considera conveniente dar aquí una descripción de los granos de polen de *D. granadensis* var. *mexicana* estudiados en este trabajo.

El polen forma tétradas tetrahédricas, redondeadas o algo triangular redondeadas en vista polar, de (42.5) 45 – 57.5 μm de diámetro (Fig. 4 D). Mónadas de forma subpiramidal, con la superficie distal subtriangular, más o menos isodiamétrica, convexa, de (36) 39 – 44 μm de diámetro y de 23 – 34 μm de profundidad (Fig. 4 E). Exina de 4 – 5 μm de espesor, subtectada; la endexina es de 1 – 1.5 μm de espesor en la

zona de unión de las mónadas y se halla notablemente engrosada, hasta 4 μm alrededor del poro, formando un annulus más o menos marcado; ectexina de 3 – 4 μm de espesor. Ornamentación perreticulada, heterobrocada, lúmina hasta de 7 μm (eje más largo), muri de aproximadamente 1 μm de espesor, simplibaculados; la ornamentación puede llegar hasta el poro (Fig. 4 E), o en otras ocasiones el área apertural es más amplia. Mónadas anaporadas; área apertural de forma circular a ovalada, con una zona sin retículo a manera de banda alrededor del poro de hasta 6 μm de ancho; poros más o menos isodiamétricos a elongados de 14– 19 μm de diámetro.

DISCUSIÓN

En el estado de Oaxaca, *D. granadensis* se distribuye solo en la Sierra Madre de Oaxaca, en altitudes entre los 1800-2850 m. Es uno de los elementos florísticos del bosque húmedo de *Quercus* y bosque mesófilo de montaña. Se encuentra asociado a diversas especies de los géneros: *Billia*, *Clethra*, *Gaultheria*, *Lyonia*, *Persea*, *Ocotea*, *Oreopanax*, *Quercus*, *Weinmannia*, etc. Se le puede encontrar en orillas de arroyos permanentes y donde la cobertura vegetal es abundante. En los tipos de vegetación mencionados, la temperatura media anual es cercana a los 18 °C, siendo la oscilación térmica anual muy leve o moderada. Las precipitaciones alcanzan los 2000 mm anuales, ocurriendo principalmente durante los meses de verano. A pesar de la estacionalidad de las lluvias, la humedad ambiental se mantiene alta en invierno por la influencia de los vientos continentales provenientes del norte que bajan la temperatura y provocan abundantes neblinas. La alta humedad ambiental existente provoca que sobre las hojas de *D. granadensis* crezcan abundantes musgos y otras epifitas.

Siendo la hoja uno de los órganos más expuestos de la planta, ésta refleja en su estructura y morfología la adaptación al ambiente.

D. granadensis var. *mexicana* a pesar de habitar zonas con alta humedad ambiental, presenta en sus hojas una combinación de caracteres de planta mesófila (mesófilo dorsiventral, esclerénquima más bien escaso, hojas de lámina amplia, etc.) con otras adaptaciones para evitar la pérdida de agua, tales como estomas restringidos a la cara abaxial, ligeramente hundidos y obstruidos por material de naturaleza cutinácea. La oclusión de los estomas ha sido interpretada por Bongers (1973) como una forma de compensar la baja capacidad de transporte de agua que tiene el xilema secundario sin vasos que caracteriza al género. Por otra parte Koster & Baas (1982) sugieren que ésta puede ser una característica relictual, con un significado adaptativo en ancestros más xerófilos.

Bailey & Nast (1944) mencionan que las esclereidas están conspicuamente desarrolladas en *D. granadensis*. En el material estudiado, podemos observar que si bien están presentes en el mesófilo, no constituyen un rasgo sobresaliente de la var. *mexicana*.

Por otro lado, la presencia de esclereidas no es un rasgo constante en las distintas variedades de una especie. Vilela y Acosta (1995), describen la presencia de esclereidas sólo en *D. winteri* var. *chilensis*, estando ausentes en las otras dos variedades de la especie.

La capa de naturaleza cutinácea, que se evidencia como una cobertura blanca sobre la cara abaxial de la hoja, se vuelve transparente por acción del calor suave como el que

proporciona un secador de pelo. Puede suponerse que el calor actúa sobre la cutícula propiamente dicha, fundiéndola y haciendo desaparecer las foveas. El aire contenido en las foveas refracta la luz, produciendo el color blanco. Al fundirse la cutícula primaria, desaparece el aire, tornándose transparente.

