

Análisis preliminar de las características anatómicas foliares de *Psidium guajava* L. y *Psidium guineense* Sw.

Preliminary study of *Psidium guajava* L. and *Psidium guineense* L. foliar anatomical characteristics

G. Rivero-Maldonado¹, D. Pacheco¹, A. Sánchez¹, M. Quirós²,
E. Suárez³, J. Fuenmayor³ y G. Sthormes¹

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

²Departamento Fitosanitario, Museo de Artrópodos de LUZ.

³Ingenieros agrónomos- Facultad de Agronomía-LUZ.

Resumen

El género *Psidium* presenta una amplia distribución en la zona occidental de Venezuela; la descripción anatómica contribuye a diferenciar entre especies. Este trabajo presentó como objetivo la comparación anatómica de hojas de *P. guajava* y *P. guineense* provenientes de dos localidades del estado Mérida. Se pudo observar en *P. guineense*, un parénquima empalizada (PEM) de 2 a 3 estratos celulares y parénquima esponjoso (PES) con abundantes espacios intercelulares; mientras que en *P. guajava*, igual PEM, pero en el PES se evidenció una disposición más compacta. Ambas especies se caracterizaron por presentar hojas hipostomáticas, estomas paracíticos, epidermis uniestratificada y estrato subepidérmico adaxial, cavidades secretoras en ambas caras y tricomas unicelulares. Las características diferenciales, pueden derivarse de factores genéticos, ambientales o de su interacción.

Palabras clave: *Psidium*, anatomía, caracterización, Venezuela.

Abstract

The genus *Psidium* is widely distributed in western Venezuela; anatomical descriptions contribute to the differentiation among species. This study compared anatomically *P. guajava* and *P. guineense* leaves collected from two localities of Merida state. *Psidium guineense* showed in the palisade parenchyma (PPA) 2 or

3 cellular strata and abundant intercellular spaces in the spongy parenchyma (SPA), whereas in *P. guajava* the PPA was similar, but the SPA was more compact. Both species showed hypostomatic leaves, paracytic stomata, unistratified epidermis with adaxial subepidermic strata, with secretory cavities in both faces and unicellular trichomes. The characters that differentiate both species could be derived from genetic, environmental factors or from its interaction.

Key words: *Psidium*, anatomy, characterization, Venezuela.

Introducción

El género *Psidium* (Myrtaceae), comprende aproximadamente más de 100 especies, siendo casi todas comestibles; entre las más importantes o de mayor potencial se encuentran *P. molle* Bertol; *P. guineensis* SW.; *P. guayabita* A. Rich, *P. cattleianum* Sabine, *P. cattleianum* var. *Lucidum*, *P. friedrichsthalianum* (Berg.) Niedz. y *Psidium guajava* L. En Venezuela se reportan 13 especies distribuidas en 19 estados de los 23 que conforman al país, siendo la zona occidental una de las regiones con más alta representatividad (Hokche *et al.*, 2008).. Las grandes variaciones en el estimado del número de especies, son producto de la existencia de complejos de entidades que pueden por sí mismas ser consideradas especies sencillas o grupos de especies, algunas de ellas han sido ampliamente dispersadas a través de su cultivo, tal como *P. guajava*, que es una de las plantas cultivadas más conocidas en todas las regiones secas y ha sido naturalizada mucho más allá de su distribución original, la cual fue presumiblemente América Tropical. Un grupo muy dispersado y taxonómicamente más complejo del género es *P. guineense*, cuyas plantas producen un fruto que es

Introduction

Psidium (Myrtaceae) genus approximately have more than 100 species, being all edibles; between the more important or higher potential there are *P. molle* Bertol; *P. guineensis* SW.; *P. guayabita* A. Rich, *P. cattleianum* Sabine, *P. cattleianum* var. *Lucidum*, *P. friedrichsthalianum* (Berg.) Niedz. and *Psidium guajava* L. In Venezuela, there are already 12 species between those wild and cultivated distributed in 19 states from those 23 forming country, being the western zone one of regions more representative. The higher changes in estimation of number of species, are product of the existence of entities complexes by itself considered simple species or groups of species, some of them have been widely dispersed through its cultivation, such as *P. guajava*, that is one of plants cultivated more known in all the dry regions and have been naturalized further than its original distribution which presumably was Tropical America. A very dispersed and taxonomically more complex group of *P. guineense*, how many plants sometimes produces a good quality fruit, but more little and less appetizing than *P. guajava* (Mc Vaugh, 1968).

algunas veces de buena calidad, pero más pequeño y menos apetecible que el de *P. guajava* (Mc Vaugh, 1968).

