

PARÁMETROS CUANTITATIVOS EN EL ESTUDIO DE CUATRO FENOTIPOS DE *Psidium guajava* L. (MYRTACEAE), “GUAYABA”
 [Quantitative parameters in the study of four phenotypes of *Psidium guajava* L. (Myrtaceae), "guava"]

MARTA CRISTINA VÁZQUEZ¹ & ALICIA INÉS CALABRONI²

¹ Becaria del CIN, ² Directora de beca, Titular de Morfología Vegetal FRN y FH Fac.de Recursos Naturales y Fac.de Humanidades UNaF, Avda. Gutnisky 3200, C.P. 3600 Formosa. - E-mail: aliciainescalabroni@gmail.com

RESUMEN: *Psidium guajava* L. (Myrtaceae) es una especie nativa que habita áreas urbanas y rurales del Departamento Formosa, Formosa, Argentina, que presenta variabilidad en los frutos y en la morfo-anatomía foliar, lo que permite establecer cuatro fenotipos. El objetivo de este trabajo fue estimar el índice de empalizada, de islote venoso y de estomas como un parámetro cuantitativo más para diferenciarlos en estado vegetativo. El método empleado consistió en clarificación de los transcortes de hojas y epidermis con hipoclorito de sodio y posterior tinción con safranina. Los resultados obtenidos fueron: Índice de empalizada: para GRr 10,25-23,75; para GRI 4,50-23,25; para GB 9,75-23,25 y para GM 8,75-20,50 células del parénquima en empalizada por célula epidérmica. Índice de islote venoso: para GRr 3-12; para GRI 2-7; para GB 3-10 y para GM 2-13 islotes por mm². Índice de estomas: para GRr 16-27%; para GRI 16-31%; para GB 10-23% y para GM 9-25 %. Estas magnitudes constituyen una herramienta complementaria al estudio de la variabilidad morfo-anatómica foliar y de los frutos presentes en esta especie.

Palabras clave: *Psidium guajava*, fenotipos, parámetros cuantitativos

ABSTRACT: *Psidium guajava* L. (Myrtaceae) is a native species inhabiting urban and rural areas of the Department Formosa, Formosa, Argentina, presenting variability in fruit and leaf morfo-anatomy, which allows four phenotypes. The objective of this work was to consider the palisade ratio, vein islet index and stomatal index to be used as quantitative parameter to distinguish more in a vegetative state. The method used consisted of clarification of cross-section sheets and epidermis with sodium hypochlorite and later stain with safranin. The obtained results were: palisade ratio: for GRr 10.25 - 23.75; for GRI 4.50 - 23.25; for GB 9.75 - 23.25 and 8.75 - 20.50 for GM, cells of palisade parenchyma by epidermal cell. Vein islet index: for GRr 3-12; for GRI 2-7, for GB 3-10 and 2-13 for GM islet by mm². Stomatal index: for GRr 16-27%; for GRI 16-31%; for GB 10-23% and 9-25% for GM. These magnitudes constitute a complementary tool to the study of morfo-anatomical variability foliar and fruit in this species.

keywords: *Psidium guajava*, phenotypes, quantitative parameters

Manuscrito recibido: 13 de marzo de 2013

Manuscrito aceptado: 5 de noviembre de 2013

INTRODUCCIÓN

La familia Myrtaceae comprende árboles, arbustos y subarbustos con glándulas subepidérmicas en sus órganos (Landrum, 1988, Judd, *et al.*, 2007). También se caracterizan por tener, flores generalmente blancas, numerosos estambres y ovario ínfero; las hojas simples, de margen entero, opuestas o raramente alternas. Según Pole, (1993); Soares-Silva, (2000) y González, (2011), los caracteres considerados sinapomorfias para esta familia son: presencia de una vena paramarginal prominente, vena intramarginal, venas de segunda categoría paralelas entre sí, venas de tercera categoría casi paralelas a la vena media, base foliar decurrente y pecíolo prominente. Las diferencias fueron significativas ($p < 0,005$) para: espesor de epidermis adaxial, perímetro de cavidades lisígenas, espesor del mesófilo y longitud de pelos de la epidermis abaxial y no significativas para espesor de epidermis abaxial y tamaño de las drusas. Albrecht, *et al.*, (2005) estimaron el *índice de islote venoso*, el *índice de empalizada* y el *índice de estomas* como parámetros cuantitativos para establecer diferencias entre especies. Estos autores definen al *islote venoso* como: “el área de tejido fotosintetizante rodeado por las últimas ramificaciones de las nervaduras de la hoja” y el *índice de islote venoso* como: “el número promedio de islotes venosos por milímetro cuadrado de superficie”. Afirman que el *índice de empalizada* “determina la cantidad de células del parénquima en empalizada subyacentes a cuatro células epidérmicas. Se expresa en número de células del parénquima por célula epidérmica”. El *índice de estomas* es: “el porcentaje del número de estomas respecto del número total de células epidérmicas, incluyendo al estoma y considerándolo como una sola célula”. El objetivo de esta investigación es la estimación de estos tres índices para utilizarlos como un parámetro cuantitativo más, que permita diferenciar, en estado vegetativo, fenotipos de *P. guajava*, especie nativa que habita áreas urbanas y rurales del Departamento Formosa (Formosa), 26°11'06"S y 58°10'31"W.