Con relación a la caracterización palinológica, de acuerdo a Praglowski (1979) las Winteraceae son una familia bastante estenopolínica, sin embargo en su estudio pudo establecer características de los granos de polen de la familia que ayudan en la identificación de los diferentes taxa. Describe que las tétradas de la Sección *Drimys* se caracterizan por ser $> 40 \mu\text{m}$ de diámetro, presentar muri más bien gruesos y anchos, y aperturas relativamente grandes, rodeadas por ánnuli o costae amplios y diferenciables.

En el caso de *D. granadensis* var. *mexicana*, Praglowski (op. cit.) registró tétradas de 46-52 μm de diámetro, lumina de 6 μm (eje más largo) y poros isodiamétricos de 7 μm de diámetro o elongados de 10 x 5 (-6) μm .

Praglowski (op. cit.) menciona que la única especie en la Sección *Drimys* que puede identificarse por el tamaño de sus tétradas ($> 50 \mu\text{m}$) es *D. granadensis*, sin embargo Vilela y Acosta (1995) registraron tétradas de *D. winteri* de hasta 68 μm de diámetro.

La clave propuesta por Praglowski (op. cit.) para la identificación de los granos de polen de la familia, debe usarse con reservas, ya que el polen del taxon aquí estudiado y el de *D. winteri*, en algunos casos podrían confundirse con el polen de *Takhtajania* (género endémico de Madagascar) porque llegan a ser mayores de 55 μm de diámetro. Otra semejanza que es notable entre este último género y *Drimys* Sección *Drimys* es que los granos de polen de *Takhtajania* también

tienen aperturas rodeadas por una zona diferenciada de endexina engrosada, sin retículo (área apertural), es decir que el retículo no alcanza el borde de la apertura.

Con relación a esto último, tanto en el polen de *D. granadensis* var *mexicana* estudiado en este trabajo, como en el de *D. winteri* se han observado algunas tétradas en las que el retículo casi llega al borde de la apertura (Vilela y Acosta, 1995).

AGRADECIMIENTOS

Este trabajo fue realizado gracias a la Red Latinoamericana de Botánica, que en diferentes ocasiones otorgó a los autores una beca de perfeccionamiento. Se agradece al Lic. Pablo Picca por su apoyo en la toma de las fotomicrografías al MEB y a la Universidad de Buenos Aires a través del Laboratorio de Sistemática de Plantas Vasculares, por la toma de las fotomicrografías al MET. La Biól. Laura Torres del Field Museum of Natural History de Chicago, aportó información bibliográfica importante.

LITERATURA CITADA

- Bailey, I. W. & C. Nast, 1944. The comparative morphology of the Winteraceae. I. Foliar epidermis and sclerenchyma. *Journal of the Arnold Arboretum* 25: 342-348.
- Baranova, M. 1972. Systematic anatomy of leaf epidermis in the Magnoliaceae and some related families. *Taxon* 21(4): 447-469.
- Bongers, J. M. 1973. Epidermis leaf characters of the Winteraceae. *Blumea* 21: 381-411.
- D'Ambrogio de Argüeso, A. 1986. Manual de técnicas en Histología Vegetal. Ed. Hemisferio Sur, S.A. Buenos Aires. 83 pp.
- Dizzeo de Strittmater, C. 1973. Nueva técnica de diafanización. *Bol. Soc. Arg. Bot.* 15 (1): 126-129.
- Ehrendorfer, F., I. Silberbauer-Gottsberge & G. Gottsberger, 1979. Variation on the population, racial, and species level in the primitive relic angiospermum genus *Drimys* (Winteraceae) in South America. *Plant Systematics & Evolution* 132: 53-83.
- Erdtman, G. 1943. An introduction to pollen analysis. Ronald Press Company. New York. 239 pp.
- Fiser, J. & D. Walker, 1967. Notes on the pollen morphology of *Drimys* Forst., Section *Tasmannia* (R. Br.) F. Muell. *Pollen et Spores* 9 (2): 229-239.
- Hickey, L. J. 1974. Clasificación de la arquitectura de las hojas de dicotiledóneas. *Bol. Soc. Arg. Bot.* 26 (1-2): 1-26.
- Koster, J. & P. Baas, 1982. Alveolar cuticular material in Myristicaceae. In: *The Plant Cuticle*. Academic Press, London. pp: 131-138.
- Pragłowski, J. 1979. Winteraceae Lindl. *World Pollen & Spore Flora* 8: 1-25 (plus 10 figs).
- Rzedowski, J. 1978. Vegetación de México. Ed. Limusa. México. 432 pp.