Debido a la importancia actual y potencial que representa, por su productividad, adaptabilidad a condiciones tropicales, alto contenido de vitamina C, pectinas y otros componentes minerales, *Psidium guajava* es la especie que ha recibido mayor atención a nivel mundial. No obstante factores tales como enfermedades, plagas o estrés abiótico han frenado su expansión; en este sentido, los programas de mejoramiento genético deben orientarse a superar dichos problemas y a la obtención de variedades que cubran las preferencias del consumidor; para ello es esencial disponer de una amplia gama de genes, a través de un minucioso conocimiento de la diversidad genética disponible (Prakash *et al.*, 2002).

Desde hace años se ha sugerido que otras herramientas botánicas diferentes al examen floral, como el análisis de las características anatómicas, pueden ayudar a la identificación de especies (Barroso *et al.*, 1984). En este sentido, Khatijah *et al.*, (1992), analizaron la anatomía de la hoja y el pecíolo en 25 especies de *Eugenia*, un género importante dentro de las Mirtáceas, con la finalidad de determinar el potencial de la anatomía vegetativa en la identificación de material sin flores.

Gomes *et al.*, (2009), en especies de Mirtáceas resaltaron la importancia de las caracterizaciones anatómicas foliares, como valiosos aportes para análisis comparativos más amplios entre taxones. Los caracteres anatómicos han sido utilizados en

Because the actual importance and potential that represent by its productivity, adaptability to tropical conditions, high content of vitamin C, pectins and other mineral component, *Psidium guajava* is the specie with higher attention at world level. Nevertheless, factors such as diseases, pests or abiotic stress have restrain its expansion; the genetic improvement programs have to be guided to solve these problems and to the obtaining of varieties covering consumer preferences; for that is essential to prepare a wide range of genera, through a detailed knowledge of the available genetic diversity (Prakash *et al.*, 2002).

It has been suggested that other botanical tool contrary to the floral exam, like the analysis of anatomic characteristics, can help to the species identification (Barroso *et al.*, 1984). Khatijah *et al.*, (1992) analyzed the leaf and petiole anatomy in 25 species of *Eugenia*, an important genus of Mirtaceas, with the purpose of determining potential of vegetative anatomy in identification of no flowers material.

Gomes *et al.*, (2009), detached the importance of foliar anatomic characterizations in Mirtaceae species, and valuable contributions to the wider comparative analysis between taxa. The anatomic characteristics have been used in taxonomic and evolutionary analysis used in Myrtaceae and Myrtales, however, few representative of Neotropical flora have been included, offering important data for phylogenies construction.

Because the wide distribution and presence at national level of 50%

análisis taxonómicos y evolutivos de Myrtaceae y Myrtales, sin embargo, se han incluido pocos representantes de la flora neotropical, pudiendo aportar importantes datos para la construcción de filogenias.

Dada la amplia distribución y a la presencia a nivel nacional de un 50% de los taxa de *Psidium* reportados, se seleccionó la región occidental de Venezuela conformada por los estados Táchira, Trujillo, Mérida y Zulia, para llevar a cabo una investigación que tiene como objetivo principal realizar un tratamiento taxonómico del género en estas entidades, combinando diversas fuentes de información, con lo cual se contribuirá a entender las relaciones filogenéticas entre los taxa de este género y al conocimiento del recurso florístico del país. En este trabajo, como una entrega preliminar, se describe la anatomía foliar de las especies *P. guajava* y *P. guineense* provenientes del estado Mérida.