MATERIALES Y MÉTODOS

Materiales

Se utilizaron hojas de *P. guajava* frescas, adultas, bien expandidas, enteras y sanas, obtenidas de plantas adultas provenientes de semillas, con más de 10 años de edad. Los fenotipos estudiados están identificados como: **a)** guayaba con frutos amarillos de epicarpio rugoso y pulpa roja (GRr); **b)** con frutos amarillos de epicarpio liso y pulpa roja (GRI); **c)** con frutos amarillos de pulpa blanca (GB) y **d)** con frutos amarillos de pulpa amarilla pálida (GM). Se utilizó una lupa binocular y un microscopio trinocular línea XSZ 100BNT con cámara fotográfica de 1.3 Mega Cmos. Software TSVIEW versión 6.2.4.5. Se tomaron fotografías y contaron las diferentes estructuras observadas, en superficies determinadas para cada caso. Se utilizaron 5 hojas para cada fenotipo y se realizaron 10 determinaciones en cada hoja.

Métodos

Para la preparación del material de hoja fresca se procedió siguiendo la técnica de

D’Ambrogio (1986) de acuerdo a la siguiente secuencia: (1) lavado abundante con agua de canilla; (2) se realizaron transcortes de la lámina cercanos a la vena media, (3) los cortes fueron sumergidos en una solución de hipoclorito de sodio al 50% durante 15 minutos; (4) se realizaron 3 lavados de 3 minutos cada uno con agua destilada para eliminar el remanente de hipoclorito de sodio; (5) se realizó la coloración con safranina en alcohol 80° y se montó con Bálsamo de Canadá. A partir de los preparados clarificados se procedió a medir cada índice de acuerdo con la metodología utilizada por Albrecht *et al.*, (2005) y descripta a continuación.

Índice de Islote Venoso

Para la determinación del índice de islote venoso, el preparado se observó con microscopio binocular empleando un ocular de 5x y un objetivo de 10x. Se contaron los islotes venosos comprendidos en una superficie de 4mm². Para cada hoja se realizaron 10 determinaciones y se calculó el número promedio de islotes venosos por mm² (Fig. 1).



Fig. 1. Sector de lámina foliar de *P. guajava* (GR1) empleado para determinar el índice de islote venoso, 200x

Índice de Empalizada

Para la determinación del índice de empalizada, el transcorte de la lámina se observó con un microscopio trinocular con cámara fotográfica, empleando un ocular de 10x y un objetivo de 100x. Se enfocó un sector del corte con 4 células epidérmicas adyacentes y células del parénquima en empalizada subyacente, que coincidían con las epidérmicas seleccionadas. Luego se contaron las células en empalizada que se encontraban en el área delimitada por las epidérmicas. Cuando una célula quedaba interceptada por el límite externo del área considerada, se la incluyó sólo si más de la mitad se hallaba dentro del área. Se calculó el número promedio de células en empalizada ubicadas debajo de una célula epidérmica, dividiendo la sumatoria de las células en empalizada por cuatro, constituyendo este valor, el índice de empalizada. Para cada hoja se realizaron 10 determinaciones y se calculó el índice promedio. (Fig. 2).

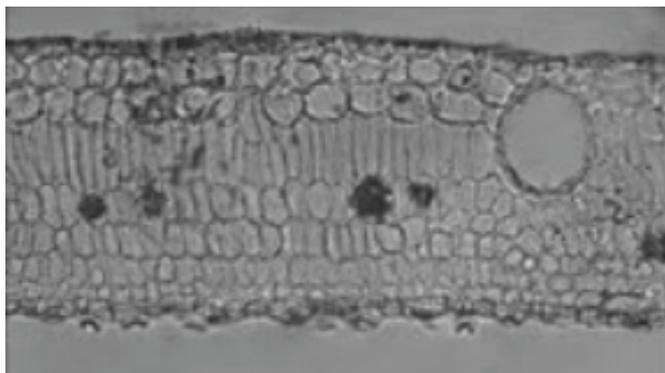


Fig. 2. Transcorte de hoja de *P. guajava* (GB) empleado para determinar el índice de empalizada. 400X. Escala = 30.28 μm

Índice de Estomas

Para la determinación del índice de estomas se utilizó un microscopio trinocular con cámara fotográfica. Se empleó un ocular de 10x y un objetivo de 100x. Se enfocó la epidermis abaxial y empleando números de diferentes colores se marcaron los estomas y las células epidérmicas. El índice de estomas se calculó a partir de la siguiente fórmula:

$$\text{Índice de estomas} = S \times 100 \div (E + S)$$

Donde S es el número de estomas en el área considerada y E es el número de células epidérmicas (incluyendo tricomas) del área considerada. Para cada muestra de hoja se realizaron 5 determinaciones y se calculó el índice promedio. **(Fig. 3).**