- _____. 1996. Análisis preliminar de la flora vascular de los bosques mesófilos de montaña de México. *Acta Botánica Mexicana* 35: 25-44.
- Smith, A. C. 1943. The american species of *Drimys*. *J. Arnold Arbor.* 23 (1): 1-33.
- Vilela, A. E. y S. Acosta, 1995. Anatomía foliar y morfología del polen de las variedades de *Drimys winteri* (Winteraceae). *An. Esc. Nac. Cienc. Biol. México* 40: 117-132.
- Vink, W. 1988. Taxonomy in Winteraceae. *Taxon* 37 (3): 691-698.

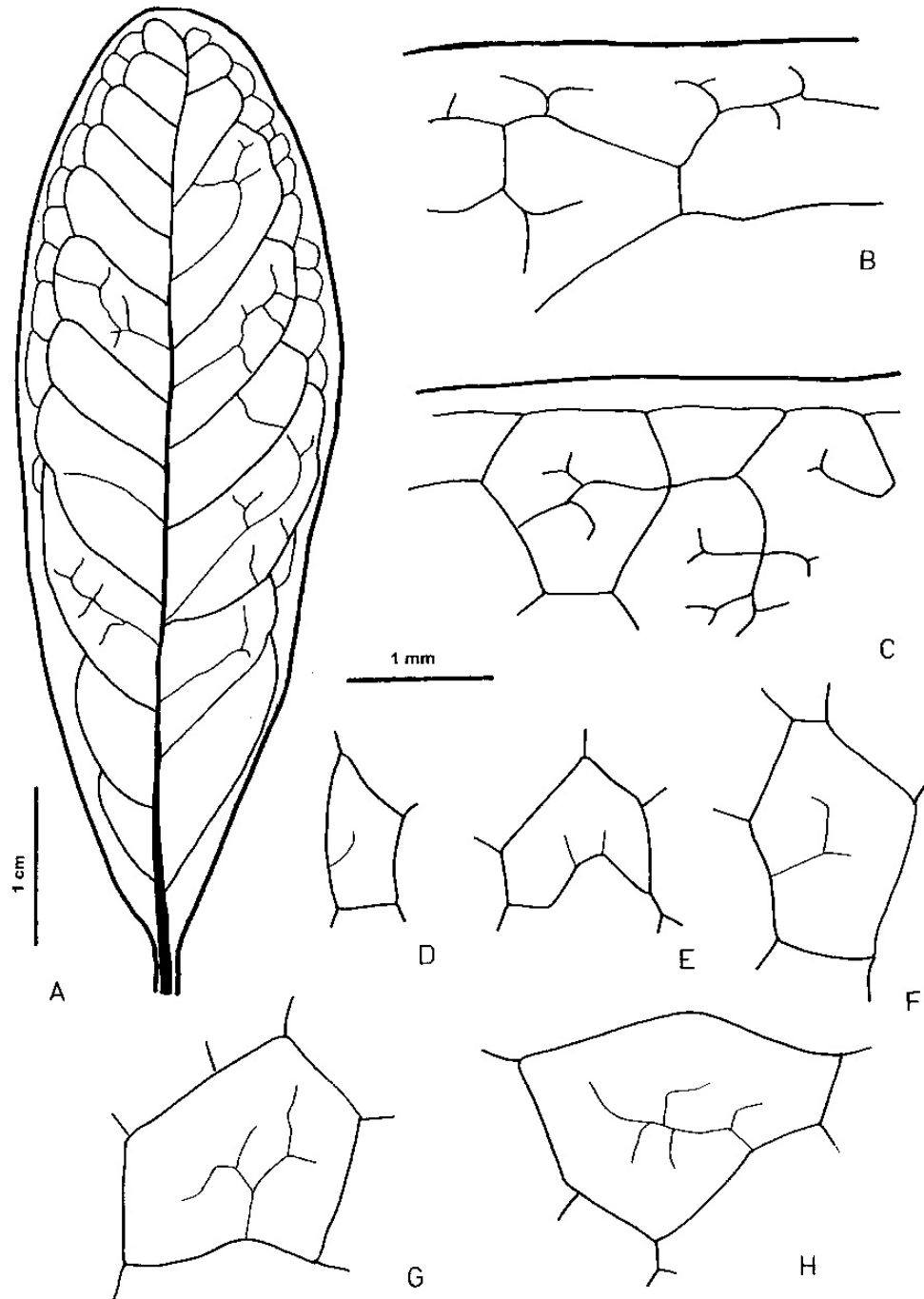


Fig. 1. Arquitectura foliar de *Drimys granadensis* var. *mexicana*: A, esquema general; B-C, última venación incompleta y formando ojales respectivamente; D-H, areolas: D, con vénula simple curvada; E, con vénula simple recta; F, con vénula ramificada una vez; G-H, con vénulas ramificadas más de una vez. (B-H en la misma escala).