Materiales y métodos

Aspectos generales

Las plantas de *P. guajava* y *P. guineense* se recolectaron en el estado Mérida, específicamente en las localidades Chorros de Milla (1600 m, 08°37'10" N; 71°08'21" O) y Carretera Los Aleros-San Rafael de Tabay (1750 m, 08°38'34" N, 71°02'33" O), debido a que presentaron alta predominancia de las mismas. Las salidas de campo se planificaron a partir de registros de herbarios y de información bibliográfica consultada.

Recolección y procesamien-

to de *Psidium* taxa reported, the western region of Venezuela formed by Tachira, Trujillo, Mérida and Zulia states, to carrying out a research whose main purpose to do a taxonomic treatment of genus in these entities, combining different information sources, helping to contribute with the comprehension of phylogenetic relations between taxa of this genus and to the knowledge of floristic resource of country. As a preliminary presentation, this essay describes foliar anatomy of *P. guajava* and *P. guineense* species coming from Mérida state.

Materials and methods

General aspects

Plants of *P. guajava* and *P. guineense* were collected in Mérida state, Chorros de Milla locality (1600 m, 08°37'10" N; 71°08'21" W) specifically and at the Carretera Los Aleros-San Rafael de Tabay (1750 m, 08°38'34" N, 71°02'33" W). The outing to the country was planned from herbaria registrations and bibliographic information.

Recolection and processing of material

Five mature leaves were taken from medium third of canopy coming from one or four plants of species studied, depending on availability in field. It was assured that plants showed good healthy conditions; after that, leaves were fixed in a formaldehyde solution, glacial acetic acid and ethanol (FAA) (90:5:5). Samples were processed in Morphological and Systematic Botany

to del material

Se tomaron del tercio medio de la copa, cinco hojas maduras provenientes de una o de cuatro plantas de las especies estudiadas, dependiendo de la disponibilidad en el campo. Se previó que las plantas presentarán buenas condiciones fitosanitarias; seguidamente se fijaron en una solución de formaldehído, ácido acético glacial y etanol (FAA) (90:5:5). Las muestras se procesaron en los laboratorios de Botánica Morfológica y Sistemática de la Facultad de Agronomía de la Universidad del Zulia, aplicando la metodología para la obtención de láminas semi-permanentes: 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 μm practicados en la parte central de la lámina con un micrótopo de rotación y 4. Coloración, la cual se llevó a cabo con azul de toluidina al 0,5% en solución alcohólica al 96%. Finalmente, se tomaron microfotografías digitalizando las imágenes con el software Image-Pro Plus®.

Resultados y discusión

En sección transversal se observó en *Psidium guineense* cutícula de apreciable grosor e inmediatamente debajo de la epidermis la presencia de dos estratos subepidérmicos en posición adaxial. En el mesófilo se evidenció parénquima empalizada conformado por dos a tres estratos celulares y una amplia sección de parénquima esponjoso comprendiendo 4 a 5 filas

of the Agronomy Faculty, Universidad del Zulia, by applying the methodology to obtain semi-permanent sheets: 1. Dehydration on tertiary butyric alcohol (TBA) in ascendant concentrations, from 70% to 100%, with changes at intervals of one hour. 2. Inclusion on paraffin. 3. Obtaining of transversal cuts of 12 μm at central part of sheet with a rotation microtome. 4. Coloring, that was done with toluidine blue to 0.5% in alcohol solution at 96%. Finally, micro photography was taken to digitalize the images with software Image-Pro Plus®.

Results and discussion

Psidium guineense was observed in transversal section of thickness cuticle and immediately under epidermis the presence of two sub epidermal in adaxial position. The palisade parenchyma was observed in mesophilous formed by two or three cellular stratum and a wide spongy parenchyma section comprising 4-5 enlarged cells lines, with irregular disposition and intercellular spaces reduced (figures 1A and 1B).

In *P. guajava*, a cuticle thickness considerable cuticle and a sub-epidermal level or in adaxial position from three to four cells was also evident; palisade parenchyma with two or three cellular stratum and wide spongy parenchyma, the last one, in comparison to *P. guineense* of cells with less spaces among them (figures 2A and 2B).

The two species were characterized by showing unistratified epidermal with oval to

de células de forma alargada, con disposición irregular y reducidos espacios intercelulares (figura 1A y 1B).