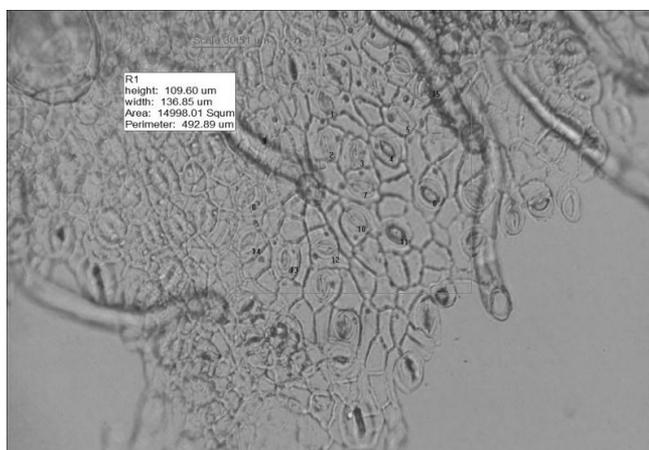


Fig. 3. Sector de epidermis abaxial de *P. guajava* (GB) empleado para determinar el índice de estomas. 400X. Escala = 30.51 μm

RESULTADOS

Los valores obtenidos para las determinaciones de índice de empalizada, índice de islote venoso e índice de estomas de los cuatro fenotipos de *P. guajava*: con frutos amarillos de epicarpio rugoso y pulpa roja (GRr); con frutos amarillos de epicarpio liso y pulpa roja (GRl); con frutos amarillos de pulpa blanca; (GB) y con frutos amarillos de pulpa amarilla pálida (GM), se muestran en las **Tablas 1, 2 y 3**.

Tabla 1. Valores de índice de empalizada de cuatro fenotipos de *Psidium guajava* L.

Fenotipos	Valor promedio Índice de empalizada	Rango
GRr	16,65	10,25-23,75
GRl	15,82	4,50-23,25
GB	16,02	9,75-23,25
GM	13,51	8,75-20,50

Tabla 2. Valores de índice de islote venoso de cuatro fenotipos de *Psidium guajava* L.

Fenotipos	Valor promedio Índice de islote venoso	Rango
GRr	6	3-12
GRl	4,16	2-7
GB	5,52	3-10
GM	7,96	2-13

Tabla 3. Valores de índice de estomas de cuatro fenotipos de *Psidium guajava* L.

Fenotipos	Valor promedio Índice de estomas	Rango
GRr	28,52	16-27
GRl	34,01	16-31
GB	21,59	10-23
GM	24,18	9-25

CONCLUSIÓN

Los resultados obtenidos para índice de empalizada, índice de islote venoso e índice de estomas de hojas de cuatro fenotipos de *P. guajava* L. son valores que representan herramientas complementarias al estudio de variables cualitativas y cuantitativas, entre las que se incluyen la forma y tamaño de los pelos epidérmicos, de los cristales, de

las cavidades lisígenas; de los caracteres considerados sinapomorfias para la familia Myrtaceae que según González (2011) son: presencia de una vena paramarginal prominente, vena intramarginal, venas de segunda categoría paralelas entre sí, venas de tercera categoría casi paralelas a la vena media, base foliar decurrente y pecíolo prominente. Como afirma Albrecht, *et al.* (2005), las características incluidas en este trabajo representan un parámetro cuantitativo más, de valor taxonómico, que para el caso de *P. guajava* permitirá diferenciar fenotipos en estado vegetativo.

BIBLIOGRAFÍA

- Albrecht, R. A.; Bassols, G. B. y Gurni, A. A. 2005. Aplicación de Parámetros Cuantitativos en el Estudio de *Aloysia citrodora* Palau (Verbenaceae). *Acta Farm. Bonaerense* 24 (2): 239-41.
- D'Ambrogio, A. 1986. "Manual de técnicas en histología vegetal". Ed. Hemisferio Sur, Buenos Aires, pág. 52.
- González, C. C. 2011. Arquitectura foliar de las especies de Myrtaceae nativas de la Argentina I: grupos "Myrcia", "Myrceugenia" y "Plinia". *Bol. Soc. Argent. Bot.* 46: 41-63.
- Judd, W.S., Campbell, C. S., Kellogg, E. A., Stevens, P. F. & M. J. Donoghue. 2007. *Plant Systematics: a Phylogenetic Approach*, 3ra. ed. Sinauer Associates, USA.
- Landrum, L. 1988. The myrtle family (Myrtaceae) in Chile. *Proc. Cal. Acad. Sci.* 45:289-291.
- Pole, M. 1993. Early Miocene flora of the Manuherikia Group, *New Zealand J. Roy. New Zealand* 23: 345-392.
- Soares-Silva, 2000. A familia Myrtaceae-subtribos: Myrciinae E. Eugeniinaenabaciahidrográfica do rio Tibagi, Estado do Paraná, Brasil. Tese de Doutor, Universidade Estadual de Campinas. 462 pp.