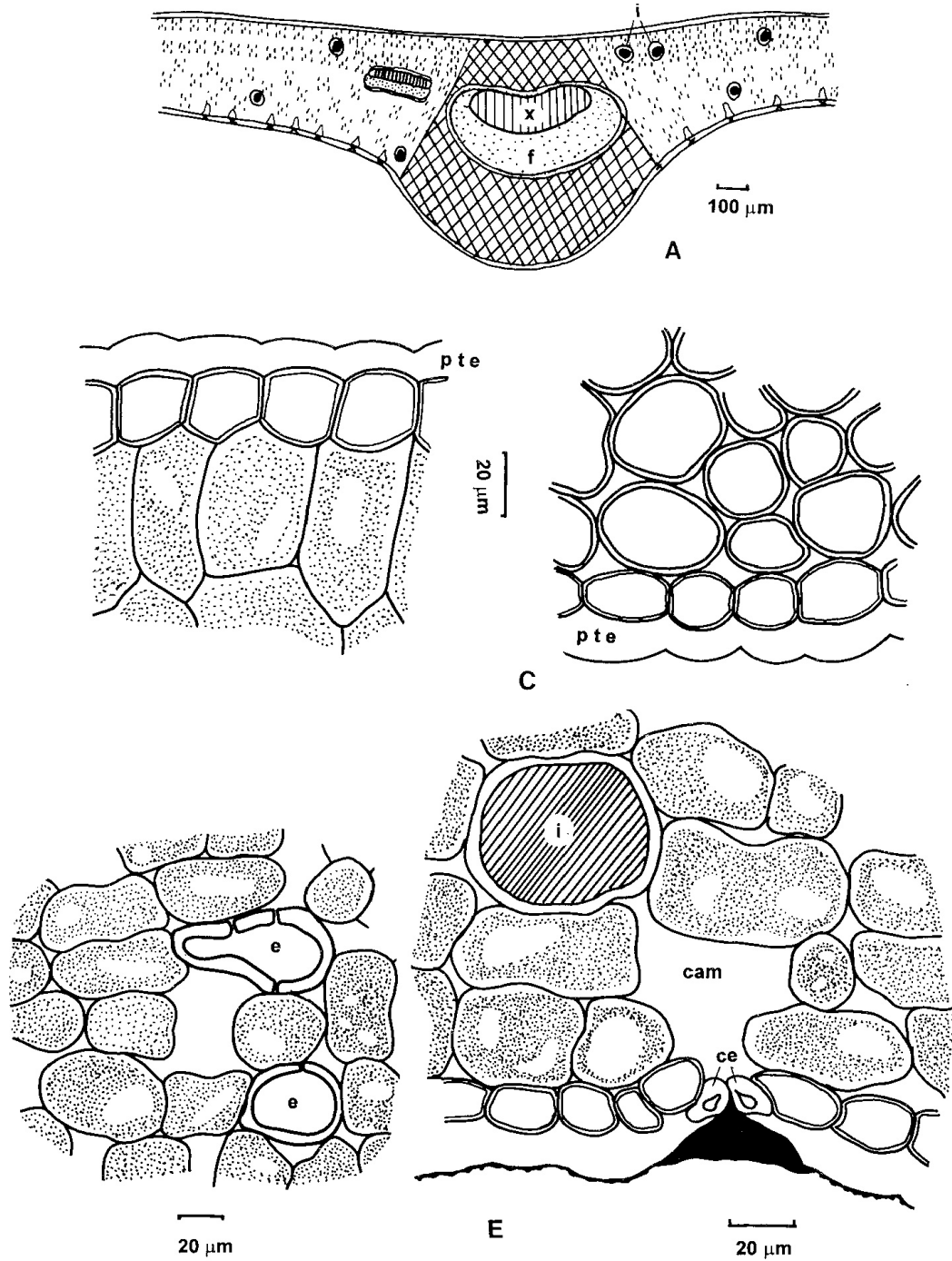


Fig. 2. Dibujos en cámara clara del corte transversal de hoja de *D. granadensis* var. *mexicana*: A, aspecto general (x- xilema, f- floema, i- idioblasto); B, epidermis adaxial (pte-pared tangencial externa); C, colénquima ; D, esclereidas (e); E, estoma ocluido en epidermis abaxial (ce-células oclusivas, cam-cámara estomática, i-idioblasto).