En *P. guajava*, también fue evidente una cutícula de considerable grosor y a nivel subepidérmico en posición adaxial de tres a cuatro capas de células; parénquima en empalizada igualmente con dos a tres estratos celulares y amplio parénquima esponjoso, éste último, en comparación con *P. guineense* de células con menos espacios entre sí (figura 2A y 2B).

Las dos especies se caracterizaron por presentar epidermis uniestratificada con células de contornos ovalados a rectangulares en ambas superficies y estrato subepidérmico adaxial, estomas paracíticos ubicados al mismo nivel de las células epidérmicas en posición abaxial determinando hojas hipoestomáticas, cavidades secretoras

rectangular environment cells in both surfaces and adaxial sub-epidermal stratum, paracytic stomas placed at the same level of epidermal cells in abaxial position by determining hypo stomata leaves, secretory cavities both in adaxial surface and unicellular trichomes; dorsiventral mesophilous with column palisade parenchyma cells, with abundant chloroplasts quantity and those of spongy parenchyma shorter, but also enlarged, with medium chloroplasts content; idioblasts with druses and hexagonal and prismatic crystals were observed.

These characteristics are similar to those observed by Guantay, (2008) in *Amomyrtella güili* and by Gomes (2009) in *Campomanesia adamantium* (Camb.), *Myrcia cordiifolia* DC and *M. decrescens* O. Berg., Mirtáceas species which

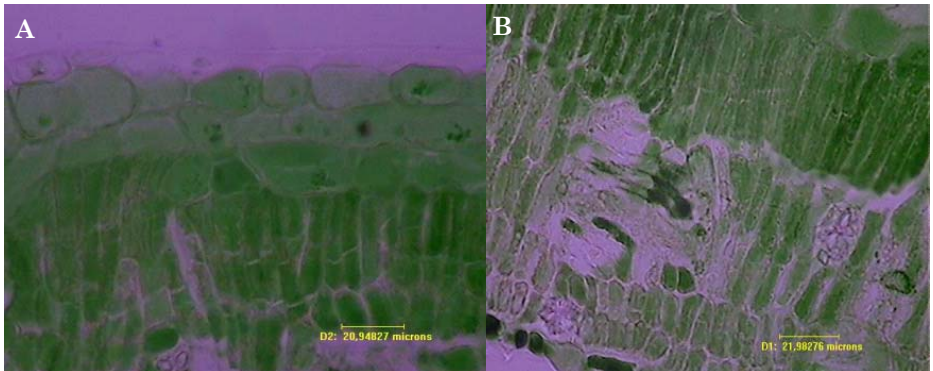


Figura 1. Secciones transversales de hojas de *Psidium guineense* Sw. A. Detalles de la epidermis y estratos sub-epidérmicos. B. Detalle del mesófilo. 400X.

Figure 1. Transversal sectoins of *Psidium guineense* Sw leaves. A. Details of epidermal and sub-epidermal stratum. B. Detail of mesophyle. 400X.

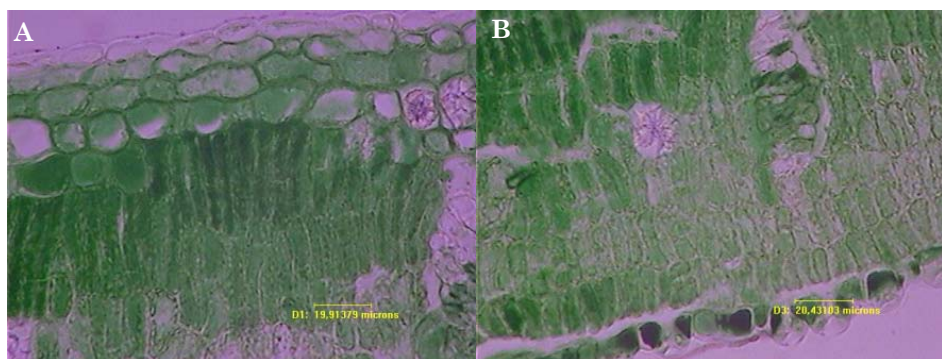


Figura 2. Secciones transversales de hojas de *Psidium guajava* L. A. Detalles de la epidermis y estratos sub-epidérmicos. B. Detalle del mesófilo. 400X.