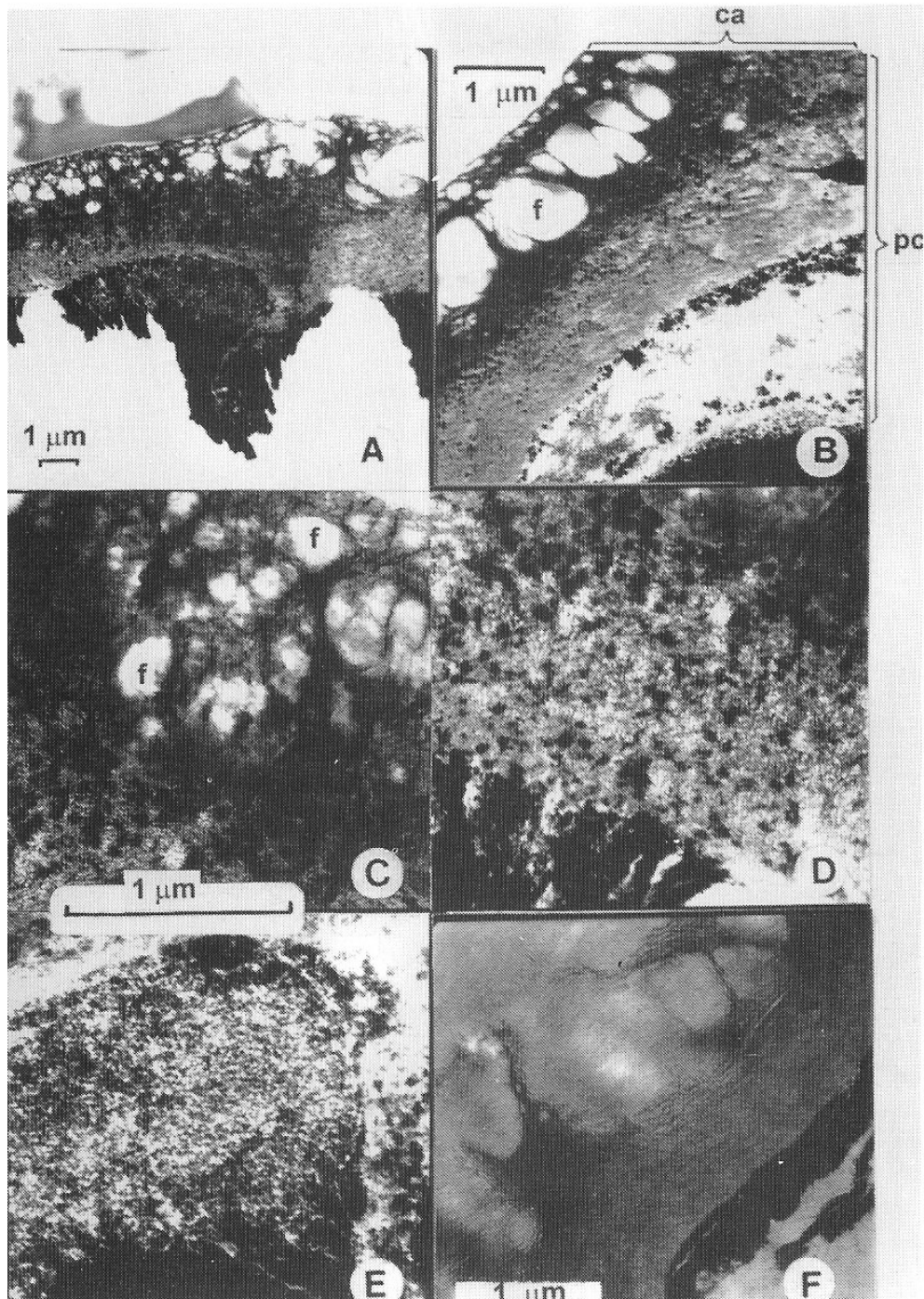


Fig. 3. Fotomicrografías al MET de la pared tangencial externa de las células epidérmicas de la hoja de *D. granadensis* var. *mexicana* en corte transversal: A-E, cara abaxial: A, aspecto general; B, capa alveolar (ca) y pared cutinizada (pc); C, detalle de foveas (f); D, detalle de pared cutinizada; E, detalle de pared no cutinizada; F, detalle de la pared de las células epidérmicas adaxiales. (C-E en la misma escala).

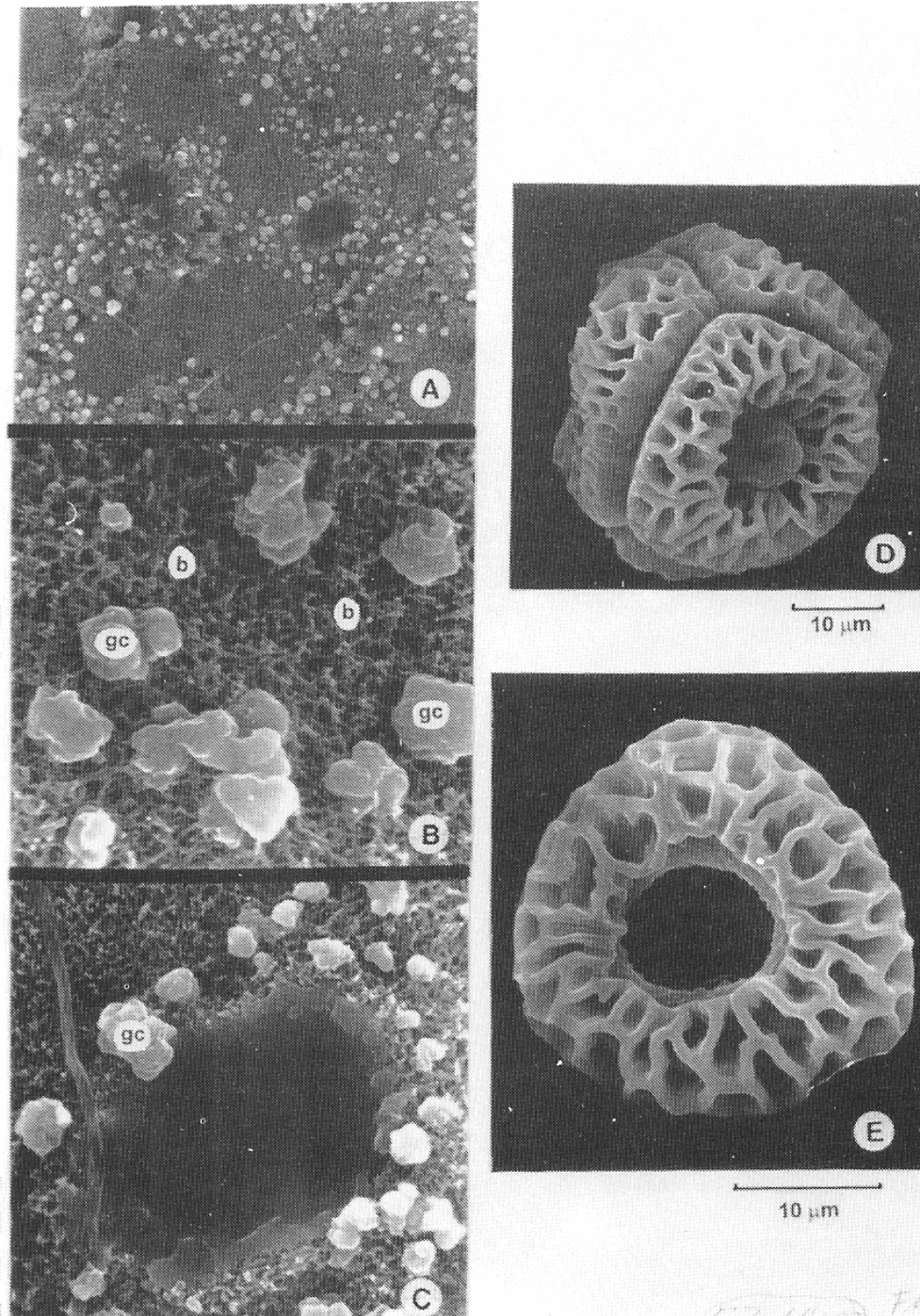


Fig. 4. Fotomicrográficas al MEB de hoja y granos de polen de *D. granadensis* var. *mexicana*: A-C, cara abaxial de la hoja en vista superficial: A, aspecto general; B, detalle de gránulos cutináceos (gc) y bastoncillos (b); C, detalle de estoma hundido y ocluido. D-E, Granos de polen: D, tétrada (se observa parte del protoplasto expulsado); E, detalle de la ornamentación y el poro (el retículo casi llega al borde de la apertura).