Figure 2. Transversal sections of *Psidium guajava* L. A leaves. Details of epidermal and sub-epidermal stratum. B. Detail of mesophyll. 400X.

tanto en la superficie adaxial como abaxial y tricomas unicelulares; mesófilo dorsiventral con células de parénquima en empalizada columnares, con abundante cantidad de cloroplastos y las del parénquima esponjoso más cortas, pero también alargadas, con mediano contenido de cloroplastos; se observaron idioblastos con drusas y con cristales hexagonales y prismáticos (figura 3A y 3B).

Estas características son semejantes a las observadas por Guantay, (2008) en *Amomyrtella güilli* y por Gomes (2009) en *Campomanesia adamantium* (Camb.), *Myrcia cordiifolia* DC y *M. decrescens* O. Berg., especies de Mirtáceas las cuales presentaron hojas bifaciales, tejido parenquimático con presencia de idioblastos conteniendo drusas, parénquima en empalizada organizado en 2-3 estratos de células, ocupando desde 1/2 a 1/3 del espesor de la lá-

showed bifacial leaves, parenchymatic tissue with idioblast presence and druses, palisade parenchyma organized in 2-3 cells stratum, occupying from 1/2 to 1/3 of sheet thickness; however, they were differenced of *P. guajava* and *P. guineense* in the spongy parenchyma, because in that cases the lagunoso tissue more or less lax was evident, formed by lobulate and isodiametric cells disposed in 6-7 cellular strata; while in *Psidium* spaces was similar to a palisade parenchyma by the enlarged shape of its cells, could be confused with an isolateral or equifacial mesophilous; nevertheless, this type of mesophilous have been reported for Mirtaceas species more basal in phylogenetic terms, such as *Eucalyptus*, *Callistemon* and *Leptospermum* (figures 3A and 3B)

According to Gomes (2009), like useful characters for family taxonomy

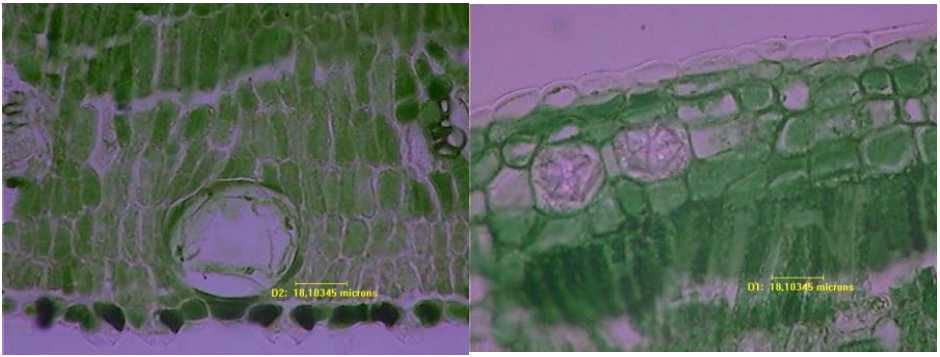


Figura 3. A. Cavidades secretoras y estomas en *P. guineense* Sw. B. Idioblastos con drusas en *P. guajava* L. 400X.

Figure 3. A. Secretor and stomas cavities in *P. guineense* Sw. B. Idioblastos with druses in *P. guajava* L. 400X.

mina; sin embargo, se diferenciaron de *P. guajava* y *P. guineense* en el parénquima esponjoso, ya que en esos casos se evidenció el tejido lagunoso más o menos laxo, conformado por células lobuladas e isodiamétricas dispuesto en 6-7 estratos celulares; mientras que en las especies de *Psidium* se asemejó a un parénquima en empalizada por la forma alargada de sus células, pudiéndose confundir con un mesófilo isolateral o equifacial; sin embargo, éste tipo de mesófilo se ha reportado para especies de Mirtáceas más basales en términos filogenéticos, tales como *Eucalyptus*, *Callistemon* y *Leptospermum*.

Según Gomes (2009), como caracteres útiles para la taxonomía de la familia propone: la forma de las células de la epidermis, tricomas dibraquiados o no, la forma de la nervadura media, forma y número de células de las glándulas foliares y número de estratos celulares subepidérmicos.

propose: Shape of epidermal cells, dibranchiate trichomes or not, medium vein shape, shape and number of foliar gland cells and number of sub epidermal cellular strata.

It has been determined that presence of adaxial sub-epidermal stratum, probably corresponding to a hypodermal, is a predominant characteristic in genera and species of Myrtaceae family (Metcalf and Chalk, 1983). Torres *et al.* (2004) aggregates that this characteristic, like scleroid presence, wide vascular sheaves and a spongy parenchyma of 2-3 cellular strata correspond to plants with xeromorphic characteristics, determining leaves of coriácea consistence, that represent one adaptability strategy to adverse environmental conditions. It is convenient to detach that plants collected were growing in semi-arid conditions.

Se ha determinado que la presencia de un estrato subepidérmico adaxial, que podría corresponder a una hipodermis, es una característica predominante en géneros y especies de la familia Myrtaceae (Metcalfe y Chalk, 1983). Mientras que Torres *et al.* (2004) agregan que este rasgo, así como la presencia de esclereidas, amplios haces vasculares y un parénquima esponjoso de 2 a 3 estratos celulares corresponde a plantas con características xeromórficas, determinando hojas de consistencia coriácea, lo cual representa una estrategia de adaptación a condiciones ambientales adversas. Al respecto, es conveniente acotar que las plantas recolectadas estaban creciendo en condiciones semi-áridas.

Conclusión

De éstos resultados preliminares se pudo constatar que *Psidium guajava* y *P. guineense* presentaron diversas características anatómicas en común, así como, ciertos rasgos diferenciales que podrían deberse a factores genéticos, ambientales o de su interacción; tales caracteres, una vez determinados fehacientemente, constituirán herramientas útiles para la identificación de estos taxa. Adicionalmente, las similitudes permiten inferir parcialmente la cercanía entre éstas especies, lo cual se dilucidaría completamente con la integración de otras fuentes de información; las afinidades pueden representar un aspecto importante a considerar en programas de mejoramiento genético.

Conclusion

From these results, *Psidium guajava* and *P. guineense* showed different common anatomic characteristics, likewise, several differential ranges probably due to genetic environmental factors, or its interaction; these characters, once determined constituting useful tools for the identification of these taxa. Additionally, similarities permit partially deduce the proximity between these species, which totally would clear up the integration of other information sources; the affinities can represent an important aspect to be considered on genetic improvement programs.

End of english version

Literatura citada

- Barroso, G.M., A. Peixoto, C. Ichaso, C. Costa, D. Guimarães y H. Lima. 1984. Myrtales. In: Sistemática de Angiospermas do Brasil. Vol. II. Viçosa, Minas Gerais: Imprensa Universitária da Universidade Federal de Viçosa, Brasil, 107-167.
- Gomes S., N. Somavilla, K. Gomes-Bezerra, S. de Miranda, P.S. De-Carvalho y D. Graciano-Ribeiro. 2009. Anatomia foliar de espécies de Myrtaceae: contribuições à taxonomia e filogenia. Acta Bot. Bras. 23(1):223-238.
- Guantay, M.E. 2008. Anatomía y arquitectura foliar de *Amomyrtella güili* (Speg.) Kausel (Myrtaceae). Lilloa 45(1-2):66-72.
- 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.

- Khatijah H., D. Cutler y D. Moore. 1992. Leaf anatomical studies of *Eugenia* L. (Myrtaceae) species from the Malay Peninsula. *Botanical Journal of the Linnean Society* 110:137-156.
- Mc Vaugh, R. 1968. The genera of American Myrtaceae, an interim report. *Taxon, Journal of the Internacional Association for Plant Taxonomy* 17:1.
- Metcalf, C. y L. Chalk. 1983. *Anatomy of the dicotyledons*, Vol. I. 2nd Ed. Clarendon Press, Oxford. 297 p.
- Prakash, D., P. Narayanaswamy y S. Sondur. 2002. Analysis of molecular diversity in guava using RAPD markers. *Journal of Horticultural Science & Biotechnology* 77(3):287-293.
- Torres, M. R. Alves y R. Bonatto. 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.